

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

TESE

IDENTIFICAÇÃO E PERFIL DE RESISTÊNCIA DE BACTERIAS DO GÊNERO
***Staphylococcus* ISOLADAS DE CÃES ATÓPICOS APRESENTANDO QUADRO DE**
PIODERMITE SECUNDÁRIA: UM RISCO PARA SAÚDE HUMANA

Rafaella Tortoriello Barbosa



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Rafaella Tortoriello Barbosa

Sob orientação do professor

Julio Israel Fernandes

Tese submetida como requisito
parcial para obtenção do grau de
Doutor em Ciências, no Curso de
Pós-Graduação em Medicina
Veterinária, Área de Ciências
Veterinárias.

Seropédica, RJ

Setembro de 2025

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S192i SAMPAIO, Rafaella Tortoriello Barbosa, 1983-
IDENTIFICAÇÃO E PERFIL DE RESISTÊNCIA DE BACTERIAS
DO GÊNERO Staphylococcus ISOLADAS DE CÃES ATÓPICOS
APRESENTANDO QUADRO DE Piodermite secundária: UM
RISCO PARA SAÚDE HUMANA / Rafaella Tortoriello
Barbosa SAMPAIO. - Juiz de Fora, 2025.
108 f.: il.

Orientador: Julio Israel FERNANDES.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Programa de pós graduação em ciências
veterinárias - PPGCV , 2025.

1. Dermatite atópica canina,. 2. piodermite
recorrente. 3. Staphylococcus pseudintermedius
resistente à meticilina. 4. resistência
antimicrobiana. 5. Maldi-Tof. I. FERNANDES, Julio
Israel, 1979-, orient. II Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro. Programa de pós graduação em
ciências veterinárias - PPGCV III. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE
JANEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS



ATA N° 5009 / 2025 - PPGCV (12.28.01.00.00.00.50)

N° do Protocolo: 23083.056881/2025-11

Seropédica-RJ, 30 de setembro de 2025.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

RAFAELLA TORTORIELLO BARBOSA SAMPAIO

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutora** em Ciências, no
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

TESE APROVADA EM 29/09/2025

(Assinado digitalmente em 01/10/2025 09:44)

ALEXANDRE JOSE RODRIGUES
BENDAS

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DepoMCV (12.28.01.00.00.00.53)
Matricula: ##020000

(Assinado digitalmente em 30/09/2025 15:41)

DANIEL DE ALMEIDA BALTHAZAR

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DepoMCV (12.28.01.00.00.00.53)
Matricula: ##018703

(Assinado digitalmente em 30/09/2025 16:55)

JULIO ISRAEL FERNANDES

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DepoMCV (12.28.01.00.00.00.53)
Matricula: ##063400

(Assinado digitalmente em 08/10/2025 15:14)

CARINA MARTINS DE MORAES

ASSINANTE EXTERNO
CPF: ##0.##0.650-##

(Assinado digitalmente em 01/10/2025 09:10)

ARY ELIAS ABOUD DUTRA

ASSINANTE EXTERNO
CPF: ##0.##0.877-##

Visualize o documento original em <https://sinac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: 5009, ano: 2025, tipo: ATA, data de emissão: 30/09/2025 e o código de verificação: 45219bca45

**“Nas grandes batalhas da vida, o primeiro
passo para vitória é o desejo de vencer.”**

Mahatma Ghandi

Dedico este trabalho ao meu filho
Arthur e meus pais, por todo carinho e apoio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, acima de tudo, pela vida, pela saúde e pela força que me sustentaram em todos os momentos desta caminhada. À minha família, base fundamental de todo o meu percurso, pelo amor incondicional, compreensão e apoio em cada etapa. Em especial, ao meu pai Mauro Barbosa e à minha mãe Regina Tortoriello, que me ensinaram com exemplos de dedicação, coragem e perseverança, sendo fontes inesgotáveis de inspiração e motivação. Ao meu orientador, Professor Júlio Israel Fernandes, pela confiança, orientação atenciosa e pelo aprendizado transmitido com generosidade, contribuindo de maneira inestimável para a minha formação acadêmica e profissional.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela oportunidade de crescimento científico e intelectual. Às agências de fomento CNPq, CAPES e FAPERJ, pelo apoio financeiro e incentivo à pesquisa, sem os quais este trabalho não teria sido possível. Aos colegas que estiveram ao meu lado durante o desenvolvimento desta tese, pela colaboração, incentivo e amizade, fundamentais para superar os desafios desta jornada. Aos colegas de pós-graduação, pelo companheirismo e pela troca de experiências enriquecedoras ao longo desta etapa. Ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pelo espaço, suporte técnico e científico, que foram essenciais para a execução deste trabalho.

A todos que, de alguma forma, contribuíram direta ou indiretamente para a concretização deste estudo, deixo aqui minha sincera gratidão.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

BARBOSA, Rafaella Tortoriello. Identificação e perfil de resistência de bactérias do gênero *staphylococcus* isoladas de cães atópicos apresentando quadro de piodermite secundária: um risco para saúde humana. 2025. 109p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinária, Ciência Veterinária). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2025.

Piodermite recorrentes em cães com dermatite atópica representam um desafio significativo, inclusive pelo surgimento de cepas bacterianas resistentes, como *Staphylococcus pseudintermedius* resistente à meticilina (MRSP). Este estudo teve como objetivo identificar cepas bacterianas resistentes e multirresistentes em cães diagnosticados com dermatite atópica apresentando quadro de piodermite secundária atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, além de correlacionar a presença dessas bactérias com o histórico de uso de antimicrobianos. O estudo envolveu 107 amostras de cães com dermatite atópica apresentando quadro de piodermite, para os testes de detecção fenotípica e genotípica somente foram utilizados isolados bacterianos caracterizados com *Staphylococcus*. Os métodos fenotípicos incluíram provas como coagulase, catalase, testes bioquímicos específicos e antibiograma por disco-difusão. Os testes genotípicos envolveram a amplificação dos genes 16S rRNA e detecção de resistência direcionada exclusivamente do gene *mecA*. Adicionalmente, o estudo empregou a espectrometria de massa por tempo de voo com dessorção/ionização a laser assistida por matriz na identificação microbiológica em nível de espécie. Os resultados revelaram que *Staphylococcus pseudintermedius* foi a espécie bacteriana predominante, representando 47,7% dos isolados. Entre os *Staphylococcus* avaliados, 35,5% apresentaram o gene *mecA*, enquanto 33% dos isolados demonstraram multirresistência a pelo menos três classes de antibióticos. Foi observada uma correlação significativa entre o uso frequente de antimicrobianos, especialmente a amoxicilina associada ao ácido clavulânico e cefalexina com o surgimento de cepas resistentes. Os achados ressaltam a importância do uso racional de antibióticos na medicina veterinária para conter os riscos à saúde pública minimizando os riscos de transmissão zoonótica de bactérias resistentes. Iniciativas educacionais voltadas para médicos veterinários são recomendadas para promover o uso responsável de antibióticos e maior conscientização.

Palavras-chave: Dermatite atópica canina, piodermite recorrente, *Staphylococcus pseudintermedius* resistente à meticilina, resistência antimicrobiana, Maldi-Tof.

ABSTRACT

BARBOSA, Rafaella Tortoriello. Identification and resistance profile of *Staphylococcus* spp. isolated from atopic dogs with secondary pyoderma: a potential risk to human health 2025 109p. Tesis (Doctor in Veterinary Medicine, Veterinary Sciences.). Veterinary Institute, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2025.

Recurrent pyodermas in dogs diagnosed with atopic dermatitis pose a significant challenge, particularly due to the emergence of resistant bacterial strains such as methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP). This study aimed to identify resistant and multidrug-resistant bacterial strains in dogs presenting with secondary pyoderma associated with atopic dermatitis, treated at the Veterinary Hospital of the Federal Rural University of Rio de Janeiro. Furthermore, it sought to correlate the presence of these pathogens with the animals' history of antimicrobial usage. A total of 107 samples from dogs with atopic dermatitis and pyoderma were analyzed. For phenotypic and genotypic detection assays, only bacterial isolates identified as belonging to the genus *Staphylococcus* were considered. Phenotypic analyses included tests such as coagulase, catalase, specific biochemical assays, and disk diffusion antibiograms. Genotypic evaluations involved amplification of the 16S rRNA gene and detection of resistance specifically mediated by the *mecA* gene. In addition, species-level microbial identification was performed using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, an advanced technique that allows rapid and highly accurate profiling of bacterial proteomic signatures. The results demonstrated that *Staphylococcus pseudintermedius* was the most prevalent species, accounting for 47.7% of isolates. Among *Staphylococcus* evaluated, 35.5% harbored the *mecA* gene, and 33% exhibited multidrug resistance to at least three classes of antibiotics. A significant correlation was observed between frequent antimicrobial administration particularly amoxicillin combined with clavulanic acid and cephalexin and the emergence of resistant strains. These findings underscore the critical importance of rational antibiotic use in veterinary practice to mitigate public health risks and limit zoonotic transmission of resistant bacteria. Educational initiatives targeting veterinary professionals are recommended to foster responsible antimicrobial use and promote greater awareness.

Keywords: Canine atopic dermatitis, recurrent pyoderma, methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*, antimicrobial resistance, Maldi-Tof.

LISTA DE TABELAS

		Pág
Tabela 1	Critérios de Favrot aplicados para garantir a uniformidade das amostras em estudos com cães diagnosticados com dermatite atópica canina	21
Tabela 2	Resultados esperados nas provas bioquímicas para identificação fenotípica de <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	34
Tabela 3	Critérios de Favrot aplicados para garantir a uniformidade das amostras em estudos com cães diagnosticados com dermatite atópica canina	47
Tabela 4	Resultados esperados nas provas bioquímicas para identificação fenotípica de <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	50
Tabela 5	Oligoiniciadores e ciclos empregados nos ensaios de amplificação dos genes de identificação de <i>Staphylococcus</i> spp.	59
Tabela 6	Reagentes utilizados para a preparação da reação de PCR	60
Tabela 7	Sequência de iniciadores e condições de ciclos utilizados no termociclador para a detecção do gene <i>mecA</i>	60

LISTA DE FIGURAS

		Pág
Figura 1	Avaliação clínica de um cão com dermatite atópica.	15
Figura 2	Imagem representativa da condição caracterizada por uma resposta imune desregulada associada a exposição a fatores ambientais e a disfunção da barreira cutânea	17
Figura 3	Imagem representativa da barreira cutânea equilibrada e desregulada e de sua importância na patogênese da dermatite atópica canina	19
Figura 4	Animais portadores de Dermatite Atópica com piodermite de repetição	27
Figura 5	Micrografia eletrônica de varredura, ampliada em 10.000 vezes, revela a morfologia do <i>Staphylococcus aureus</i> , evidenciando estruturas esféricas (cocos) dispostas de forma semelhante a agrupamentos de uvas	32
Figura 6	Classificação bacteriana de acordo com a de coloração de Gram e coagulase	33
Figura 7	Isolamento bacteriano em ágar Columbia-base (Merck) suplementado com 5% de sangue desfibrilado de carneiro, evidenciando crescimento de colônias ao longo das estrias	49
Figura 8	Teste da catalase em lâmina	51
Figura 9	Teste da coagulase em tubo	52
Figura 10	Teste de Voges-Proskauer	53
Figura 11	Fermentação dos açúcares no teste de maltose e manose	54
Figura 12	Figura representativa das características clínicas, demográficas e o uso prévio de antibióticos em cães estudados	65
Figura 13	Figura representativa das 107 amostras analisadas e os 122 isolados que cresceram	68
Figura 14	Figura representativa dos resultados dos 109 isolados analisados por MALDI-TOF MS	70
Figura 15	Figura demonstrando a correlação entre avaliação genotípica e resultados do MALDI-TOF MS	72

Figura 16	Figura demonstrativa da resistência para diferentes antimicrobianos pelo teste de difusão em disco (antibiograma)	75
Figura 17	Avaliação da resistência à penicilina e beta-lactâmicos em <i>Staphylococcus spp.</i> utilizando o teste da Zona Edge	76
Figura 18	Presença de resistência induzível evidenciada pela redução no diâmetro do halo de inibição ao redor do disco de clindamicina, localizada adjacente ao disco de eritromicina	78
Figura 19	Figura representativa da identificação dos isolados com gene <i>mecA</i>	80
Figura 20	Figura representativa de todos os isolados com <i>mecA</i> 26/27 (96,3%) que tinham histórico de uso de antibióticos	81

LISTA DE ABREVIACÕES

AMVF – Ágar Manitol Vermelho de Fenol

BHI – Brain Heart Infusion (Infusão Cérebro-Coração)

BRCAST – Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos

CADESI – Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute

DAC – Dermatite Atópica Canina

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

ECPs – Estafilococos Coagulase Positivos

ICADA – International Committee on Allergic Diseases of Animals

IL – Interleucina

KOH – Hidróxido de Potássio

MALDI-TOF MS – Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry

MRSP – *Staphylococcus pseudintermedius* resistente à meticilina

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

PBP2a – Penicillin-Binding Protein 2a

rRNA 16S – RNA ribossômico 16S

SCCmec – Cassete Cromossômico Estafilocócico

SIG – *Staphylococcus Intermedius* Group

SYBR Green I – Corante fluorescente usado em PCR

TSLP – Linfopoietina Estromal Tímica

WHO – World Health Organization

SUMÁRIO

	Pág
1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Dermatite Atópica Canina	14
2.1.1 Definição, manifestações clínicas e diagnóstico	14
2.1.2 Etiopatogenia da Dermatite Atópica Canina	15
2.1.3 Relação com barreira cutânea e microbioma	17
2.1.4 Critérios de Favrot e índice CADESI	20
2.2 Piodermite Recorrente em Cães com DAC	22
2.2.1 Impacto das infecções secundárias Definição e classificação	22
2.2.2 Definição e classificação das piodermites	24
2.2.3 Principais agentes etiológicos da piodermite secundária	25
2.2.4 Diagnóstico clínico e laboratorial das piodermites	26
2.2.5 Manejo terapêutico: tópicos e sistêmicos	28
2.3.1 <i>Staphylococcus</i> spp: Conceito, fatores de virulência e resistência	31
2.3.2 <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> resistente à meticilina: Gene <i>mecA</i>	36
2.3.3 Métodos de identificação bacteriana e diagnóstico de resistência à meticilina	38
2.4 Resistência Antimicrobiana em Cães: Impactos e Relações com a Saúde Única	42
2.4.1 <i>Staphylococcus</i> spp. meticilina resistentes na medicina veterinária	42
2.4.2 Riscos Zoonóticos e o Conceito de Saúde Única	44
3. MATERIAIS E MÉTODOS	46
3.1 Aspectos éticos	46
3.2 Local do experimento	46
3.3 Seleção dos animais e critérios de inclusão	46
3.4 Isolamento e identificação fenotípica de <i>Staphylococcus</i> spp.	48
3.4.1 Prova de hidróxido de potássio (KOH) 3%	50
3.4.2 Teste da catalase	50
3.4.3 Prova de coloração de Gram	51
3.4.4 Teste da coagulase	51
3.4.5 Teste de Voges-Proskauer (VP)	52
3.4.6 Teste de Fermentação de Manose e Maltose	53

3.4.7 Prova de suscetibilidade à bacitracina e à Polimixina B	55
3.5 Difusão em disco, identificação fenotípica de <i>S. spp.</i> resistentes à meticilina	55
3.6 Análise por MALDI-TOF	56
3.7 Identificação genotípica dos <i>Staphylococcus spp.</i> gene 16srRNA e mecA	57
3.7.1 Extração das amostras	57
3.7.2 Identificação genotípica dos <i>Staphylococcus spp.</i> isolados - 16srRNA (756 pb)	58
3.7.3 Identificação genotípica do gene de resistência mecA	59
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
4.1 Perfil dos animais selecionados	61
4.2 Identificação das amostras coletadas	67
4.3 Avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos e resistência bacteriana	73
4.4 Identificação genotípica de <i>Staphylococcus sp</i> - mecA (533 pb) e características dos isolados	79
5. CONCLUSÃO	85
6. REFERENCIAS	87
7. ANEXOS	102
7.1 Certificado CEUA	102
7.2 Ficha clínica	103
7. Termo de anuência institucional	105

1. INTRODUÇÃO

A dermatite atópica canina (DAC) é uma das doenças alérgicas mais frequentes observadas na prática clínica de pequenos animais. Caracteriza-se por um processo inflamatório crônico, associado a prurido persistente e alterações na barreira cutânea. Essa de base genética proporciona a penetração de alérgenos ambientais e microrganismos, tornando a pele do cão atópico um ambiente adequado à colonização e proliferação bacteriana. Resultando, em quadros de infecção secundária, especialmente as observadas nos pacientes com DAC.

Entre os agentes bacterianos mais comumente envolvidos, destaca-se *Staphylococcus pseudintermedius*, uma bactéria comensal da pele dos cães, mas que, em condições de disbiose, pode se comportar como patógeno oportunista. Ou seja, a perda da diversidade microbiana e a proliferação de *Staphylococcus pseudintermedius*, é reconhecida como um importante fator predisponente para a ocorrência de infecções recorrentes em cães atópicos.

As piodermites caninas são tradicionalmente classificadas de acordo com a profundidade das lesões, podendo ser de superfície, superficiais e profundas. Contudo, independente da classificação, essas infecções são consideradas secundárias, quase sempre associadas a doenças de base, como a própria DAC. Nesse sentido, o sucesso terapêutico está não apenas correlacionado à escolha adequada do antimicrobiano, mas também à identificação e ao controle da causa primária.

No decorrer dos anos, tem-se observado um aumento expressivo na prescrição de antimicrobianos, principalmente em casos de infecções de pele recorrentes. Em muitos desses casos, o tratamento é realizado de forma empírica, sem a realização de cultura e antibiograma, o que contribui para a seleção e disseminação de cepas bacterianas resistentes. Essa prática indevida e demasiada é preocupante, pois a resistência antimicrobiana, especialmente à metilicina, limita as opções terapêuticas disponíveis e contribui com o risco de falha no tratamento.

A resistência bacteriana não é apenas um problema exclusivo da medicina veterinária, mas sim uma questão que envolve saúde pública. A convivência próxima entre cães e humanos, principalmente em ambientes domésticos, facilita a troca de microrganismos, incluindo cepas

resistentes. Casos de transmissão de *Staphylococcus aureus* e *S. pseudintermedius* resistentes à meticilina entre animais e seus tutores já foram documentados, alertando para a necessidade de abordagens associadas sob a perspectiva em Saúde Única.

Diante desse cenário, torna-se essencial compreender os fatores envolvidos no aparecimento e manutenção das cepas resistentes nos cães, em especial naqueles pacientes dermatopatas crônicos. A investigação do perfil de resistência bacteriana em cães com piodermite recorrente, associada à DAC, é uma ferramenta extremamente importante para estimular práticas clínicas mais seguras de prescrição de antimicrobianos e contribuir para a redução da resistência.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Dermatite Atópica Canina

2.1.1. Definição e relevância, manifestações clínicas e diagnóstico da Dermatite Atópica Canina

A dermatite atópica canina (DAC) é uma doença de pele, crônica, pruriginosa e inflamatória que afeta de 10 a 30% dos cães e compartilha semelhanças com a dermatite atópica humana. Esta é uma síndrome complexa influenciada por fatores genéticos e ambientais, ou seja, uma doença multifacetada com vários fenótipos e mecanismos (Hillier; Griffin, 2001; Nutall et al., 2019).

Recentemente, o Comitê Internacional de Doenças Alérgicas de Animais (ICADA) redefiniu a dermatite atópica canina (DAC) como uma doença de pele hereditária, caracterizada por inflamação e prurido, em grande parte mediada por células T. A condição resulta da interação entre a disfunção da barreira cutânea, a sensibilização a alérgenos e o desequilíbrio da microbiota da pele (Eisenschenk et al., 2023).

Linek, M., & Favrot, C. (2010) demonstraram que a DAC é uma doença de pele angustiante, com impactos significativos na qualidade de vida dos cães portadores e de seus tutores. Esse impacto pode ser mais amplo, conforme a extensão das lesões, o estágio da doença (aguda ou crônica) e a presença de fatores de exacerbação, como mudanças ambientais e infecções oportunistas.

A DAC manifesta-se predominantemente em áreas como face, orelhas, patas, extremidades, axilas e região ventral, onde são observadas alterações cutâneas progressivas. Inicialmente, surgem eritema e pápulas, evoluindo para escoriações, alopecia, liquenificação e hiperpigmentação, frequentemente exacerbadas pelo auto-trauma e infecções secundárias. A expressão clínica pode incluir episódios recorrentes de otites e piodermites (Hensel et al., 2015; Nutall et al., 2019; Marsella, R. 2021) (Figura 1).

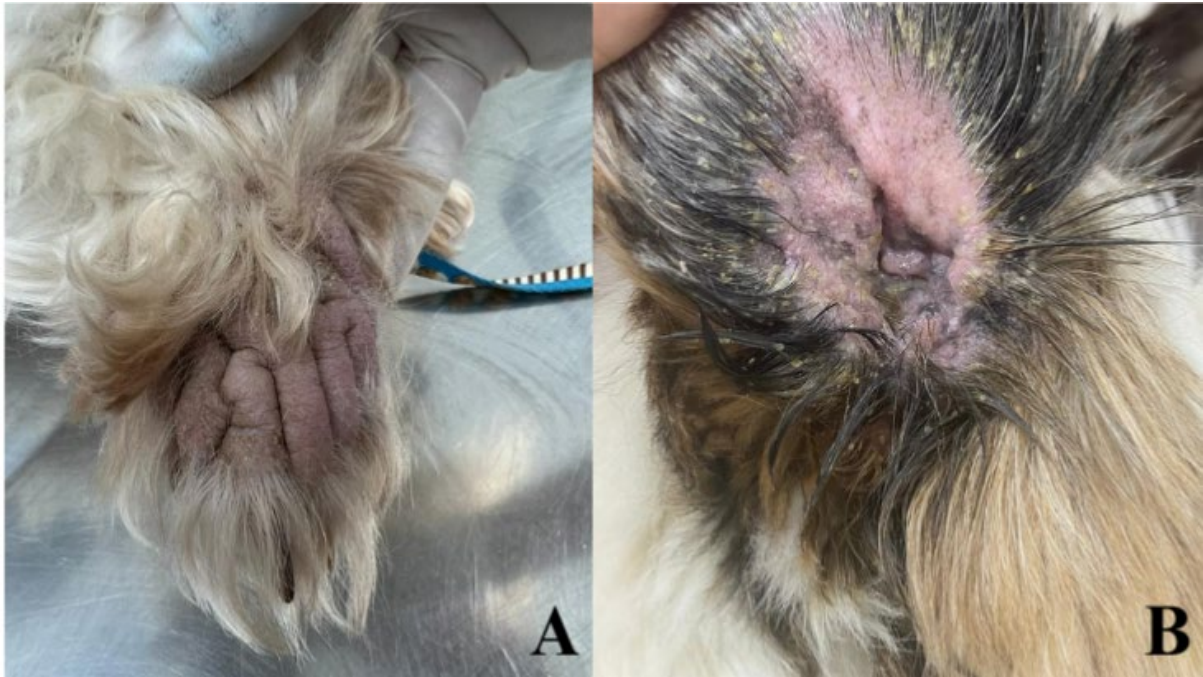


Figura 1: Avaliação clínica de um cão com dermatite atópica. A) Lesão em região interdigital observada no membro torácico direito apresentando alopecia, hiperqueratose; B) Pavilhão auricular comprometido apresentando eritema, eczema, descamação, presença de secreção e com as margens das orelhas preservadas.

O diagnóstico é desafiador, a ausência de uma manifestação patognomônica, demanda uma abordagem criteriosa baseada na exclusão de outras etiologias, como dermatoses de origem parasitária ou infecciosa. Assim, a construção do diagnóstico torna-se através da correlação entre sinais clínicos e exclusão de outras dermatoses, permitindo uma compreensão mais precisa da condição e direcionamento terapêutico adequado (Hensel et al., 2015; Nutall et al., 2019; Marsella, R. 2021).

2.1.2. Etiopatogenia da Dermatite Atópica Canina

Historicamente, existem duas hipóteses opostas propostas para explicar a patogênese da dermatite atópica canina (DAC). A teoria "de fora para dentro" sugere que defeitos primários na barreira cutânea permitem a penetração de alérgenos, levando à sensibilização imunológica e à ativação inflamatória. Já a teoria "de dentro para fora" defende que a ativação imune é o fator inicial, resultando em um comprometimento secundário da barreira cutânea. No entanto, pesquisas da última década demonstram que ambos os mecanismos atuam em conjunto, ou seja, associados para desenvolvimento da DAC (Nutall et al., 2019).

Portanto, a DAC é uma condição caracterizada por uma resposta imune desregulada que envolve predisposição genética, fatores ambientais e disfunção da barreira cutânea (Hensel et al., 2015). A exposição a alérgenos ambientais, como pólen, ácaros, poeira doméstica e outras partículas transportadas pelo ar, resulta na interação com o sistema imunológico desencadeando a ativação de processos inflamatórios crônicos. Esses fatores podem ser os principais contribuintes para a doença, embora seus papéis exatos ainda estejam sob investigação (Marsella, R. 2021).

A literatura aponta que cães atópicos possuem alterações genéticas que influenciam diretamente a regulação da resposta imune adaptativa, particularmente na ativação das células T do tipo 2 (Th2), favorecendo um perfil imunológico alérgico (Marsella et al., 2012). Do ponto de vista imunopatológico, a DAC é considerada uma reação de hipersensibilidade do tipo I mediada por IgE, em que a exposição a alérgenos ambientais leva à sensibilização do sistema imune. Essa resposta é desencadeada pela produção de imunoglobulina E (IgE) específica contra os alérgenos ambientais, com subsequente a ativação de mastócitos e liberação de mediadores inflamatórios, como histamina e prostaglandinas, que desencadeiam prurido e inflamação cutânea (Halliwell, 2006; Favrot et al., 2010). O padrão da resposta imune desregulada favorece a ativação células Th2 e a produção de citocinas como IL-4, IL-5 e IL-13, que mantendo o processo inflamatório (Hensel et al., 2015; Marsella, R. 2021) (Figura 2).

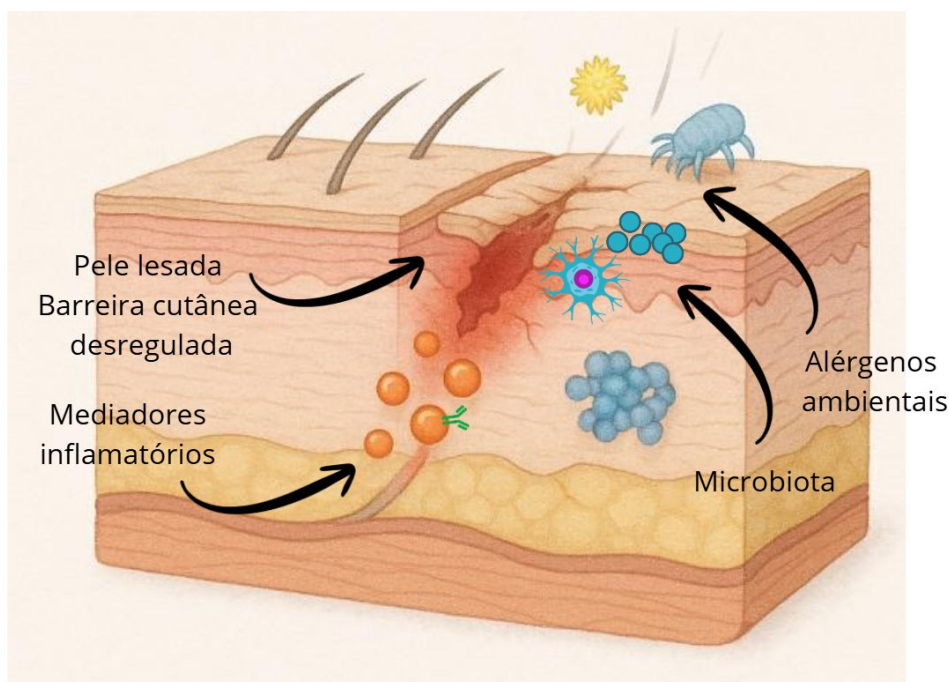


Figura 2: Imagem representativa da condição caracterizada por uma resposta imune desregulada associada a exposição a fatores ambientais e a disfunção da barreira cutânea.

A exposição constante com os alérgenos ambientais, comum em animais criados em ambientes urbanos, fechados e com menor ventilação atuam como importantes perpetuantes da DAC. A sazonalidade também pode influenciar o padrão clínico da doença, intensificando os sinais clínicos em determinadas épocas do ano (Marsella & Olivry, 2001; Hensel, P et al., 2023).

Em resumo, a imunopatogênese da dermatite atópica canina é caracterizada por uma resposta imune inadequada dominada por Th2 a alérgenos ambientais, levando à produção de IgE, ativação de mastócitos e inflamação crônica, agravada pela disfunção da barreira cutânea e infecções secundárias. Essa tríade contribui para a instalação de um processo inflamatório crônico, recorrente e frequentemente refratário, que demanda uma abordagem terapêutica multidisciplinar e individualizada (Marsella, R. 2021).

2.1.3. Relação entre Dermatite Atópica Canina, barreira cutânea e microbioma

A barreira cutânea é composta por corneócitos do estrato córneo, lamelas lipídicas estruturadas por colesterol, ácidos graxos e ceramidas. Esta tem um papel crucial na homeostase cutânea, ou seja, agindo como a primeira linha de defesa contra agentes externos (Marsella, R. 2011 Santoro, D et al., 2015).

A integridade da barreira cutânea desempenha um papel crucial na patogênese da DAC, sendo que alterações na barreira podem predispor os cães ao desenvolvimento da doença. Em cães atópicos, observa-se aumento da perda transepidérmica de água, facilitando a entrada de alérgenos e predispondo a inflamação contínua da pele. Alterações na composição lipídica, especialmente a redução de ceramidas, e a menor expressão de proteínas estruturais como filagrina e a involucrina, corroboram o comprometimento funcional da barreira (Marsella et al., 2011; Olivry, T. 2011).

Além das alterações estruturais, recentemente foi descoberto que a barreira prejudicada também pode influenciar na resposta imunológica do indivíduo favorecendo a ativação da resposta Th2. Ou seja, os queratinócitos atualmente são reconhecidos como elementos imunologicamente ativos, capazes de produzir e ativar citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, como a linfopoietina estromal tímica (TSLP) e a interleucina 33 (IL-33). Essas por vez atuam como moduladoras da resposta imune, estimulando células dendríticas e linfócitos T, intensificando o perfil inflamatório Th2 característico da DAC (Hensel et al., 2015, Santoro, D et al., 2023; Banovic. 2024) (Figura 3).

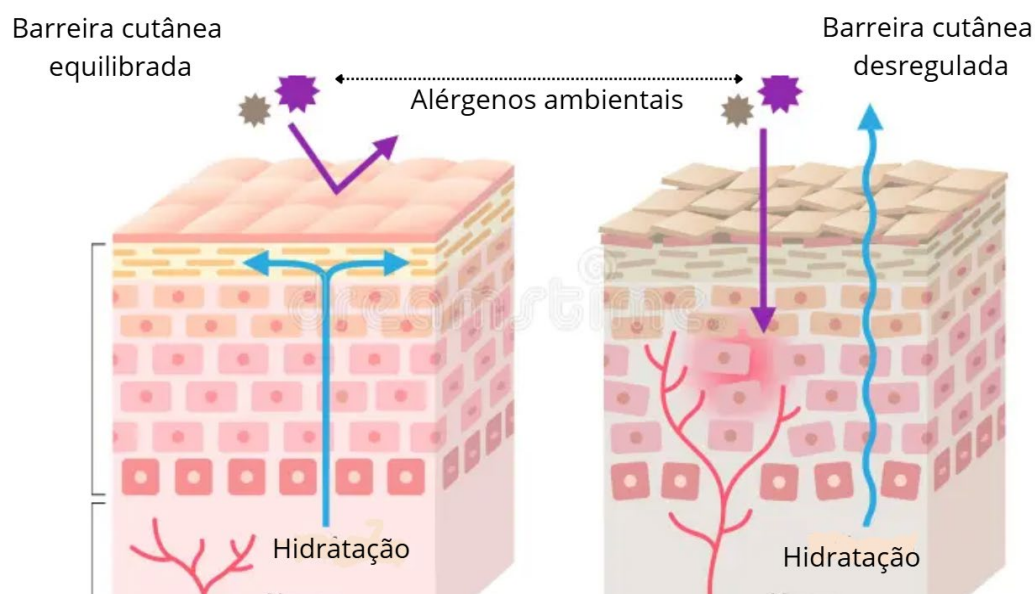


Figura 3: Imagem representativa da barreira cutânea equilibrada e desregulada e de sua importância na patogênese da dermatite atópica canina.

Outro aspecto relevante é a interação entre a barreira cutânea e o microbioma. Quando a integridade da barreira epidérmica é comprometida, há uma predisposição ao desequilíbrio microbiano. A pele dos cães é naturalmente colonizada por diversos de microrganismos, conhecido como microbioma cutâneo, esse exerce funções importantes na manutenção da homeostase cutânea, atuando na proteção contra patógenos e na modulação do sistema imunológico local. Ele desempenha um papel crucial na manutenção da saúde da pele e pode ser influenciado por fatores como dieta, ambiente e estado de saúde, incluindo condições como dermatite atópica (Santoro, D et al., 2023).

Em cães atópicos, há uma redução na diversidade microbiana da pele, com predominância de organismos como *Staphylococcus pseudintermedius* e *Malassezia pachydermatis*. O desequilíbrio da microbiota cutânea tem sido associado à piora das lesões dermatológicas e à intensificação do prurido e inflamação (Santoro et al., 2015; Pierezan, F. et al., 2016; Nakatsuji et al., 2020). Apesar do crescente número de estudos publicados na área, as interações entre a DAC e o microbioma da pele ainda não são totalmente compreendidas, ou seja, o papel preciso da disbiose cutânea na progressão e cronicidade da doença permanece em investigação (Santoro, D. et al., 2023).

2.1.4 Critérios de Favrot e utilização do índice CADESI no diagnóstico da dermatite atópica canina.

A DAC é uma doença de base alérgica, inflamatória e pruriginosa, de diagnóstico desafiador devido à ausência de um teste diagnóstico específico e definitivo. Diante disso, os critérios de Favrot consistem em um conjunto de sinais clínicos que auxiliam em sua identificação. Os critérios de Favrot foram estabelecidos por meio de um estudo prospectivo multicêntrico, que incluiu 719 cães com prurido crônico. A partir dessa amostra, foram definidos os critérios clínicos e para um diagnóstico provável. Portanto, para tal é necessário que o animal apresente pelo menos cinco dos oito critérios estabelecidos (Favrot et al., 2010; Hensel et al., 2015).

A aplicação desses critérios demonstrou sensibilidade de 77,2% e especificidade de 83,0% quando cinco critérios são atendidos. Aumentando para seis critérios, a especificidade sobe para 93,7%, embora a sensibilidade diminua para 42,0% (Favrot et al., 2010; Hensel et al., 2015) (Tabela 1). No entanto, esses critérios não têm valor diagnóstico isolado e não substituem a investigação clínica completa, incluindo exclusão de ectoparasitoses, infecções secundárias e outras doenças alérgicas, como hipersensibilidade alimentar. Os critérios são valiosos como ferramenta auxiliar na rotina clínica e na seleção de pacientes para estudos científicos (Favrot et al., 2010; Hensel et al., 2015).

Tabela 1. Critérios de Favrot aplicados para garantir a uniformidade das amostras em estudos com cães diagnosticados com dermatite atópica canina

Critérios Avaliados	Sim (✓)	Não (✓)
Aparecimento dos sinais antes dos 3 anos de vida		
Cão que vive maior parte do tempo dentro de casa		
Prurido responsivo a corticoterapia		
Prurido como primeiro sinal e somente após lesões		
Extremidades dos membros torácicos afetadas		
Pavilhões auriculares afetados		
Margens auriculares não afetadas		
Área dorso-lombar não afetada		

Fonte: Favrot 2010

A aplicabilidade dos critérios de Favrot tem sido amplamente validada por estudos recentes que buscaram padronizar o diagnóstico da DAC, conferindo maior rigor metodológico a investigações clínicas e epidemiológicas. Diversas pesquisas de impacto têm adotado esses critérios como ferramenta de seleção criteriosa dos animais participantes, contribuindo para a homogeneização das amostras e a reprodutibilidade dos resultados (Pierezan et al., 2016; Older et al., 2020; Ribeiro et al., 2020; Marsella et al., 2020).

O Índice de Extensão e Severidade da Dermatite Atópica Canina (CADESI) é uma ferramenta quantitativa utilizada para avaliar a gravidade das lesões cutâneas em cães com DAC. O CADESI-4 representa uma versão aprimorada de seus antecessores (CADESI-1, 2 e 3), com aplicação mais prática e confiável na rotina dermatológica, tanto em ensaios clínicos como em acompanhamento clínico (Olivry T. et al., 2014).

A versão mais recente, CADESI-4, considera 20 regiões corporais, avaliando três tipos de lesões: eritema, liquenificação e alopecia/escoriação. Cada lesão é pontuada em 0 (ausente), 1 (leve), 2 (moderada) e 3 (grave), permitindo uma classificação da doença em leve, moderada ou severa. A utilização do CADESI-4 na prática clínica proporciona uma avaliação objetiva da progressão da DAC e da resposta ao tratamento, sendo especialmente útil em estudos clínicos e na monitorização de terapias (Olivry T. et al., 2014).

O CADESI-4 demonstrou alta confiabilidade, sensibilidade e correlação com o grau de prurido e qualidade de vida do animal e do tutor. Além disso, a aplicação do índice favorece a padronização entre diferentes avaliadores e centros de pesquisa, permitindo uma comparação objetiva dos efeitos de abordagens terapêuticas, como corticoides, oclacitinib, ciclosporina, ou imunobiológicos como o lokivetmab (Olivry et al., 2014; Olivry et al., 2015; Olivry et al., 2018).

Diante de sua relevância clínica e científica, o CADESI-4 se consolida como uma ferramenta indispensável na avaliação de cães acometidos por DAC, contribuindo para a precisão diagnóstica, para o delineamento terapêutico e para o progresso das pesquisas em dermatologia veterinária (Olivry et al., 2014; Olivry et al., 2015; Olivry et al., 2018).

A integração dos critérios de Favrot e do índice CADESI na rotina clínica veterinária oferece uma abordagem estruturada e objetiva para o diagnóstico e monitoramento da dermatite atópica canina. Essas ferramentas auxiliam na identificação precoce da doença, na avaliação da gravidade das lesões e na eficácia das intervenções terapêuticas, contribuindo para um

manejo mais eficaz e melhor qualidade de vida dos pacientes caninos (Favrot et al., 2010; Marsella. R. et al., 2020).

2.2. Piodermite Recorrente em Cães com Dermatite Atópica Canina

2.2.1. Impacto das infecções secundárias na progressão da Dermatite Atópica Canina

A dermatite atópica canina afeta negativamente não apenas a qualidade de vida dos cães, mas também a de seus tutores. O impacto inclui distúrbios do sono, preocupações com o custo e dificuldade no manejo do tratamento, além de consequências indiretas como estresse emocional e mudanças na rotina. O prurido é identificado como o principal fator de sofrimento pelos responsáveis. Apesar de muitos responsáveis demonstrarem esperança em relação ao tratamento, cerca de 36% se sentem inseguros quanto à melhor abordagem terapêutica e preocupam-se com os efeitos colaterais. Além disso, os custos do tratamento foram apontados como uma preocupação relevante por aproximadamente 50% dos tutores (Linek, M. & Claude, F. 2010).

Infeções bacterianas cutâneas foram apontadas como a terceira causa mais frequente de atendimentos em clínicas veterinárias, segundo um levantamento realizado no Reino Unido sobre doenças dermatológicas em cães (Peri Lau-Gillard et al., 2023) e constitui a quarta principal causa para prescrição de antibióticos (Loeffler, A. et al., 2025). Apesar de raramente representar risco à vida, a piodermite causa impacto significativo na morbidade canina, provocando prurido e reações inflamatórias (Loeffler, A. 2018).

A piodermite é uma condição secundária, frequentemente associada à presença de doenças de base como DAC, e tende a se tornar recorrente quando o distúrbio primário não é corretamente diagnosticado e controlado. Sua recorrência exige tratamentos prolongados, que podem gerar frustração aos tutores e aumentar significativamente os custos da terapia (Hensel, et al., 2015; Loeffler, A. et al., 2018; Loeffler, A. et al., 2025).

O dano à integridade cutânea desencadeia um ciclo vicioso de infecção e inflamação, atrapalhando a reestruturação do microbioma da pele. Nesse contexto, o supercrescimento de bactérias como *Staphylococcus* spp. desempenha um papel crítico na intensificação da dermatite atópica canina. Essas bactérias oportunistas produzem diversos fatores de virulência que agravam os quadros clínicos, sobretudo em animais com barreira cutânea comprometida, como os que sofrem de dermatite atópica canina (DAC) (Marsella, R. 2021).

Entre a ação das toxinas, destacam-se a capacidade de romper a adesão entre as células epidérmicas, a de ação citolítica que contribui para a destruição e danos aos tecidos desencadeando uma resposta imunológica exacerbada, promovendo a liberação massiva de citocinas inflamatórias e agravando o quadro dermatológico (Geoghegan et al., 2009; Bannoehr, J. & Guardabassi, L. 2012; Pietrocola et al., 2015).

No contexto da dermatologia veterinária, a identificação e compreensão desses mecanismos de virulência são essenciais para o direcionamento do tratamento, principalmente em casos recorrentes ou refratários de piodermite. Dessa forma, a abordagem terapêutica deve considerar não apenas o controle do crescimento bacteriano, mas também os efeitos sistêmicos e locais causados por essas toxinas, especialmente em cães com DAC, nos quais a resposta inflamatória exacerbada e a disfunção da barreira cutânea criam um ambiente propício para infecções repetidas e complicadas (Santoro et al., 2015; Santoro et al 2023).

Em síntese, as infecções secundárias exercem influência significativa na evolução clínica e no manejo terapêutico da dermatite atópica. Entretanto uma abordagem associada entre os fatores genéticos, ambientais e infecciosos é imprescindível em pacientes com DAC (Olivry, T. et al 2015).

2.2.2. Definição e classificação das piodermites

Por definição, piodermite refere-se a infecções bacterianas que afetam principalmente a pele, indicando que sempre quando uma bactéria se prolifera em excesso, existe a probabilidade de manifestar um processo piodérmico (Larsson & Lucas 2016; González,D. et al., 2020). A piodermite surge como consequência de doenças subjacentes, incluindo dermatopatias alérgicas, como DAC, bem como distúrbios endócrinos, parasitários e anormalidades de queratinização (Miller et al., 2013; Hillier et al., 2014; Hensel., et al., 2015; Loeffler, A. et al., 2018).

A classificação da piodermite é baseada na profundidade do envolvimento do tecido na pele. Essa caracterização abrange as piodermites de superfície, superficiais e profundas. A piodermite de superfície é identificada quando não há invasão significativa do patógeno na camada epidérmica, onde as bactérias apenas colonizam o estrato córneo. São infecções bacterianas que apresentam eritema, exsudação e por vez, odor desagradável e que engloba condições por exemplo como a dermatite piotraumática e o intertrigo (Larsson & Lucas, 2016; Loeffler, A. et al., 2025). Por outro lado, a piodermite superficial compromete a epiderme e os

folículos pilosos, sendo a foliculite bacteriana a forma mais comum de infecção associada à DAC (Hensel., et al., 2015; Loeffler, A et al., 2025).

Clinicamente, essa condição pode se apresentar com pápulas, colaretes epidérmicos, pústulas, crostas, eritema, hiperpigmentação e áreas de alopecia. Já a piodermite profunda é menos comum, porém mais grave, ocorrendo envolvimento da epiderme, dos folículos pilosos, da derme e a proximidade com os vasos sanguíneos aumentam o risco de disseminação sistêmica e bacteremia. Embora possa ocorrer em resposta a diversos fatores predisponentes ou em animais com imunodeficiência adquirida, e conforme indicado por nomenclatura, geralmente se apresentada como foliculite, furunculose e celulite (Kuznetsova et al., 2012; Mueller et al., 2012; Loeffler, A. et al., 2025). As lesões incluem fistulas com drenagem purulenta, serosanguinolentas, crostas hemorrágicas, nódulos e diferentes graus de eritema e edema, sendo a dor um sintoma relativamente comum. As formas localizadas de piodermite profunda geralmente acometem como a acne mentoniana, foliculite, furunculose e celulite dos bulls, pododermatite interdigital e piodermite em calos (Loeffler, A. et al., 2018; Loeffler, A. et al., 2025).

2.2.3. Principais agentes etiológicos da piodermite secundária à Dermatite Atópica Canina

A piodermite secundária à DAC está frequentemente associada à colonização e proliferação de microrganismos oportunistas, principalmente quando há comprometimento da barreira cutânea. O principal agente etiológico envolvido é *Staphylococcus pseudintermedius*, considerado o patógeno bacteriano residente mais comum em casos de infecção cutânea em cães, especialmente em quadros inflamatórios e pruriginosos como os observados na DAC (Hensel., et al., 2015; Loeffler, A. et al., 2018; Loeffler, A. et al., 2025).

Um estudo retrospectivo realizado no Canadá demonstrou que os estafilococos foram responsáveis por 76,8% dos isolados bacterianos obtidos de amostras cutâneas de cães no período entre 1994 e 2013 (Awosile, B. et al., 2018). Dados mais recentes, obtidos por meio do sequenciamento do gene 16S do RNA ribossômico, reforçam essa predominância, identificando os estafilococos como os microrganismos mais frequentemente encontrados em *swabs* de lesões cutâneas de cães atópicos (Older, CE. et al., 2020). Dentre as espécies isoladas, o *Staphylococcus pseudintermedius* coagulase-positivo destaca-se como o agente predominante, presente em mais de 90% dos casos de piodermite canina, especialmente nas formas superficiais conforme evidenciado por estudos clínicos e análises laboratoriais,

independentemente do perfil de suscetibilidade à meticilina. (Lynch, SA & Helbig, K. 2021; Faccin, M. et al., 2023).

Contudo, outras espécies de estafilococos coagulase-positivos ou negativos também têm sido identificadas em piodermite em animais com desordens cutâneas. *Staphylococcus schleiferi subsp. coagulans*, por exemplo, é reconhecido como um patógeno oportunista em cães com DAC, aproveitando-se da disbiose para se instalar e causar infecções (Frank, L. et al 2003; Kawakami, T. et al., 2010). Espécies como *Staphylococcus scuri*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus haemolyticus* *Staphylococcus coagulans*, embora normalmente consideradas residentes da microbiota cutânea e mucosa, podem ser isolados em culturas e ser considerados como patógenos oportunistas em situações de imunossupressão ou ruptura da integridade da pele, como ocorre em cães com dermatite atópica. Entretanto sua relevância clínica ainda discutida (Miszczak M. et al., 2023; Kania, S. et al., 2004).

Staphylococcus aureus é amplamente reconhecido como o principal agente etiológico das piodermites em humanos, sendo responsável por uma variedade de infecções cutâneas. Estudos indicam que essa bactéria causa entre 80% e 90% dessas infecções em todo o mundo (Al Kindi., et al., 2019). Embora menos frequente na espécie canina, *Staphylococcus aureus*, também tem sido isolado em infecções secundárias, especialmente na presença de alergias, disfunções imunológicas ou em animais oriundos de residências onde vivem profissionais da área da saúde (Qekwana, D. et al., 2017; Gonzále,-D. et al., 2020; Chanayat, Y. et al., 2021).

Em casos de lesões nodulares ou com maior comprometimento da pele, como ocorre nas piodermites profundas, é comum a participação de bactérias além dos estafilococos. Agentes como *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* podem estar envolvidos. Neste caso, para garantir um diagnóstico preciso, é indispensável a realização de culturas microbiológicas e, por vez, o uso de métodos moleculares para identificação dos agentes causadores (Loeffler, A. et al., 2025).

Em condições normais, o sistema imunológico do hospedeiro mantém uma relação equilibrada com o microbioma cutâneo, regulando a proliferação dos microrganismos presentes na pele. Dessa forma, mesmo microrganismos considerados parte da microbiota residente e geralmente inofensivos, podem se tornar patogênicos em situações de disbiose (Marsella et al., 2011; Santoro et al., 2015; Banovic. 2024).

2.2.4. Diagnóstico clínico e laboratorial das Piodermites

O diagnóstico clínico e laboratorial das piodermites em cães deve ser conduzido de forma criteriosa, respeitando a sua natureza secundária e a crescente necessidade de uso racional de antimicrobianos. A abordagem diagnóstica envolve inicialmente a observação das manifestações clínicas características e sua classificação em piodermite de superfície, superficial ou profunda. Pápulas eritematosas, pústulas foliculares, colaretes epidérmicos, crostas, alopecia multifocal, eritema, além de alterações pigmentares como hiperpigmentação e áreas alopécicas com aspecto de “roedura por traças” principalmente em raças de pelagem curta, são manifestações características (Hillier, A. et al., 2014; Loeffler, A. et al., 2018; Marsella, 2021; Loeffler, A. et al., 2025) (Figura 4).

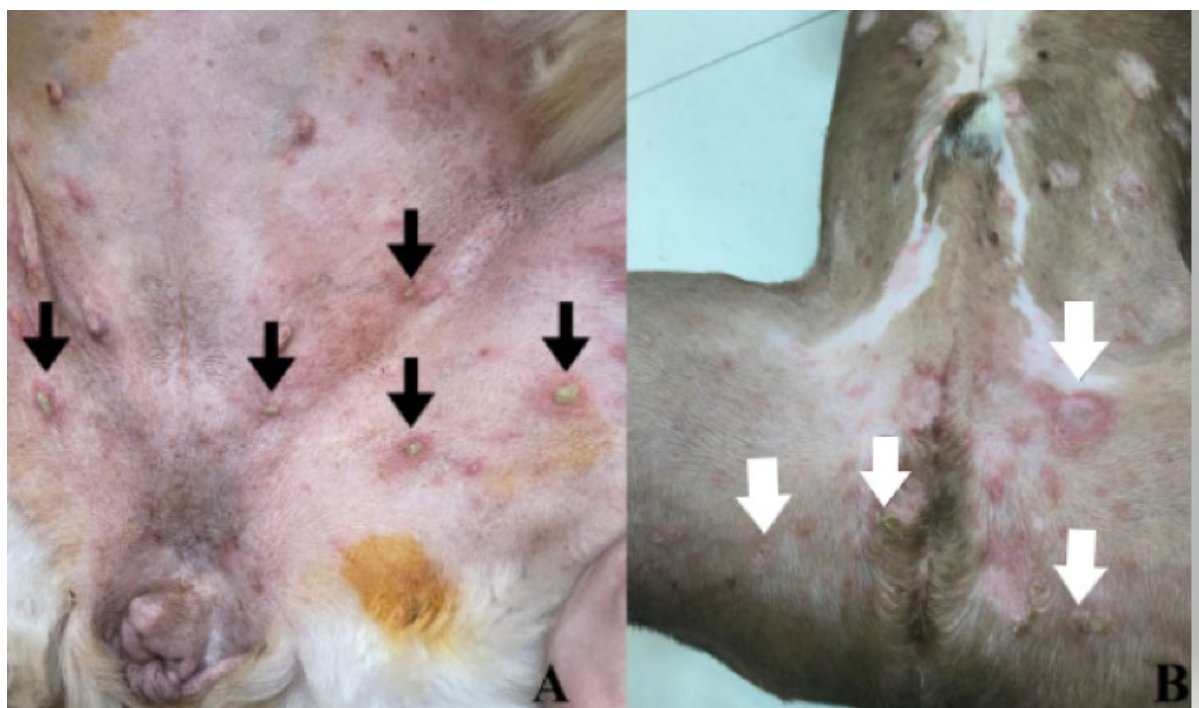


Figura 4: Animais portadores de Dermatite Atópica com piodermite de repetição. A) lesões pustulares na região inguinal (setas pretas); B) Notar os colaretes epidérmicos (setas brancas).

A citologia cutânea, especialmente por impressão direta ou fita adesiva, é altamente recomendada como ferramenta complementar essencial, permitindo a visualização de cocos intra e extracelulares, além de avaliar a presença de neutrófilos degenerados e outras células inflamatórias. Essa prática, quando bem executada, contribui significativamente para confirmar a infecção bacteriana e orientar a conduta terapêutica (Hillier, A. et al., 2014; Loeffler, A. et al., 2025).

A cultura bacteriana e o teste de suscetibilidade antimicrobiana devem ser considerados, sobretudo em casos de piodermites profundas, crônicas, recorrentes ou quando houver falha terapêutica. Nessas situações, a identificação precisa do agente etiológico é crucial, especialmente frente à crescente incidência de estafilococos resistentes na medicina veterinária (Loeffler, A. et al., 2025).

O diagnóstico diferencial, portanto, não deve se basear apenas no isolamento de estafilococos coagulase-positivos ou negativos. A diferenciação precisa das espécies, especialmente de *S. aureus* e *S. pseudintermedius*, é fundamental, pois possuem implicações relevantes em saúde pública (Börjesson, S. et al., 2014; Drougka, E. et al., 2016; Thomson, P. et al., 2022). Testes bioquímicos específicos ou técnicas moleculares validadas devem ser utilizados para garantir a correta identificação das espécies. Sistemas automatizados comuns na medicina humana nem sempre são confiáveis na diferenciação de estafilococos de interesse veterinário, especialmente *S. pseudintermedius* e *S. schleiferi subsp. coagulans* (Sasaki, T. et al., 2010; González, D. et al., 2020; Maxson, T. et al., 2017).

Em suma, o diagnóstico das piodermites caninas deve ser, integrando em avaliação clínica, citológica e microbiológica. Essa abordagem abrangente permite não apenas confirmar a infecção, mas também identificar corretamente o agente envolvido e avaliar o perfil de resistência, aspectos essenciais para o manejo eficaz e responsável da doença, respeitando os princípios da medicina veterinária baseada em evidências e da saúde única (Loeffler, A. et al., 2018; Loeffler, A. et al., 2025).

2.2.5. Manejo das Piodermites: terapias tópicas, sistêmicas

Historicamente, o tratamento das piodermites em cães era realizado, em sua grande maioria, no uso empírico de antibióticos sistêmicos, com pouco ou nenhuma utilização de terapias tópicas. Entretanto, essa prática tem se mostrado cada vez mais ineficaz, especialmente em regiões onde se observa o surgimento de padrões de resistência bacteriana, particularmente entre os estafilococos. Diante desse cenário, o controle das piodermites de repetição e principalmente as por infecções resistentes, tornou-se um dos maiores desafios para os médicos-veterinários, exigindo a utilização de estratégias terapêuticas alternativas e o uso racional de antibióticos sistêmicos (Morris, D. et al., 2017; Burke & M, Santoro D., 2023).

A escolha do tratamento ideal deve considerar não apenas o perfil de resistência antimicrobiana, mas também a extensão e gravidade das lesões, características individuais do

paciente (como tipo de pelagem, temperamento e ambiente em que vive), presença de comorbidades e a viabilidade do tutor em administrar terapias, sejam elas tópicas ou sistêmicas. Embora as abordagens tópicas venham ganhando maior adesão nos últimos anos, ainda são pouco utilizadas na rotina clínica, muitas vezes devido à percepção de que o manejo pelo tutor pode ser difícil. Essa preocupação é compreensível, visto que alguns tutores relatam limitações no manejo das terapias tópicas ou pelo comportamento dos animais que dificultam a realização dos banhos ou aplicações locais (Morris, D. et al., 2017; Santoro, D, 2023; Loeffler, A. et al., 2025).

Por outro lado, o uso da terapia tópica apresenta diversas vantagens, incluindo, menor necessidade de uso prolongado de antibióticos sistêmicos, redução do risco de efeitos adversos e menor chance de seleção de cepas bacterianas resistentes. Além disso, o uso de xampus e sprays antissépticos à base de digluconato de clorexidina entre 0,5 e 4%, hipoclorito de sódio 0,03 a 0,05%, peróxido de benzoíla 2,5 a 50%, iragasan 0,5 a 1% oferecem benefícios adicionais, como a remoção mecânica de crostas, detritos e microrganismos, independentemente do princípio ativo do produto. Em casos de piodermite de superfície ou superficiais, como a foliculite bacteriana a terapia tópica isolada normalmente é eficaz (Hillier, A. et al., 2014; Loeffler, A. & David, H. 2018; Loeffler, A. et al., 2025).

Estudos recentes demonstraram que essa abordagem é suficiente inclusive frente a infecções causadas por cepas resistentes à metilina (MRSP), apresentando resultados clínicos semelhantes à antibioticoterapia sistêmica com amoxicilina associada ao ácido clavulânico (Borio et al., 2014; Bajwa, J. 2016). É válido citar que antibióticos tópicos tais como; mupirocina 0,5 a 4%, ácido fusídico 2,5 a 5%, bacitracina 0,5 a 1%, também são muito eficazes, sendo outra indicação aos antissépticos antes da introdução a terapia sistêmica (Morris, D. et al., 2017; Loeffler, A. et al., 2025).

Nos casos de piodermite profunda ou refratária a terapia tópica, o tratamento sistêmico torna-se indispensável. A escolha do antibiótico deve ser orientada, preferencialmente, por cultura bacteriana com teste de sensibilidade. Para a instituição de antibioticoterapia sistêmica de forma empírica, recomenda-se, de acordo com diretrizes internacionais, a utilização restrita de antimicrobianos de primeira escolha, como a amoxicilina associada ao ácido clavulânico, a cefalexina e a clindamicina. Esses fármacos apresentam, historicamente, boa eficácia frente aos principais agentes etiológicos da piodermite canina, especialmente *Staphylococcus pseudintermedius*. O uso deve ser limitado ao período necessário até a disponibilização dos

resultados da cultura bacteriana e do teste de sensibilidade antimicrobiana (antibiograma), que devem, sempre que possível, orientar a escolha terapêutica definitiva. Essa abordagem busca conservar a eficácia dos antimicrobianos, diminuir o risco da resistência bacteriana e assegurar um tratamento preciso dos pacientes acometidos (Loeffler, A. et al., 2018; Loeffler, A. et al., 2025).

Com base em uma revisão crítica da literatura, o novo consenso internacional recomenda iniciar o tratamento sistêmico para piodermite superficiais refratárias com um curso de 14 dias e para as piodermites profundas com duração de três semanas, complementado pelo uso de antimicrobianos tópicos e reavaliações clínicas a cada duas semanas. Essas reavaliações são essenciais para decidir pela continuidade, interrupção ou modificação da terapia, além de permitirem a verificação da adesão ao tratamento, avaliação de efeitos adversos e investigação de doenças primárias subjacentes (Loeffler, A. et al., 2025).

Se, na reavaliação, não houver melhora clínica, deve-se realizar nova citologia nas áreas previamente afetadas para confirmar a presença de bactérias intracelulares. Caso confirmada a persistência da infecção, recomenda-se a realização de cultura bacteriana e teste de sensibilidade para detectar resistência antimicrobiana. Por outro lado, se não houver mais sinais citológicos de infecção bacteriana, as lesões persistentes podem estar relacionadas a condições inflamatórias estéreis ou crônicas subjacentes, devendo-se considerar o uso de medicações anti-inflamatórias, como prednisolona ou ciclosporina, conforme o caso clínico. De maneira geral, o consenso atual é de que raramente será necessário ultrapassar seis semanas de tratamento antimicrobiano apropriado para eliminar o componente infeccioso secundário das lesões cutâneas (Loeffler, A. et al., 2025).

O uso de antimicrobianos como rifamicina, amicacina e clorofenicol devem ser estritamente limitados a casos de infecções por estafilococos resistente e multirresistentes. Esses fármacos, frequentemente são essenciais na medicina humana, como no tratamento da tuberculose e apresentam riscos relevantes de toxicidade em cães, além de contribuírem para a seleção de resistência com potencial zoonótico. Para sua indicação, é necessário respaldo microbiológico, avaliação clínica detalhada e comprometimento do tutor com o acompanhamento. Já linezolida e a vancomicina, são fortemente desaconselhados, por serem de uso exclusivo humano e proibidos em medicina veterinária em vários países e não devem ser utilizados na rotina clínica, mesmo com eficácia *in vitro*, devido ao alto risco de seleção de resistência e impactos à saúde pública (Loeffler, A. et al., 2025).

Outras abordagens complementares incluem o uso de terapia com bacteriófagos, probióticos cutâneos, entre outras. Embora essas opções ainda faltem em ampla validação científica, podem ser úteis em combinação com a terapia antimicrobiana tradicional. Devido ao alto risco de selecionar cepas bacterianas resistentes, o uso inadequado de antibióticos sistêmicos em regime de "pulsoterapia" ou em dose menores que as recomendadas não é recomendado (Guan, C. et al., 2022; Piewngam, P. et al., 2023; Loeffler, A. et al., 2025).

Por fim, a medida mais eficaz para prevenir recidivas de piodermite e evitar a seleção de cepas resistentes é a identificação e o controle da doença primária subjacente, como a dermatite atópica canina. Esse desafio exige uma abordagem clínica criteriosa, baseada em citologia e cultura bacteriana, assim como um plano terapêutico individualizado, que considere as particularidades de cada paciente e promova o uso racional de antimicrobianos (Marsella, 2021; Loeffler, A. et al., 2025).

2.3. Resistência Antimicrobiana em *Staphylococcus* spp.

2.3.1. *Staphylococcus* spp: Conceito, fatores de virulência e mecanismos gerais de resistência

As bactérias do gênero *Staphylococcus*, pertencentes à família Staphylococcaceae, são cocos Gram-positivos, dispostos de forma irregular, comumente descritos como semelhantes a “cachos de uva”. São microrganismos anaeróbios facultativos, imóveis, não esporulados, catalase-positivos e naturalmente resistentes à bacitracina (0,04 UI). Esse gênero está amplamente distribuído na natureza e coloniza comensalmente a pele e mucosas de mamíferos e aves, podendo tornar-se patogênico em situações de quebra de barreira ou imunossupressão (Devriese, L. et al., 2005; Bannoehr, J. & Guardabassi, L. 2012) (Figura 5).

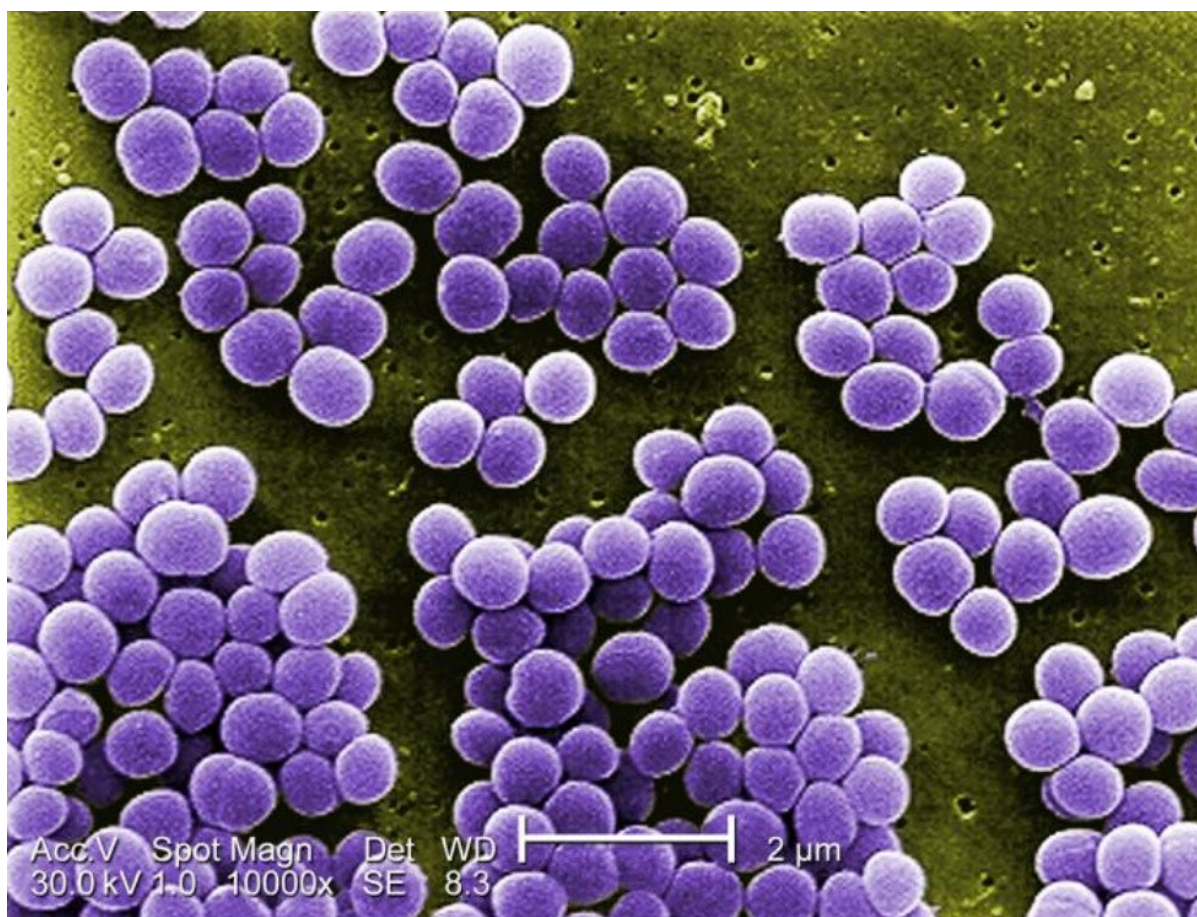


Figura 5: Micrografia eletrônica de varredura, ampliada em 10.000 vezes, revela a morfologia do *Staphylococcus aureus*, evidenciando estruturas esféricas (cocos) dispostas de forma semelhante a agrupamentos de uvas.

Fonte: <https://www.lecturio.com/pt/concepts/staphylococcus/>

O gênero *Staphylococcus* é taxonomicamente diverso, com mais de 50 espécies descritas (List of Prokaryotic Names With Standing in Nomenclature, 2018), tradicionalmente classificadas pela produção da enzima coagulase (Figura 6).

Grupo	Espécie
Gram-positivos – Coagulase-positivos	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>
	<i>Staphylococcus schleiferi subsp. coagulans</i>
Gram-positivos – Coagulase-negativos	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>

Figura 6: Classificação bacteriana de acordo com a de coloração de Gram e coagulase.

As espécies coagulase-positivas de maior interesse clínico incluem *S. aureus*, *S. pseudintermedius*, *S. schleiferi subsp. coagulans*, entre outras, as quais demonstram certo grau de especificidade de hospedeiro (Devriese et al., 2005; Sasaki et al., 2007). Por outro lado, os estafilococos coagulase-negativos (CoNS), como *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* e *S. hominis*, historicamente considerados saprófitas, vêm ganhando destaque por sua capacidade de atuar como patógenos oportunistas, especialmente em ambientes hospitalares veterinários (Kania, S. et al., 2004; Miszczak, M. et al., 2023).

Staphylococcus pseudintermedius foi originalmente classificado como *S. intermedius*, até que estudos moleculares revelaram sua individualidade como espécie. A caracterização levou à formação do Grupo *S. intermedius* (SIG), que inclui *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* e *S. delphini*. Atualmente, *S. pseudintermedius* é reconhecido como o principal agente causador de infecções cutâneas em cães, devendo os isolados caninos ser identificados como tal, exceto se confirmado o contrário por genotipagem (Devriese et al., 2005; Bannoehr et al, 2007).

Em estudos complementares, Devriese et al. (2005) identificaram o perfil de crescimento e propriedades bioquímicas de *S. pseudintermedius*, evidenciando a formação de colônias não pigmentadas em ágar sangue de carneiro, circundadas por zona de dupla hemólise. Esta espécie é catalase e coagulase positiva, positiva para os testes de Voges-Proskauer. Metabolicamente, produz ácidos a partir de diversos carboidratos, incluindo D-manose, N-acetilglicosamina, maltose entre outros (Tabela 2).

Tabela 2: Resultados esperados nas provas bioquímicas para identificação fenotípica de *Staphylococcus pseudintermedius*.

Prova	Resultado
Coagulase	+ (Positivo)
Bacitracina	R (Resistente)
Polimixina	S (Sensível)
Voges-Proskauer (VP)	- (Negativo)
Manose	+ (Positivo)
Maltose	+/- (Variável)
Identificação	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>

Microrganismos patogênicos utilizam diversas maneiras de adaptação e sobrevivência para colonizar tecidos do hospedeiro, sendo os fatores de virulência essenciais nesse processo. Esses elementos promovem a adesão às células epiteliais, evitam a ação fagocítica, facilitam a invasão tecidual e a manutenção da infecção (Marques et al., 2013).

Essa adesão é mediada por proteínas de superfície bacteriana que reconhecem componentes como fibrinogênio, fibronectina e colágeno da célula hospedeira, favorecendo a fixação e colonização (Foster, 2009; Dubin et al., 2013; Meroni, G. et al., 2019; Wang, Z. et al., 2022). Durante as fases iniciais da infecção, as bactérias podem produzir um mucopolissacarídeo extracelular, diretamente relacionado à produção de biofilme (Arciola et al., 2015). Biofilmes podem se formar em tecidos vivos, promovendo infecções persistentes de difícil tratamento, dada a baixa eficácia de antimicrobianos frente a esse sistema, que atua como barreira física (An & Friedman, 1998; McCarthy et al., 2015).

Após a colonização no tecido, os estafilococos produzem várias substâncias tais como hemolisinas, leucocidinas, cuja função é destruir os tecidos do hospedeiro, disponibilizando nutrientes, o que contribui para os danos causados pela infecção (Haveri et al., 2008; El-Sayed et al., 2006; Meroni, G. et al., 2019; Wang, Z. et al., 2022).

Staphylococcus pseudintermedius compartilha diversos fatores de virulência com *S. aureus*, como a coagulase, além de produzir citotoxinas, enterotoxinas e toxinas esfoliativas (Hajek et al., 1976; Pietrocola et al., 2015). Contudo, muitos desses fatores ainda permanecem sem caracterização aprofundada (Melter et al., 2017). A enterotoxina C foi descrita relacionada a casos de piodermite canina, produzindo efeitos como a ativação de linfócitos T (Edwards et

al., 1997; Bannoehr et al., 2012). Entre as toxinas esfoliativas do *S. pseudintermedius*, destaca-se SIET, pela formação de lesões cutâneas comuns na piodermite canina e similares a lesões oriundas da síndrome da pele escaldada humana e epidermite exsudativa suína (Terauchi et al., 2003; Lautz et al., 2006). Adicionalmente, outras toxinas esfoliativas como as EXI vêm se destacando pela atividade lesiva a desmogleína-1, ou seja, com capacidade produzir lesões pustulares similares às encontradas no pênfigo foliáceo canino (Futagawa-Saito et al., 2009; Iyori et al., 2011).

Além de sua ampla distribuição e capacidade de colonização, o potencial patogênico de *Staphylococcus* spp. é amplificado por sua notável habilidade de desenvolver resistência a antimicrobianos. Este fenômeno é amplamente associado ao uso indiscriminado de antibióticos, tanto na medicina humana quanto veterinária. O aumento da resistência entre os estafilococos, particularmente *Staphylococcus pseudintermedius*, tem se tornado uma preocupação crescente na medicina veterinária, principalmente no tratamento de infecções de pele recorrentes, como a piodermite canina (Schwarz et al., 2017; Burke & Santoro., 2023).

A resistência antimicrobiana é um fenômeno biológico no qual microrganismos, como bactérias, desenvolvem a capacidade de sobreviver e proliferar mesmo na presença de agentes antimicrobianos que anteriormente eram eficazes contra eles. Essa resistência pode se manifestar sob diferentes formas, classificadas em intrínseca, adquirida, adaptativa e fenotípica (Schwarz, S. & Chaslus-Dancla, E. 2001; Schwarz et al., 2017).

A resistência intrínseca refere-se à capacidade natural de determinadas bactérias resistirem a certos antimicrobianos devido a características estruturais ou funcionais específicas, como por exemplo pela ausência de alvos moleculares ou da presença de barreiras estruturais que impedem a penetração ou ação do fármaco (Schwarz et al., 2017; Palma, E. et al., 2023).

Por outro lado, a resistência adquirida ocorre devido a incorporação de novos elementos genéticos, seja por meio de mutações espontâneas ou, pela incorporação de genes de resistência cedidos por outros microrganismos. Essa transferência de genes pode ocorrer por plasmídeos, transposons ou elementos genéticos móveis como o Cassete Cromossômico Estafilocócico (*SCCmec*), o qual desempenha papel fundamental na resistência aos β -lactâmicos por meio do gene *mecA* (Brooks, B. & Morse., 2007; Schwarz et al., 2017; Palma, E. et al., 2023).

Adicionalmente, a resistência adaptativa ocorre por uma resposta transitória secundária a estímulos do ambiente, como alterações do pH, temperatura ou pela realização de antibióticos em subdoses terapêutica. Como por exemplo, bactérias expostas repetidamente a um antibiótico podem ativar bombas de efluxo durante o tratamento e quando este finaliza, voltam a ser sensíveis. Já resistência fenotípica, é muitas vezes associada à formação de biofilmes e a existência de células persistentes. Ou seja, mesmo na ausência de genes de resistência, a bactéria pode sobreviver por mecanismos de dormência ou latência, conforme visto corriqueiramente nas otites ulcerativas com presença de biofilme (Brooks, B. & Morse., 2007).

Diversas classes de antimicrobianos amplamente utilizadas no tratamento de infecções estafilocócicas em cães têm apresentado, cada vez mais, relatos de resistência bacteriana. Entre os fármacos mais empregados destacam-se as penicilinas, cefalosporinas, fluoroquinolonas, macrolídeos e as tetraciclina (Schwarz, S. & Chaslus-Dancla, É. 2001; Palma, E. et al., 2023). A compreensão da prevalência e os mecanismos de resistência é essencial para o desenvolvimento de estratégias eficazes de prevenção e controle, tanto na medicina veterinária quanto na humana, dentro do conceito de Saúde Única (Schwarz, S. & Chaslus-Dancla, É. 2001; Palma, E. et al., 2023; Burke & Santoro., 2023).

2.3.2. *Staphylococcus pseudintermedius* resistente à meticilina: Gene mecA

A emergência de cepas de MRSP configura um desafio crescente na medicina veterinária, especialmente no manejo de infecções cutâneas recorrentes. Essa resistência tem ocorrido principalmente, ao uso inapropriado de antimicrobianos em humanos e animais, propiciando seleção de isolados multirresistentes. A detecção de MRSP, entretanto, é desafiadora, por essa razão, a confirmação da resistência à meticilina requer métodos moleculares mais sensíveis, como a reação em cadeia da polimerase (PCR). A principal via molecular de resistência está relacionada à aquisição do gene mecA que codifica a proteína de ligação à penicilina PBP2a. (Brooks, B. & Morse., 2007; Bannoehr & Guardabassi, 2012; Schwarz et al., 2017).

A produção da PBP2a, codificada pelo gene mecA, confere resistência à oxacilina em razão de sua baixa afinidade pelos beta-lactâmicos. Essa característica permite que a síntese do peptidoglicano, essencial para a formação da parede celular bacteriana, ocorra mesmo na presença desses antimicrobianos, resultando em resistência aos fármacos pertencentes à classe dos beta-lactâmicos (Schwarz & Chaslus-Dancla, 2001; Palma et al., 2023).

Os beta-lactâmicos, representam os antimicrobianos que possuem o anel beta-lactâmico em sua composição química. Tendo como principais representantes, as penicilinas, as aminopenicilinas, a oxacilina e a meticilina. Entretanto as cefalosporínicos, monobactâmicos e carbapenêmicos também são considerados beta-lactâmicos (Brooks, B. & Morse., 2007).

Atualmente é reconhecido que a presença do gene *mecA* no *SCCmec* predispõe a propagação da resistência interespecies e entre diferentes espécies, conforme a sua capacidade de locomoção entre as bactérias. Além disto, é importante pontuar que o *SCCmec* também pode carrear outros genes resistência, consequentemente desenvolver resistência cruzada a macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas, o que resulta na formação de perfis multirresistentes. reduzindo significativamente as opções terapêuticas (Morris, D. et al., 2017; Schwarz et al., 2017; Miszczak et al., 2023; Loeffler, A. et al., 2025).

Essas multirresistências associada a possibilidade de transferência de genes, levanta preocupações significativas sob a perspectiva da Saúde Única, devido ao risco de disseminação em ambientes compartilhados entre animais e humanos (Morris, D. et al., 2017; Schwarz et al., 2017; Miszczak et al., 2023; Loeffler, A. et al., 2025).

Compreender os mecanismos gerais de resistência bacteriana no gênero *Staphylococcus*, principalmente o *Staphylococcus pseudintermedius* é imprescindível para a formulação de estratégias terapêuticas eficazes e para o desenvolvimento de métodos diagnósticos capazes de discriminar cepas sensíveis e resistentes com precisão, especialmente no contexto da medicina veterinária, onde o impacto de cepas multirresistentes tem crescido exponencialmente (Meroni, G. et al., 2019; Wang, Z. et al., 2022).

2.3.3. Métodos de identificação bacteriana e diagnóstico de resistência à meticilina

Diversas abordagens laboratoriais têm sido utilizadas através da combinação de métodos fenotípicos e moleculares. Na rotina laboratorial da microbiologia veterinária, a identificação fenotípica de *Staphylococcus* spp. permanece uma abordagem fundamental e amplamente utilizada, especialmente em contextos clínicos (Becker et al., 2004; Barros et al., 2007).

A coloração de Gram separa as bactérias em dois grandes grupos, conforme estrutura de sua parede celular, sendo uma técnica importante para diferenciar entre os gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus*. O cultivo em ágar sangue permite avaliar a capacidade

hemolítica dos isolados, especialmente em relação à produção de hemolisinas, que são fatores de virulência. O ágar manitol é um meio seletivo para o crescimento de *Staphylococcus* e a fermentação de seus açúcares, junto com a hemolilise do agar sangue permite a diferenciação presuntiva entre *Staphylococcus aureus* perante a outros *Staphylococcus* (Devriese et al., 2005; Koneman et al., 2008).

Testes bioquímicos convencionais, como prova da catalase, coagulase e hidróxido de potássio (KOH) 3%, buscam o reconhecimento de fatores de virulência. O teste da coagulase é uma ferramenta essencial na microbiologia para diferenciar espécies de *Staphylococcus*, especialmente para identificar *Staphylococcus aureus*. O teste da catalase é amplamente utilizado para diferenciar *Staphylococcus* spp. de *Streptococcus* spp e a prova de hidróxido de potássio (KOH) 3% é utilizada principalmente para avaliar a estrutura da parede celular de bactérias, ajudando na diferenciação entre Gram-positivas e Gram-negativas (Devriese et al., 2005; Koneman et al., 2008).

Na identificação fenotípica de bactérias do gênero *Staphylococcus*, alguns testes bioquímicos de fermentação e produção de metabólitos, como a prova de Voges-Proskauer (VP) e a fermentação de açúcares como maltose e manose, têm sido empregados para diferenciar espécies dentro do gênero. Mas especificamente o teste VP visa identificar a produção de acetilmetilcarbinol (acetona) a partir da degradação da glicose via de fermentação de butilenoglicol. Ele é usado para avaliar a capacidade da bactéria de realizar fermentações específicas que produzem esse composto. Ou seja, a positividade no teste VP pode auxiliar na distinção entre espécies. A fermentação de maltose e manose, é analisada em meios específicos com indicadores de pH, onde a produção de ácido pela fermentação leva à mudança de cor do meio. Desta maneira, a capacidade de fermentar maltose e manose varia entre as espécies de *Staphylococcus*, sendo útil para separação taxonômica (Devriese et al., 2005; Koneman et al., 2008).

É importante ressaltar, que os *Staphylococcus* coagulase-negativos apresentam características semelhantes ao gênero *Micrococcus* spp., com relação à morfologia, coloração de Gram, às provas da catalase, KOH (3%) e coagulase, e são necessárias provas adicionais para sua diferenciação. Bacitracina atua inibindo a síntese da parede celular bacteriana, sendo mais eficaz contra bactérias Gram-positivas. Em testes laboratoriais, sua aplicação em discos de difusão ajuda a distinguir *Staphylococcus* spp. de outros cocos Gram-positivos, como *Micrococcus* spp (Devriese et al., 2005; Koneman et al., 2008) .

Além das metodologias fenotípicas tradicionalmente empregadas na identificação bacteriana, destaca-se a espectrometria de massa por tempo de voo com ionização/dessorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF MS) como uma ferramenta eficaz para caracterização microbiológica em nível de espécie. Paralelamente, a análise do gene 16S (16S rRNA) desempenha papel fundamental na identificação molecular dos microrganismos pertencentes ao gênero *Staphylococcus* (Lange et al, 2011).

Nas últimas décadas, a espectrometria de massa por tempo de voo com ionização/dessorção assistida por matriz a laser (MALDI-TOF MS) tem se consolidado como uma metodologia na identificação microbiológica em nível de espécie, tanto em laboratórios de diagnóstico humano quanto veterinário. Este avanço se deve, sobretudo, à combinação entre custo-benefício, elevada acurácia e rapidez na obtenção dos resultados. Todavia, apesar de seus benefícios operacionais, seu alto custo de instalação ainda representa um impedimento à implementação em laboratórios com capacidade técnica e financeira limitada (Bannoehr; Guardabassi, 2012). A técnica MALDI-TOF MS destaca-se por requerer quantidade mínima de amostra, gerar quantidades insignificantes de resíduos químicos e biológicos e por apresentar tempo de execução substancialmente reduzido (Cherkaoui et al., 2010; Alatoon et al., 2011; Carbonnelle et al., 2011). A aquisição dos espectros é realizada na faixa de massas entre 2.000 e 20.000 m/z utilizando laser de nitrogênio de 337 nm sob modo linear, com controle pelo software FlexControl 3.3. Os espectros são então comparados aos existentes no banco de dados da aplicação MALDI Biotyper 2.0 (Bruker®), utilizando configuração padronizada para identificação bacteriana. Os escores gerados variaram entre 0 e 3, sendo considerada uma identificação confiável aquela com valor igual ou superior a 2 (Cherkaoui et al., 2010; Alatoon et al., 2011; Carbonnelle et al., 2011).

O emprego da PCR, seja em sua forma convencional ou associada a técnicas como PCR multiplex, tem demonstrado elevada eficiência diagnóstica, permitindo não apenas a identificação rápida de espécies, mas também o rastreamento genético de mecanismos de resistência (Sasaki et al., 2010).

A amplificação e identificação do gene 16S pela PCR tem como objetivo, confirmar a identidade genérica dos isolados presumidamente pertencentes ao gênero *Staphylococcus* entre outras cepas bacterianas, entretanto, a sua capacidade em distinguir com precisão entre espécies estafilocócicas é limitada (Lange et al, 2011). Diante desse desafio, torna-se necessário a associação da identificação do gene 16S com métodos complementares, resultando em uma

maior acurácia diagnóstica, favorecendo a caracterização microbiológica (Church et al., 2020). Em contrapartida, a detecção do gene *mecA* por PCR é amplamente adotada em protocolos de vigilância da resistência antimicrobiana, sendo considerada um marcador essencial na avaliação da resistência à meticilina e no monitoramento da disseminação de cepas resistentes em animais de produção, de companhia e na saúde humana (Sasaki et al., 2010; Lange et al., 2011).

A avaliação da suscetibilidade antimicrobiana por meio do antibiograma é fundamental na orientação terapêutica, destacando-se o uso de discos com penicilina e oxacilina para investigação da resistência a beta-lactâmicos. Apesar das limitações na especificidade desses métodos, sua aplicação integrada oferece dados relevantes na triagem e no monitoramento de infecções estafilocócicas em animais de produção e companhia. Para superar essas limitações, a técnica PCR também tem sido indicada para a detecção do gene *mecA* (Soares et al., 2008; Stegger et al., 2012).

Outras técnicas utilizadas para caracterização da resistência incluem, testes fenotípicos conhecidos como 'Zona D' e 'Zona edge'. De acordo com as diretrizes do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2024), isolados de estafilococos resistente à penicilina que produzem beta-lactamase podem apresentar halo de inibição compatível com sensibilidade, apesar de serem, na prática, resistentes. Esse fenômeno é atribuído à fácil indução das enzimas beta-lactamases em cepas estafilocócicas. Diante dessa limitação, é recomendado que isolados de *Staphylococcus* considerados sensíveis à penicilina (halo de inibição ≥ 29 mm) sejam submetidos à avaliação específica para produção de beta-lactamase, antes da definição do perfil de sensibilidade. Dessa forma, a análise da "Zona edge" consiste na avaliação da borda de inibição obtida por meio do ensaio de difusão em disco com penicilina (10 UI). Ou seja, halos com bordas difusas são reconhecidos pela ausência de beta-lactamase, enquanto bordas nítidas e bem delimitadas sugerem produção enzimática, sendo o isolado classificado como resistente à penicilina. Este método se destaca como uma abordagem fenotípica sensível e eficiente, particularmente aplicável na identificação de mecanismos de resistência em *Staphylococcus aureus* e demais espécies de estafilococos coagulase positiva (Pitkälä et al., 2007; Hombach et al., 2017).

Considerando que cepas resistentes de *Staphylococcus* spp. podem conter elementos genéticos adicionais que conferem resistência a múltiplas classes de antimicrobianos, torna-se necessária a avaliação da resistência a macrolídeos e lincosamidas. Nesse contexto, o teste da

“Zona D” é utilizado na avaliação fenotípica da resistência induzível à clindamicina. O ensaio consiste na aplicação de discos de eritromicina (15 µg) e clindamicina (2 µg) sobre a superfície da cultura bacteriana, posicionados em proximidade adequada. A resistência induzível é evidenciada pela presença de um estreitamento ou deformação do halo de inibição ao redor do disco de clindamicina próximo ao de eritromicina, formando a clássica “Zona D”. Tal abordagem, recomendada por protocolos como o CLSI VET evita falhas terapêuticas decorrentes do uso inadequado de lincosamidas em infecções causadas por *Staphylococcus pseudintermedius* e demais espécies relevantes na clínica veterinária (Moon et al., 2007).

Em resumo, a associação de métodos fenotípicos e moleculares, incluindo antibiograma, PCR para o gene *mecA* constitui uma abordagem abrangente a avaliação de resistência microbiana. Essas estratégias são essenciais para a implementação de medidas eficazes de controle e prevenção da disseminação de cepas resistentes (Stegger et al., 2012; Menandro et al., 2019).

2.4. Resistência Antimicrobiana em Cães: Impactos e Relações com a Saúde Única

2.4.1. *Staphylococcus* spp. meticilina resistentes na medicina veterinária: panorama associado ao uso de antimicrobianos

A resistência aos antibióticos não constitui um fenômeno moderno. Evidências em estudos antigos, demonstram que genes associados à resistência antimicrobiana já estavam presentes em microrganismos há milhões de anos, sugerindo que a mesma é um processo evolutivo natural (Sengupta et al., 2013). No entanto, o surgimento cada vez mais expressivo e veloz de cepas resistentes e multirresistentes tem se tornado uma preocupação global. O uso indiscriminado e inadequado de antimicrobianos tem sido apontado como um dos principais fatores responsáveis para esse cenário. Na medicina veterinária, diversos estudos demonstram a correlação direta entre a exposição prévia a antibióticos e o desenvolvimento de infecções por MRSP (Schwarz, S. & Chaslus-Dancla, É. 2001; Schwarz et al., 2017; Burke & Santoro., 2023).

A resistência à oxacilina, foi descrita inicialmente em 1961, em isolados de *Staphylococcus aureus* de infecções nosocomiais (Jevons et al., 1961), o primeiro relato um animal com cepas resistentes à meticilina/oxacilina ocorreu em 1972, oriundo do leite de vacas com mastite (Devriese et al., 1972). A partir de então, inúmeros outros relatos em diferentes

espécies de animais têm sido publicados (Baptiste et al., 2005; Vengust et al., 2006; Leonard & Markey, 2008; Weese & Van, D. 2010).

Dados mais recentes reforçam esse cenário preocupante, por exemplo nos Estados Unidos, entre 2010 e 2020, aproximadamente 56% dos isolados clínicos de *S. pseudintermedius* foram classificados como MRSP, sendo a maioria multirresistentes (Burke and Santoro., 2023). Na Alemanha, uma taxa de 7,5% de MRSP foi registrada em cães, com elevadas taxas de resistência associada à clindamicina e ampicilina (Feuer et al., 2024). No Brasil, um estudo realizado no Rio de Janeiro identificou que 24% dos isolados de *Staphylococcus pseudintermedius* eram MRSP, demonstrando uma alta prevalência de multirresistência, especialmente às classes penicilinas e trimetoprim-sulfametoxazol (Teixeira, I. et al., 2023).

Estudos também apontam que a exposição prévia a tratamentos antimicrobianos está fortemente associada à resistência. Uma pesquisa realizada na Holanda demonstrou maior frequência de resistência à clindamicina em cães previamente tratados com antibióticos, mesmo em isolados sensíveis à meticilina. Esses achados destacam a importância do uso racional e criterioso dos antimicrobianos na prática clínica veterinária (Van Damme et al., 2020). Hensel e colaboradores (2016), relataram em um estudo retrospectivo, que 98% dos cães diagnosticados com MRSP haviam realizado tratamento antimicrobiano prévio. Além disso, também foi observada uma correlação entre a presença cepas MRSP a um número maior de prescrições antibacterianas e maior diversidade de classes antimicrobianas utilizadas. Entre os fatores de risco identificados, destaca-se a administração prévia de antibióticos β -lactâmicos.

Silva et al. (2021) relatou que todos os 60 isolados MRSP avaliados de cães com foliculite bacteriana superficial exibiam resistência a no mínimo, outras três diferentes classes de antimicrobianos, caracterizando uma multirresistência. Os perfis de resistência mais comuns incluíram amoxicilina-ácido clavulânico, clindamicina, eritromicina e trimetoprima-sulfametoxazol.

Diante do atual panorama, a implementação de estratégias eficazes de controle e prevenção da disseminação de microrganismos resistentes, especialmente em ambientes hospitalares veterinários, revela-se essencial. Essas medidas contemplam protocolos rigorosos de higiene, monitoramento microbiológico contínuo e políticas de prescrição embasadas em testes de sensibilidade (Morris et al., 2017; Loeffler et al., 2025).

Nesse contexto, destaca-se que a resistência antimicrobiana em cães constitui um problema significativo e crescente, impulsionado pelo uso excessivo e inadequado de antibióticos. Tal cenário exige acompanhamento clínico criterioso, práticas de prescrição responsáveis e maior conscientização acerca do potencial zoonótico de transmissão de cepas resistentes. O enfrentamento desse desafio necessita esforços coordenados entre medicina veterinária e humana a fim de conter a propagação desses microrganismos e reduzir os riscos à saúde pública (Schwarz, S. & Chaslus-Dancla, É. 2001; Schwarz et al., 2013; Burke & Santoro., 2023).

2.4.2. Riscos Zoonóticos e o Conceito de Saúde Única

A crescente preocupação com a resistência antimicrobiana entre microrganismos de relevância clínica, como *Staphylococcus* spp., tem fortalecido o entendimento da saúde sob uma perspectiva associada entre humanos, animais e o ambiente. Esse conceito é amplamente reconhecido como “Saúde Única” (*One Health*), e destaca que a saúde humana e animal são inseparáveis, especialmente no contexto de doenças infecciosas e resistência a antimicrobianos (EFSA; ECDC, 2023).

No caso de *S. pseudintermedius*, tradicionalmente considerado um patógeno oportunista canino, evidências vêm demonstrando seu potencial zoonótico. Embora esse microrganismo seja comensal na pele e mucosas de cães, ele pode causar infecções em humanos, particularmente em indivíduos imunocomprometidos ou em profissionais com exposição frequente a animais de companhia. Apesar do risco de infecção em humanos saudáveis ser considerado baixo, há relatos de casos clínicos em humanos associados à transmissão direta de cães portadores, inclusive de forma assintomática. Desde o primeiro relato de infecção humana por *S. pseudintermedius* (Van, H. et al., 2006), novos casos clínicos em humanos foram atribuídos à transmissão direta de cepas de *S. pseudintermedius* resistentes à meticilina (MRSP), muitas vezes geneticamente semelhantes às encontradas em seus animais de convívio (Manian, 2003; Morris et al., 2010; Laarhoven et al., 2011; Walther et al., 2012; Santos et al., 2016; Kaspar et al., 2018).

Somayaji e colaboradores (2016) documentaram 24 casos de infecção humana por *S. pseudintermedius* no Canadá, dos quais três envolveram cepas multirresistentes. A existência de infecções humanas por MRSP em pacientes sem contato prévio com cães enfatiza a possibilidade de que seres humanos possam ser colonizados, além de sinalizar que a

transmissão zoonótica possa ser uma realidade embora esse o risco seja considerado reduzido quando comparado ao MRSA (Weese & Van D, 2010; Bannoehr; Guardabassi, 2012).

Essa capacidade de compartilhamento de cepas resistentes entre espécies é especialmente preocupante do ponto de vista da Saúde Pública. Estudos indicam que o gene *mecA*, responsável pela resistência à meticilina, está presente em isolados de origem veterinária e humana, sugerindo mecanismos de transferência horizontal de genes de resistência entre microrganismos de diferentes hospedeiros (Kadlec & Schwarz, 2012). A presença de elementos genéticos móveis, como o cassete cromossômico estafilocócico (SCCmec), favorece essa disseminação interespecífica, tornando o controle da resistência um desafio compartilhado entre a medicina humana e veterinária (Schwarz & Chaslus-Dancla, 2001; Schwarz et al., 2013; Palma et al., 2023).

A detecção de MRSP em ambientes hospitalares, clínicas veterinárias e domicílios também reforça a importância de medidas rigorosas de biossegurança e higiene, além do uso racional de antimicrobianos. Responsáveis, médicos-veterinários e profissionais da saúde devem ser orientados quanto ao risco potencial de transmissão zoonótica e à necessidade de práticas seguras no manejo de animais infectados (WHO, 2022).

Portanto, o conceito de Saúde Única fornece uma estrutura essencial para compreender e enfrentar os riscos zoonóticos associados à resistência antimicrobiana. A integração de esforços entre as áreas de vigilância epidemiológica, microbiologia clínica e educação em saúde é imprescindível para conter a disseminação de cepas resistentes e promover uma abordagem global e sustentável frente à ameaça da resistência bacteriana (Schwarz & Chaslus-Dancla, 2001; Schwarz et al., 2013; WHO, 2022; Palma et al., 2023; Loeffler, A. et al., 2025).

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1. Aspectos éticos

O estudo foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Instituto de veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA – UFRRJ), sob o protocolo ID 8404250122 (Anexo 1).

Participaram da pesquisa somente os animais cujos tutores aceitaram, de forma livre, consciente e espontânea os procedimentos propostos. Para isso, cada tutor assinou um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 2).

3.2. Local do experimento

As amostras utilizadas no estudo foram coletadas no serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (HV – UFRRJ), em Seropédica, Rio de Janeiro. Esse hospital atende diariamente animais de várias regiões do estado, oferecendo um amplo panorama das condições clínicas locais. As coletas ocorreram entre março de 2022 a março de 2024, foram coletadas amostras de 107 animais. Após essa etapa, o isolamento das bactérias e as análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Bacteriologia Veterinária (LabacVet) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

É relevante ressaltar que, para o presente estudo, foram selecionadas exclusivamente cepas pertencentes ao gênero *Staphylococcus*, reconhecidas como bactérias Gram-positivas. Dessa forma, todas as análises fenotípicas, bioquímicas e moleculares foram restritas a isolados que se enquadravam morfológicamente nas características típicas de cocos Gram-positivos. Assim, todas as etapas do protocolo diagnóstico consideraram exclusivamente microrganismos do gênero *Staphylococcus* isolados de cada amostra e descartando cepas de outros gêneros durante o processo de triagem inicial, e que a avaliação genotípica foi direcionada exclusivamente à detecção do gene *mecA*, amplamente reconhecido por conferir resistência à meticilina e a outros antibióticos β -lactâmicos em cepas do gênero *Staphylococcus*.

3.3. Seleção dos animais e critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo cães, de ambos os sexos, independente de raça ou idade, que apresentavam diagnóstico prévio de dermatite atópica canina (DAC) associado a piodermite. O diagnóstico da DAC foi realizado com base nos critérios propostos por Favrot (2009), sem a necessidade de exames específicos, somente considerando a história clínica, o exame físico e a exclusão de outras dermatopatias, como demodicose, dermatite alérgica à picada de ectoparasitas, escabiose e dermatofitose.

Para participar do estudo, os cães precisavam apresentar piodermite e atender pelo menos cinco dos oito critérios estabelecidos por Favrot (2010), garantindo uma amostra mais homogênea e representativa (Tabela 3).

Tabela 3. Critérios de Favrot aplicados para garantir a uniformidade das amostras em estudos com cães diagnosticados com dermatite atópica canina

Critérios Avaliados	Sim (✓)	Não (✓)
Aparecimento dos sinais antes dos 3 anos de vida		
Cão que vive maior parte do tempo dentro de casa		
Prurido responsivo a corticoterapia		
Prurido como primeiro sinal e somente após lesões		
Extremidades dos membros torácicos afetadas		
Pavilhões auriculares afetados		
Margens auriculares não afetadas		
Área dorso-lombar não afetada		

Fonte: Favrot, 2010.

Foram selecionados somente aqueles animais que apresentavam lesões, como pápulas, pústulas, crostas e colaretes epidérmicos. Para confirmar o diagnóstico de piodermite, foi realizado um exame citológico das lesões, com o objetivo de observar a presença de uma grande quantidade de cocos e/ou células inflamatórias com cocos fagocitados. O material para a citologia foi coletado com o auxílio de uma espátula, onde o material foi depositado em uma lâmina de microscopia e corado com panótico rápido. As lâminas foram então analisadas em um microscópio com objetiva de 1000x.

A coleta para análise bacteriológica foi realizada utilizando uma agulha hipodérmica estéril (25 x 0,7) e um *swab* estéril contendo meio Stuart. Sempre que possível, priorizou-se o material obtido de pústulas intactas; na ausência dessas, foram selecionadas áreas com colaretas, crostas ou pápulas, conforme descrito por Beco et al. (2013). Para preservar a integridade das amostras e garantir resultados confiáveis, estas foram enviadas ao laboratório imediatamente após a coleta.

Durante a coleta, cada animal teve uma ficha clínica individual preenchida, contendo informações detalhadas como o número de episódios de piodermite, a frequência de uso de antibióticos, os tipos de medicamentos utilizados e a resposta aos tratamentos prévios.

3.4. Isolamento e identificação fenotípica de *Staphylococcus* spp.

Os *swabs* contendo as amostras foram enviados ao Laboratório de Bacteriologia Veterinária (LabacVet), onde o material foi inoculado e cultivado em placas de Petri estéreis e submetidas à rotina de identificação que consistiu no isolamento primário realizado em meio ágar Columbia Base (Merck®), suplementado com 5% de sangue desfibrinado de carneiro, sendo as placas incubadas a 37 °C por um período de 24 horas. Durante a avaliação das culturas, foram observadas e registradas características fenotípicas das colônias, incluindo a produção ou não de pigmento, dimensões, morfologia geral, aspecto superficial, além da presença, tipo e intensidade de hemólise. A identificação presuntiva dos isolados foi realizada com base nas características das colônias conforme descrito por Koneman et al.

(2008)(Figura7).

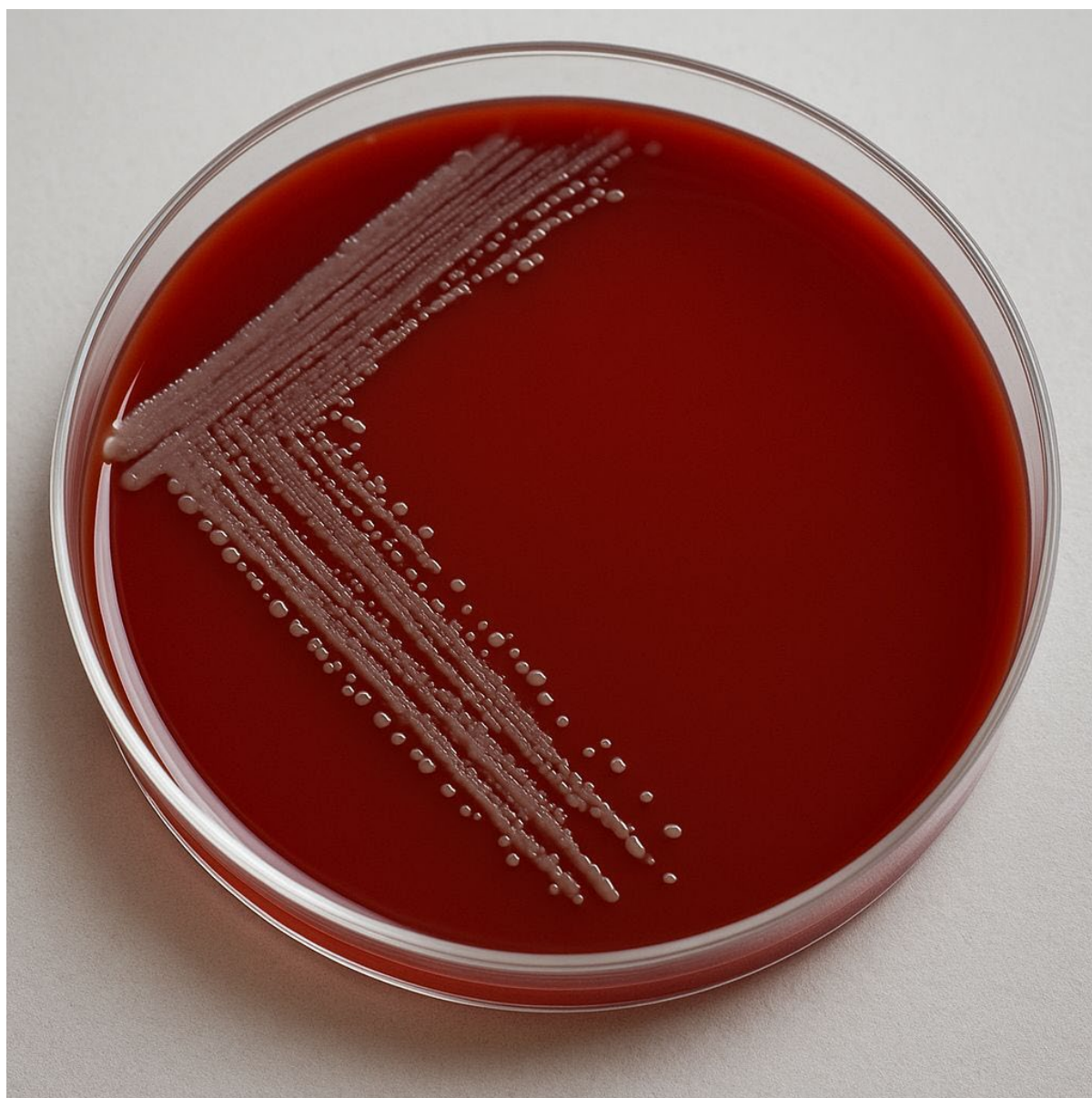


Figura 7: Imagem ilustrativa de isolamento bacteriano em ágar Columbia-base (Merck) suplementado com 5% de sangue desfibrilado de carneiro, evidenciando crescimento de colônias ao longo das estrias.

Fonte: www.br.freepik.com/fotos-premium/

Em seguida, foi realizada a coloração de Gram para confirmação das suas características morfotintoriais e a presença de cocos gram-positivos. Os cocos Gram-positivos foram então repicados em ágar seletivo Manitol ® Vermelho de Fenol (AMVF) (microMED, ISO FAR[®]) acrescido de 7,5% de NaCl e incubados 35 ± 2 C por 24 horas para obtenção de culturas de *Staphylococcus* spp. Após incubação, foi realizada observação das características das colônias

e fermentação, ou não, do manitol (Koneman et al., 2008). As colônias confirmadas em *Staphylococcus* spp. foram submetidas a testes de rotina, incluindo a produção de catalase e coagulase. Para os isolados coagulase-negativos, foi testada a resistência à bacitracina (0,04 UI). Já os isolados coagulase-positivos foram avaliados quanto à fermentação de maltose e manitol e suscetibilidade à polimixina B, com o objetivo de diferenciar preliminarmente as cepas de *S. aureus* e *S. pseudintermedius*, seguindo a metodologia descrita por Markey et al. (2013).

3.4.1. Prova de hidróxido de potássio (KOH) 3%

Para o teste com KOH a 3%, uma pequena porção da colônia bacteriana foi transferida para uma lâmina de microscopia, seguida pela adição de uma gota de solução de KOH a 3% sobre a amostra. A formação de um gel viscoso foi interpretada como resultado positivo, conforme descrito por Koneman et al. (2008).

3.4.2. Teste da catalase

Para o teste de catalase, uma colônia bacteriana isolada foi colocada em uma lâmina de microscopia, e duas gotas de peróxido de hidrogênio foram adicionadas sobre ela. A produção de bolhas evidenciou um resultado positivo, indicando a presença da enzima catalase, de acordo com Koneman et al. (2008) (Figura 8).

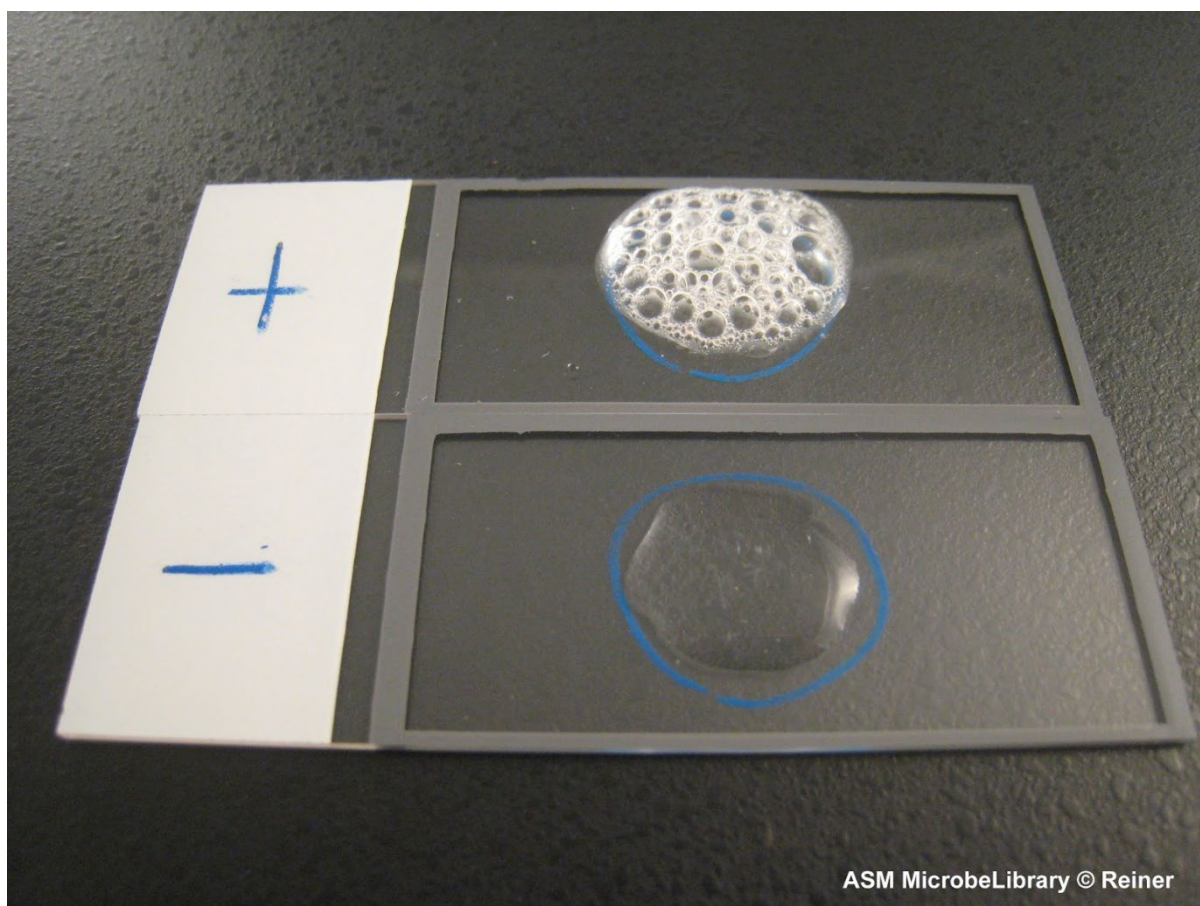


Figura 8: Teste da catalase em lâmina, evidenciando formação de bolhas decorrente da decomposição do peróxido de hidrogênio.

Fonte: [Catalase Test – Laboratoryinfo.com](http://Laboratoryinfo.com)

3.4.3. Prova de coloração de Gram

A prova de coloração de Gram tem início com a fixação dos isolados bacterianos em uma lâmina de vidro. Em seguida, as amostras foram submetidas à coloração com cristal violeta, seguida pela aplicação de uma solução de lugol, que atua como mordente. Posteriormente, realizou-se a etapa de descoloração com álcool, removendo o corante apenas das células Gram-negativas. Por fim, aplicou-se o contracorante safranina, que conferiu coloração rosa ou vermelha às células Gram-negativas, enquanto as Gram-positivas permaneceram com a coloração roxa.

3.4.4. Teste da coagulase

Para realização do teste de coagulase, uma colônia bacteriana isolada foi cultivada em 1 ml de caldo BHI (BHI-KASVI®) e incubada a 35°C por 24 horas para promover o

crescimento. Em seguida, 200 µl dessa cultura foram misturados com 200 µl de plasma de coelho liofilizado (Laborclin®), e a mistura foi incubada a 35°C por 6 horas. A formação de um coágulo confirmou um resultado positivo, conforme descrito por Koneman et al. (2008) (Figura 9).



Figura 9: Teste da coagulase em tubo. Formação visível de coágulo no interior do tubo de ensaio após incubação do plasma com a amostra bacteriana, indicando resultado positivo para produção da enzima coagulase. Esse teste é utilizado para diferenciar estafilococos coagulase-positivos, como *Staphylococcus pseudintermedius* e *S. aureus*, de espécies coagulase-negativas.

3.4.5. Teste de Voges-Proskauer (VP)

Para o teste de Voges-Proskauer (VP), as bactérias foram inoculadas em 1 ml de caldo MR-VP (Vetec Química Fina®) e incubadas a 35°C por 24 horas. Após a incubação, foram adicionados 200 µl de α -naftol a 5% e 300 µl de KOH a 40%. A reação positiva foi evidenciada pelo desenvolvimento de uma coloração rosa, indicando a utilização de glicose e a produção de acetoina como metabólitos finais (Figura 10).

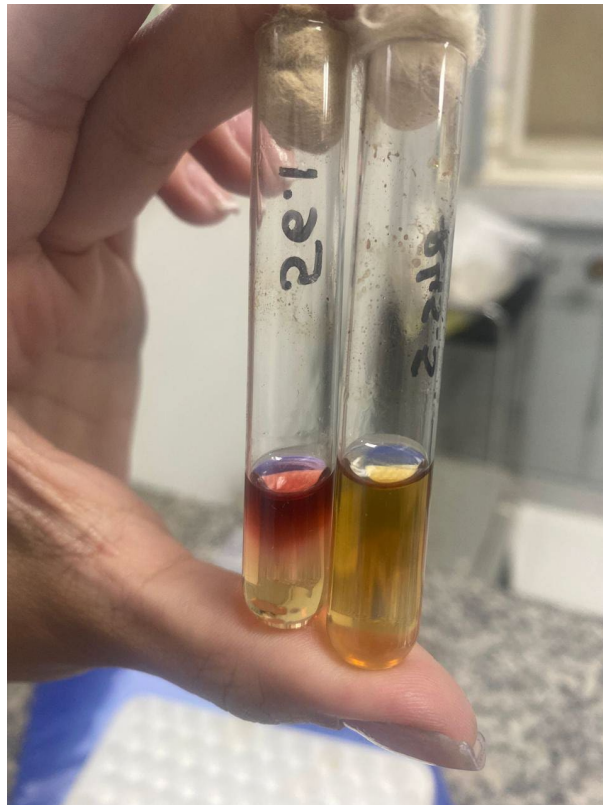


Figura 10: Teste de Voges-Proskauer. Resultado positivo evidenciado pela coloração avermelhada no tubo de ensaio, indicando a produção de acetina (acetilmetilcarbinol) como produto final do metabolismo da glicose pela via butilenoglicólica. Este teste bioquímico auxilia na identificação bacteriana ao diferenciar microrganismos com base em seus perfis metabólicos.

3.4.6. Teste de Fermentação de Manose e Maltose

Para a realização do teste de manose e maltose é colocado uma colônia bacteriana em um caldo base contendo o indicador de pH vermelho de fenol e açúcar a 1%. Após incubação a 35°C por 24 horas, a mudança na coloração do meio para amarelo indicou a produção de ácido e a redução do pH, confirmando a fermentação dos açúcares (Figura 11).



Figura 11: Fermentação dos açúcares no teste de maltose e manose. Resultado positivo indicado pela mudança de coloração do meio para amarelo, evidenciando a acidificação decorrente da fermentação. Este teste é utilizado na identificação de microrganismos com base em sua capacidade de metabolizar diferentes carboidratos.

Na tabela 4, os padrões esperados para identificação fenotípica do *Staphylococcus pseudintermedius* baseados em Devriese et al. (2005) e Markey et al. (2013).

Tabela 4. Resultados esperados nas provas bioquímicas para identificação fenotípica de *Staphylococcus pseudintermedius*.

Prova	Resultado
Coagulase	+ (Positivo)
Bacitracina	R (Resistente)
Polimixina	S (Sensível)
Voges-Proskauer (VP)	- (Negativo)
Manose	+ (Positivo)
Maltose	+/- (Variável)
Identificação	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>

3.4.7. Prova de suscetibilidade à bacitracina e à Polimixina B

A determinação da sensibilidade à bacitracina e à polimixina B foi realizada utilizando o método de difusão em disco. Para isso, uma amostra da colônia bacteriana foi suspensa em 1 ml de água ultrapura estéril até atingir uma turbidez correspondente ao padrão 0,5 da escala de McFarland. A suspensão foi, então, espalhada uniformemente em uma placa de Petri contendo ágar Müller Hinton (AMH – KASVI®) com o auxílio de um *swab* estéril. Discos impregnados com bacitracina (0,04 UI) e polimixina B (300 µg) (Sensifar, Cefar®) foram posicionados sobre a superfície da placa, que foi incubada a 35°C por 24 horas. Após a incubação, as zonas de inibição ao redor dos discos foram medidas. Ressalta-se que o gênero *Staphylococcus spp.* apresenta resistência natural à bacitracina, enquanto a espécie *S. pseudintermedius* é sensível à polimixina B, exibindo zonas de inibição iguais ou maiores que 10 mm (Markey et al., 2013).

3.5. Técnica de difusão em disco (antibiograma) e identificação fenotípica de *Staphylococcus spp.* resistentes à meticilina

Os isolados bacterianos foram submetidos ao teste de sensibilidade antimicrobiana utilizando a técnica de difusão em disco. Os antimicrobianos selecionados para o teste incluíram: penicilina, amoxicilina com clavulanato, oxacilina, cefalexina, cefoxitina, cefovecina, enrofloxacina, marbofloxacino, norfloxacino, gentamicina, clindamicina, eritromicina, doxiciclina, rifampicina e sulfametoxazol com trimetoprima.

O disco de oxacilina foi utilizado para avaliar a resistência fenotípica de *Staphylococcus pseudintermedius* aos beta-lactâmicos, enquanto o disco de cefoxetina foi empregado para verificar a resistência de *Staphylococcus aureus* aos mesmos.

Para o procedimento, os isolados foram suspensos em solução salina até atingirem a turbidez correspondente a 0,5 na escala de McFarland. Posteriormente, as suspensões foram distribuídas uniformemente em placas contendo ágar Müller-Hinton (AMH-Himedia®) com o auxílio de um *swab* estéril. Os discos impregnados com os antimicrobianos foram posicionados na superfície das placas de maneira a evitar sobreposição dos halos de inibição. As placas foram incubadas a 35°C por 24 horas, e em seguida, os diâmetros dos halos de inibição (em milímetros) foram medidos para análise de sensibilidade (Figura 9a e 9b) (CLSI VET, 2024).

Os halos de inibição obtidos por meio do teste de difusão em disco foram mensurados e interpretados segundo os parâmetros estabelecidos conforme o BrCAST e CLSI. As leituras foram realizadas com instrumento milimetrado sob condições controladas de temperatura e tempo de incubação, conforme as diretrizes padronizadas. Foram adotados os pontos de corte específicos recomendados para cada antimicrobiano testado frente às cepas do gênero *Staphylococcus*, considerando as particularidades pertinentes às espécies envolvidas.

A interpretação dos resultados levou em consideração possíveis variações no diâmetro dos halos entre diferentes espécies de *Staphylococcus*, como *S. aureus*, *S. pseudintermedius* e os ECN. Dessa forma, a padronização segundo BrCAST e CLSI possibilitou a classificação dos isolados em categorias de sensibilidade (sensível, intermediário ou resistente).

3.6. Análise proteômica por Tempo de Voo de Ionização/Desorção por Laser Assistida por Matriz (MALDI-TOF)

A análise proteômica foi realizada através pela técnica do Tempo de Voo de Ionização/Desorção por Laser Assistida por Matriz (MALDI-TOF MS) no Laboratório de Investigação em Microbiologia Médica no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, localizado na Universidade Federal do Rio de Janeiro. Para o diagnóstico proteômico, os isolados bacterianos foram inicialmente cultivados em caldo BHI a 37 °C por 24 horas. Após o período de incubação, as culturas foram transferidas para uma microplaca (96 MSP, Bruker - Billerica®, EUA), onde foi adicionada uma solução de lise composta por ácido fórmico a 70% (Sigma-Aldrich®), em quantidade suficiente para cobrir cada amostra.

Posteriormente, 1 µL de uma solução de matriz, contendo ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico diluído em acetonitrila a 50% e ácido trifluoracético a 2,5% (Sigma-Aldrich®), foi depositado sobre o caldo bacteriano, o cobrindo completamente. As amostras então foram processadas em um espectrômetro de massa (MALDI-TOF LT Microflex Bruker, Bruker®), equipado com laser de nitrogênio de 337 nm, operando no modo linear, com controle realizado pelo software FlexControl 3.3 (Bruker®).

Os espectros de massa das amostras foram gerados na faixa de 2.000 a 20.000 m/s e analisados pelo software MALDI Biotyper 2.0 (Bruker®), configurado para identificação bacteriana. O programa compara os espectros das amostras com os já armazenados em seu banco de dados. Os resultados foram expressos em uma escala de zero a três, sendo considerados aceitáveis valores iguais ou superiores a dois para a identificação confiável.

3.7. Identificação genotípica dos *Staphylococcus* spp. isolados portadores do gene 16srRNA e mecA

3.7.1. Extração das amostras

A identificação genotípica de *Staphylococcus* sp. e do gene mecA foi realizada através de uma técnica de extração bacteriana padronizada, conforme descrito por Tito et al. (2015), com algumas modificações. Inicialmente, os isolados bacterianos foram inoculados em tubos Falcon de 15 mL contendo 5 mL de caldo BHI e incubados por 12 horas em temperatura ambiente, com agitação a 15 rpm. Após esse período, os tubos foram centrifugados a 8.000 x g por 5 minutos. O sobrenadante foi descartado, e as células foram ressuspensas em 600 µL de solução de extração (Tris-HCl 200 mM, pH 8,0; EDTA 25 mM; SDS 1%; NaCl 25 mM). A suspensão foi homogenizada em vórtex e incubada a 65°C por 30 minutos.

Após a incubação, os tubos foram resfriados à temperatura ambiente e receberam 600 µL de clorofórmio:álcool isoamílico (24:1). Em seguida a homogenização por 2 minutos, os tubos foram centrifugados a 8.000 x g por 10 minutos para promover a separação das fases. A fase superior (aproximadamente 400 µL) foi transferida para um microtubo, onde foram adicionados 2 volumes de etanol 100% gelado. A mistura foi incubada a -20°C por 2 horas, permitindo a precipitação do DNA.

A seguir, os microtubos foram centrifugados a 8.000 x g por 30 minutos, o sobrenadante foi descartado e o sedimento foi lavado com 500 µL de etanol 70%. É necessário deixar este sedimento secar em temperatura ambiente em uma capela de exaustão para posteriormente, ser ressuspendido em 30 µL de água ultrapura. A quantificação do DNA foi realizada em um espectrofotômetro Nanodrop. Amostras que apresentaram concentrações muito elevadas foram diluídas em água ultrapura na proporção 1:10. E por final, os tubos que continham DNA extraído foram armazenados a -20°C até a realização da reação em cadeia de polimerase (PCR).

3.7.2. Identificação genotípica dos *Staphylococcus* sp. isolados - 16srRNA (756 pb)

Para a identificação genotípica das cepas de *Staphylococcus* sp. foi realizado a técnica conforme descrito por Zhang et al., (2004), ou seja, direcionada à identificação do gene 16S (756 pb). As reações de amplificação foram realizadas utilizando os reagentes descritos: tampão 1X (10 mM Tris-HCl, pH 9,0; 50 mM KCl; 0,1% Triton X-100; 1,25 mM de MgCl₂ - Fermentas®), 0,3 µM de cada iniciador, 0,2 mM de dNTP (Thermo Scientific®), 1 U de Taq

polimerase (Fermentas®), água ultrapura para completar um volume total de reação (20 µL) e 2µl do DNA total extraído e quantificado conforme item 4.3.1. Em seguida as amostras foram submetidas a um termociclador para os processos de desnaturação, amplificação e extensão do DNA, de acordo com o ciclo especificado na Tabela 5.

Tabela 5. Oligoiniciadores e ciclos empregados nos ensaios de amplificação dos genes de identificação de *Staphylococcus* spp.

Gene (fragmento)	Espécies	Oligoiniciadores (5'-3')	Ciclos*
<i>16S rRNA</i> (756 pb)	<i>Staphylococcus</i> spp.	AAC TCT GTT ATT AGG GAA GAA CA CCA CCT TCC TCC GGT TTG TCA CC	1

*1.94°C 5min (94°C 1min, 55°C 1min, 72°C 1min) x30 e 72°C 10min; 2.94°C 4min (94°C 1min, 60°C 1 min, 72°C 1 min) x 30 e 72°C 5 min; 3.94°C 5 min (94°C 45s, 68 °C 45 s e 72°C 90s) x 30 e 72°C 10 min; 4.95°C 2min (95°C 30 s, 56°C 35 s, 72°C 60 s) x 30 e 72°C 2 min.

Concluídas as reações, as amostras foram submetidas à eletroforese em gel agarose a 1,5% (80 V por 60 min.) e revelados com corante SYBR Green (Invitrogen®) diluído (1:100), possibilitando a visualização pelo sistema de captura de imagem L-PIX EX (Loccus Biotecnologia®).

3.7.3. Identificação genotípica do gene de resistência *mecA*

A identificação genotípica das cepas isoladas de *Staphylococcus* resistentes à meticilina (MRSP) foi procedida por meio da detecção do gene *mecA*, conforme metodologia descrita por Murakami et al. (1991) e Melo et al. (2013) e as reações de amplificação, foram preparadas utilizando reagentes especificados na Tabela 6. Após a mistura dos reagentes, as amostras foram submetidas a um termociclador para os processos de desnaturação, amplificação e extensão do DNA, conforme os parâmetros descritos na Tabela 7.

Tabela 6. Reagentes utilizados para a preparação da reação de PCR.

Reagente	Quantidade por amostra
H ₂ O	15,3 µL
Tampão	2,5 µL
dNTP	1,5 µL
MgCl ₂	1,5 µL
Primer 1	1,0 µL
Primer 2	1,0 µL
Taq	0,2 µL
DNA	2,0 µL

Tabela 7. Sequência de iniciadores e condições de ciclos utilizados no termociclador para a detecção do gene *mecA*

Gene (fragmento)	Oligoiniciadores (5' – 3')	Ciclos*
mecA(533pb)	AAA ATC GAT GGT AAA GGT TGG C AGT TCT GCA GTA CCG GAT TTG C	1

* 95°C 2 min (95°C 30s, 56°C 35s e 72°C 1 min) x 30 e 72°C 2 min

Finalizadas as reações, as amostras, também chamadas de produtos de PCR, foram analisadas por eletroforese em gel de agarose a 0,8%, utilizando o corante SYBR Green I (Invitrogen®) para revelação. A visualização dos resultados foi realizada pelo sistema de captura de imagem L-PIX EX (Loccus Biotecnologia®).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Perfil dos animais selecionados

Foram incluídos no estudo 107 cães com diagnóstico de piodermite superficial atendidos no setor de Dermatologia Veterinária do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, entre março de 2022 e março de 2024. Esses animais foram previamente diagnosticados com Dermatite Atópica Canina (DAC) por meio de anamnese detalhada, exame físico, exames dermatológicos e exclusão de outras dermatopatias.

Os critérios clínicos propostos por Favrot et al., (2010), foram utilizados como ferramenta complementar no processo de seleção dos animais deste estudo, atuando tanto como suporte diagnóstico para DAC, quanto como referência metodológica para o delineamento científico. Esses parâmetros se mostram úteis na identificação de pacientes dermatopatas com maior acurácia, contribuindo para a padronização da amostra.

Diversos estudos respaldam a utilização dos critérios de Favrot na investigação clínica e microbiológica da DAC. Pierezan et al. (2016), por exemplo, utilizaram os critérios na seleção de cães atópicos com o intuito de avaliar o microbioma cutâneo em resposta à indução por alérgenos, destacando a importância dessa abordagem na compreensão da disbiose associada à doença. Da mesma forma, Older et al. (2020) aplicaram os critérios para caracterizar o microbioma bacteriano em cães acometidos por diferentes formas de piodermite superficial.

Marsella et al. (2020), por sua vez, aplicaram os critérios de Favrot em um estudo clínico randomizado na comparação de diferentes protocolos terapêuticos para DAC, evidenciando sua utilidade em ensaios clínicos controlados. Por fim, Ribeiro et al. (2020) realizaram uma análise da frequência desses critérios em cães diagnosticados com DAC em ambiente clínico, demonstrando sua importância como instrumento auxiliar na rotina clínica dermatológica veterinária.

Entre os cães estudados, 75/107 (62,5%) eram fêmeas e 32/107 (37,5%) machos, com idades variando de 1 a 15 anos e média de 7 anos. Cães de raça definida representaram 74,7% (80/107), enquanto 25,3% (27/107) eram sem raça definida. Entre os cães de raça definida, as raças mais prevalentes foram Beagle, Shih Tzu, Buldogue Francês, Poodle e Yorkshire.

Apenas 9/107 (8,4%) cães apresentaram piodermite pela primeira vez, sendo, em geral, animais mais jovens. A maioria 98/107 (91,6%) possuía histórico de piodermite recorrentes. As manifestações clínicas observadas incluíram colaretes epidérmicos em 80,2% (85/107), pápulas em 64,2% (60/107), pústulas em 56,7% (53/107), eritema em 66,3% (62/107), alopecia/hipotricose em 29,9% (28/107), crostas em 38,5% (32/107) e descamação em 44,9% (42/107).

A distribuição etária da DAC tem sido amplamente investigada, com diversos estudos apontando maior prevalência em cães jovens (Hensel et al., 2015; Nutall et al., 2019; Marsella, R. 2021; Eisenschenk et al., 2023). A maioria dos casos clínicos é observada em animais com idade inferior a três anos, sendo que o intervalo entre quatro meses e três anos representa o período de maior incidência da doença. Em determinadas publicações, até 60% dos cães acometidos manifestaram sinais clínicos ainda no primeiro ano de vida, o que reforça o caráter precoce da DAC em populações caninas predispostas. A ocorrência da DAC em cães com idade superior a cinco anos também é relatada, embora com menor frequência. Essa manifestação tardia pode estar associada a casos subdiagnosticados ou manejados de forma inadequada (Hensel et al., 2015; Nutall et al., 2019; Marsella, R. 2021; Santoro et al., 2023).

Correlacionando com os achados do presente estudo, observa-se que apenas 9 dos 107 cães avaliados (8,4%) apresentavam piodermite pela primeira vez, sendo estes os indivíduos mais jovens. Por outro lado, os demais 98 cães (91,6%) apresentavam quadros recorrentes de piodermite, o que sugere fortemente que esses animais eram portadores de DAC não diagnosticada ou mal-conduzida clinicamente. Considerando que a piodermite superficial é uma condição secundária, especialmente a DAC, nossa elevada prevalência de casos recorrentes justifica a idade média mais avançada observada na população estudada (Hensel et al., 2015; Banovic, 2018; Loeffler, A. et al., 2025). Ou seja, nossos dados validam de que a DAC pode permanecer subdiagnosticada por períodos prolongados, sendo erroneamente interpretada como infecção cutânea primária. Reforçando novamente a importância da aplicação criteriosa dos critérios clínicos de Favrot e da realização de uma abordagem diagnóstica abrangente (Favrot et al., 2010).

No que se refere à distribuição por sexo, os achados presentes na literatura científica permanecem divergentes (Hensel et al., 2015; Nutall et al., 2019; Marsella, R. 2021; Santoro, D et al., 2023). Alguns autores, destacam um maior acometimento em machos, em contrapartida, outros demonstram uma maior prevalência em fêmeas (Hensel et al., 2015; Nutall

et al., 2019; Marsella, R. 2021; Favrot et al., 2020; Santoro, D et al., 2023). No Brasil, um levantamento conduzido por Ribeiro et al. (2020) identificou prevalência de 25,65% de dermatite atópica canina (DAC) entre os cães avaliados, dos quais 62,4% eram fêmeas. Este resultado sugere uma possível predominância feminina, achado que se assemelha ao observado na presente pesquisa, onde 75 dos 107 cães acometidos (62,5%) eram do sexo feminino.

Entretanto, cabe destacar, que estudos demográficos conduzidos em diferentes regiões brasileiras demonstram uma prevalência expressiva de fêmeas na população canina. Por exemplo, em Mineiros/GO, um censo domiciliar apontou que 43% dos cães eram fêmeas (De Paula et al., 2024), em Jataí/GO, dados semelhantes indicaram que 62,9% dos cães domiciliados e semi-domiciliados eram fêmeas (De Assis et al., 2020) e Lavras/MG, levantamento epidemiológico em um abrigo de cães revelou que 62,3% dos indivíduos eram fêmeas (Colocho et al., 2023). Tais achados demográficos são relevantes para a análise da distribuição da DAC entre os sexos, pois a maior proporção de fêmeas no território brasileiro pode representar um viés na estimativa de prevalência sexual na doença, caso não sejam considerados ajustes estatísticos necessários. Considerando que nesta pesquisa tenha sido identificado um percentual superior de fêmeas acometidas por DAC (62,5%), tal achado não pode ser interpretado de forma isolada como indicativo de predisposição sexual verdadeira, uma vez que reflete, antes, uma prevalência populacional. Portanto, ao investigar possíveis predisposições sexual, torna-se essencial levar em conta a composição demográfica da população regional, a fim de evitar interpretações equivocadas.

A predisposição racial é um essencial componente epidemiológico, ou seja, diversas raças, como Shih Tzu, Yorkshire Terrier, Beagle, Bulldog Francês, Pug, Labrador Retriever, Golden Retriever, Poodle, Cocker Spaniel, West Highland White Terrier e Dachshund são constantemente mencionadas na literatura científica como populações de risco aumentado para o desenvolvimento da DAC (Hensel et al., 2015; Nutall et al., 2019; Marsella, R. 2021; Favrot et al., 2020; Santoro, D et al., 2023). Sob esse ponto de vista, é relevante destacar que o padrão racial dos animais incluídos no presente estudo concorda com a literatura publicada. No entanto, cabe ressaltar que esse padrão de predisposição pode apresentar variações entre países e regiões, em função de fatores populacionais.

Outro ponto que merece destaque na presente pesquisa refere-se ao contraste entre os dados populacionais nacionais e os achados deste estudo. Conforme a Associação Brasileira da indústria de produtos para animais de estimação (Abinpet) e o Instituto Pet Brasil, a população

canina brasileira é composta, em sua maioria, por animais sem raça definida. No entanto, os dados obtidos neste estudo indicam uma maior prevalência de casos de DAC entre cães de raça definida. Sob essa perspectiva, e em concordância com a literatura, é possível associar esse achado à relevância dos fatores genéticos e raciais, como variáveis determinantes para a expressão clínica da doença. Ou seja, ainda que os cães sem raça definida predominem no território nacional, a maior susceptibilidade apresentada por determinadas raças evidencia que a predisposição genética exerce papel fundamental no desenvolvimento da DAC.

As manifestações clínicas observadas nos cães avaliados nesse estudo estão em conformidade com a literatura (Hensel et al., 2015; Nutall et al., 2019; Marsella, R. 2021; Favrot et al., 2020; Santoro, D et al., 2023). Em suma, os dados obtidos nesta pesquisa demonstram padrão clínico compatível com os achados clássicos da DAC, evidenciando a importância de uma abordagem diagnóstica cuidadosa, capaz de distinguir as manifestações primárias da doença das complicações secundárias decorrentes de infecções oportunistas e do comportamento autotraumático.

A prevalência relativa das lesões corrobora o que é amplamente descrito na literatura, ou seja, a piodermite superficial estafilocócica secundária DAC manifesta-se clinicamente por alterações dermatológicas predominantes, como eritema associado a descamação, erupções papulopustulosas, colaretos epidérmicos e crostas com descritos em estudos de Marsella, R. et al. (2021) e Santoro et al. (2023). Em contraponto, a alopecia/hipotricose observada em uma prevalência inferior às demais lesões, reflete a natureza variável, frequentemente dependente da cronicidade da inflamação cutânea, da intensidade do auto-trauma e da resposta individual de cada animal ao prurido (Miller et al., 2013).

Em relação ao uso prévio de antimicrobianos, no presente estudo, 91,5% (98/107) dos cães utilizaram anteriormente antibióticos. Contudo, os tutores frequentemente não souberam informar a duração ou o período do tratamento, e 55/107 (58,8%) desconheciam o motivo do uso da medicação. A cefalexina foi o antimicrobiano mais utilizado, seguida pela amoxicilina associada ao ácido clavulânico (Figura 12).

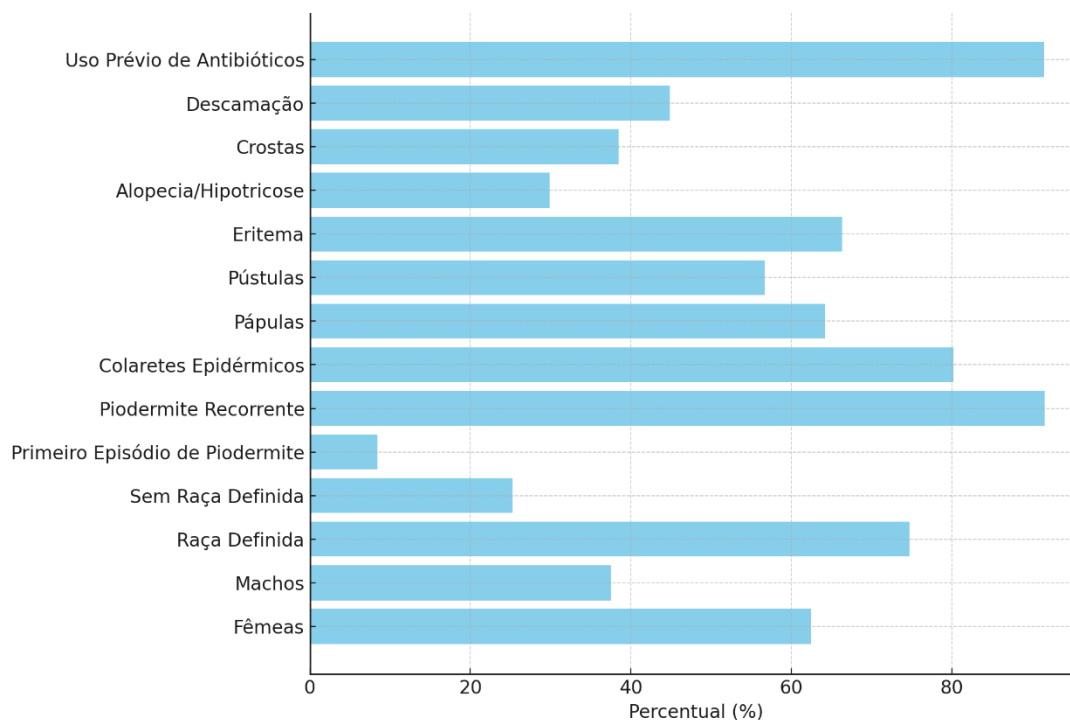


Figura 12: Figura representativa das características clínicas, demográficas e o uso prévio de antibióticos em cães estudados. Os dados mostram a distribuição percentual das características amostral.

Os resultados obtidos no presente estudo evidenciam uma alta prevalência do uso da antibioticoterapia sistêmica no tratamento de cães acometidos por piodermite. Tal achado constitui uma das principais preocupações abordadas neste estudo, uma vez que essa conduta terapêutica não é recomendada para piodermes de superfície e superficiais, desde as diretrizes clínicas publicadas por Hensel et al. (2015), onde ficou estabelecido que a mesma não deveria integrar o tratamento de primeira linha para essas apresentações clínicas. Apesar disso, observa-se que sua utilização permanece corriqueiramente realizada na rotina prática no Brasil, refletindo uma desconexão entre a evidência científica e a conduta clínica adotada em parte dos serviços veterinários.

Recentemente um novo *guideline* internacional, foi publicado pela *International Society for Companion Animal Infectious Diseases (ISCAID)* (Loeffler, A. et al., 2025), que reforça novamente a orientação de que a antibioticoterapia sistêmica deve ser evitada nas piodermes de superfície e superficiais, salvo em situações específicas e justificadas, como ausência de resposta após quinze dias de tratamento tópico exclusivo, presença comprovada de resistência bacteriana, comportamento irascível ou não cooperativo do paciente, ou quando limitações inviabilizam o manejo tópico. Deste modo, os dados gerados pelo presente estudo

corroboram a urgente necessidade de disseminação desses conhecimentos atualizados aos médicos veterinários brasileiros. A terapia tópica, quando corretamente instituída e conduzida, é suficiente na maioria dos casos para o controle eficaz das infecções secundárias, sendo fundamental que o plano terapêutico associe a identificação e correção das causas primárias subjacentes à dermatopatia (Hensel et al.; 2015; Santoro et al., 2023; Loeffler, A. et al., 2025).

Outro aspecto relevante evidenciado pelo novo *guideline* diz respeito da reclassificação dos antimicrobianos sistêmicos em quatro grupos distintos, permitindo uma abordagem mais criteriosa e racional nos casos em que sua utilização for necessária. O primeiro grupo engloba os medicamentos que podem ser utilizados de forma empírica, desde que o risco de resistência seja baixo. Este grupo inclui drogas como clindamicina, cefalexina, cefadroxila e amoxicilina-clavulanato. O segundo grupo é reservado a antibióticos que só devem ser utilizados mediante a realização prévia de cultura bacteriana e teste de suscetibilidade, quando os fármacos de primeira escolha não apresentarem eficácia. O terceiro grupo constitui pelos antimicrobianos classificados como “reservados”, cuja utilização deve estar restrita ao manejo de infecções causadas por cepas multirresistentes, em especial o *Staphylococcus pseudintermedius* resistente à meticilina (MRSP), quando não houver alternativas seguras nos grupos anteriores. Por fim, o quarto grupo refere-se aos medicamentos considerados “fortemente desaconselhados”, os quais não possuem licenciamento para uso veterinário e são de importância crítica na medicina humana. Vale ressaltar, que o uso desses fármacos em animais está proibido em toda a União Europeia desde 2023 (Loeffler, A. et al., 2025).

Um aspecto relevante a ser destacado é que embora o presente estudo tenha demonstrado uma frequência elevada de prescrição sistêmica de antibióticos, observa-se que as medicações escolhidas pertenciam principalmente ao grupo de medicamentos permitidos para uso empírico, conforme orientado pelo *guideline* atual. Tal observação, embora preocupante, indica algum grau de alinhamento com as diretrizes internacionais, ainda que parcial. Entretanto cabe enfatizar, que mesmo para os medicamentos do grupo de primeira escolha, recomenda-se sempre que possível que sua utilização seja mediada por exames microbiológicos específicos (cultura e antibiograma), com o propósito de otimizar a escolha terapêutica, evitar falhas no tratamento e a disseminação da resistência bacteriana (Loeffler, A. et al., 2025).

Portanto, os achados desta pesquisa reforçam a necessidade da realização de uma medicina baseada em evidências, que contemple uso responsável dos antimicrobianos, reservando a abordagem sistêmica apenas para casos devidamente justificados.

4.2. Identificação das amostras coletadas

No total, foram obtidas 107 amostras, resultando em 130 isolados bacterianos no isolamento primário. Destas, oito amostras não apresentaram crescimento em ágar manitol vermelho de fenol (AMVF - Himedia®). Entre os 122 isolados, 109/122 (89,3%) foram identificados como pertencentes ao gênero *Staphylococcus* spp. e 13/122 (10,7%) como bactérias de outros gêneros conforme técnica de coloração de Gram e identificação fenotípica.

Das 109 amostras identificadas como *Staphylococcus* spp., 79/109 (72,5%) foram classificadas como coagulase positiva e 30/109 (27,5%) como coagulase negativa. Entre os 79 isolados coagulase positiva, 69/79 (87,3%) foram identificados como pertencentes ao grupo SIG (*Staphylococcus intermedius* group), enquanto 10/79 (12,7%) foram classificados como *Staphylococcus* não pertencentes ao grupo SIG (Figura 13).

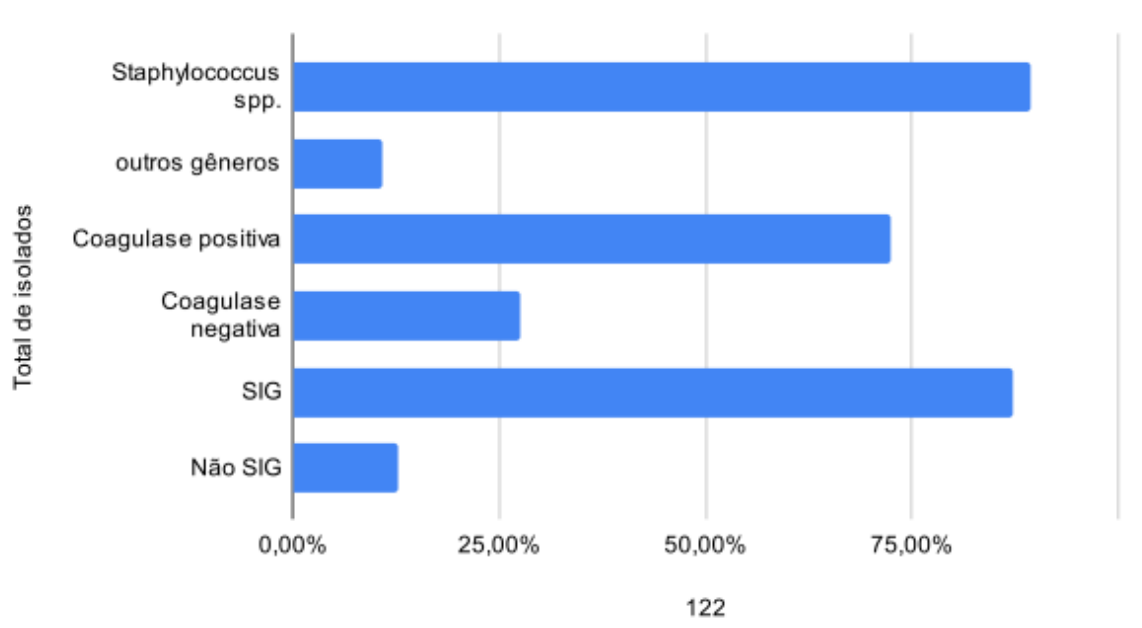


Figura 13: Figura representativa das 107 amostras analisadas e os 122 isolados que cresceram, sendo 89,3% identificados como *Staphylococcus* spp. e 10,7% como outros gêneros. Entre os *Staphylococcus* spp., 72,5% eram coagulase positiva, dos quais 87,3% pertenciam ao grupo SIG e 12,7% a outros *Staphylococcus*.

Os achados deste estudo estão em concordância com a literatura, uma vez que o gênero *Staphylococcus* é comumente encontrado na pele e nas superfícies de mucosas de animais, sendo reconhecido como um importante patógeno oportunista (Moses; Santos; Gales, 2023). Conforme destacado por Moses, Santos e Gales (2023), cães acometidos por dermatite atópica apresentam uma redução na diversidade de gêneros bacterianos residentes na pele, acompanhada por um aumento relativo de populações pertencentes ao gênero *Staphylococcus*, especialmente *Staphylococcus pseudintermedius*. Esse fenômeno justifica os resultados observados, como a elevada prevalência de estafilococos coagulase-positivos, majoritariamente pertencentes ao grupo SIG.

Outro aspecto relevante a ser destacado é que os CoNS têm se consolidado como patógenos importantes em ambientes hospitalares, especialmente em indivíduos imunocomprometidos. Estudos recentes apontam níveis preocupantes de resistência antimicrobiana nesses microrganismos. Os CoNS atuam como reservatórios significativos de elementos genéticos móveis, como plasmídeos, fagos, genes de resistência a antimicrobianos e fatores de virulência (Ikhimiukor et al., 2023; Jesumirhewe et al., 2024). Diante disso, não se pode negligenciar a presença dos CoNS identificados neste estudo, ainda que em menor proporção, sobretudo considerando que foram isolados de animais com histórico de uso prévio de antimicrobianos e que apresentavam quadro clínico confirmado de piodermite.

Entretanto, já reconhecido que a microbiota cutânea canina é composta por diversos gêneros bacterianos comensais, permanentes ou transitórios, dentre os quais se destacam *Corynebacterium* spp., *Kocuria* spp., *Micrococcus* spp., *Propionibacterium* spp., *Pseudomonas* spp. e *Streptococcus* spp. (Bannoehr & Guardabassi, 2012; Horsman, 2023), ou seja, justificando os 10,7% correspondente as bactérias pertencentes a outros gêneros. Da mesma maneira, pode ser dizer que as oito amostras que não apresentaram crescimento microbiano em meio ágar manitol vermelho de fenol (AMVF – Himedia®), tradicionalmente empregado para o cultivo seletivo de bactérias Gram-positivas fermentadoras de manitol, como os estafilococos, pode estar associado a diversos fatores, incluindo a inviabilidade dos microrganismos frente às condições físico-químicas do meio, a presença de espécies fastidiosas com exigências nutricionais específicas que não são atendidas por esse substrato, ou ainda a possíveis intercorrências durante o transporte e armazenamento das amostras aspectos que, não raramente, comprometem a viabilidade microbiana na rotina laboratorial.

A espectrometria de massas por dessorção/ionização a laser assistida por matriz com tempo de voo (MALDI-TOF MS) tem se consolidado como uma ferramenta promissora na microbiologia clínica veterinária, por permitir a identificação rápida e precisa de microrganismos com base em seus perfis proteicos (Nisa et al., 2019).

As 109 amostras identificadas como *Staphylococcus* spp. pelos testes fenotípicos, foram analisadas por MALDI-TOF MS, 81/109 (74,3%) foram identificados como pertencentes ao gênero *Staphylococcus* spp. Entre estes, destacaram-se 52/109 (47,7%) como *Staphylococcus pseudintermedius*, 8/109 (7,3%) como *Staphylococcus schleiferi* subsp. coagulans, 4/109 (3,7%) como *Staphylococcus haemolyticus*, 4/109 (3,7%) como *Staphylococcus aureus*, 3/109 (2,8%) como *Staphylococcus coagulans*, 3/109 (2,8%) como *Staphylococcus scuris* e 2/109 (1,8%) como *Staphylococcus hominis*. Além disso, 5/109 (4,6%) isolados foram classificados apenas como CoNS (*Staphylococcus coagulase positiva*). No entanto, 11/109 (10,1%) isolados foram identificados como bactérias de outros gêneros que não pertencem ao *Staphylococcus* e 17/109 (15,5%) isolados não puderam ser caracterizados ou identificados pelo método MALDI-TOF MS, sendo, portanto, não encaminhados para análises genotípicas complementares (Figura 14).

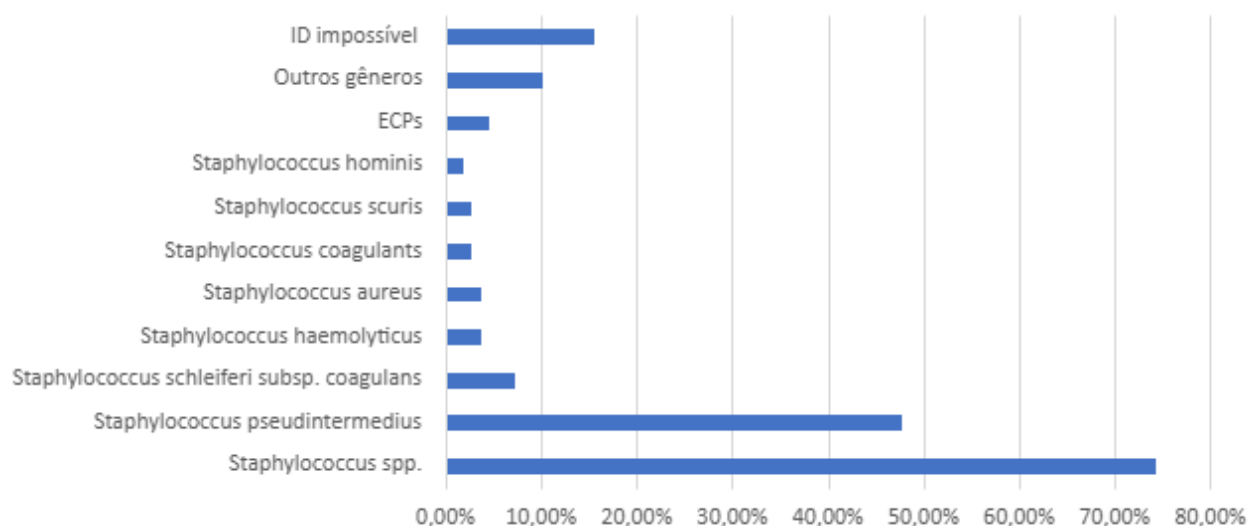


Figura 14: Figura representativa dos resultados dos 109 isolados analisados por MALDI-TOF MS. Desses, 74,3% identificados como do gênero *Staphylococcus*, destacando-se *S. pseudintermedius* (47,7%), *S. schleiferi* subsp. coagulans, (7,3%) e outras espécies. Porém, 15,6% não puderam ser identificados e 10,1% pertenciam a outros gêneros.

Relatos divergentes na literatura quanto à especificidade da tipagem por MALDI-TOF para a identificação de *Staphylococcus pseudintermedius*. Nossos resultados demonstram a capacidade do MALDI-TOF MS de distinguir entre diferentes espécies de *Staphylococcus*, inclusive entre aquelas pertencentes ao grupo *Staphylococcus intermedius group* (SIG), conforme também relatado por Nisa et al. (2019). Entretanto, autores como Silva et al. (2015) e Bibby e Brown (2021) demonstram que, embora o sistema tenha identificado corretamente os isolados como pertencentes ao grupo SIG, uma menor proporção foi corretamente classificada como *Staphylococcus pseudintermedius*, evidenciando uma sensibilidade limitada.

Esse resultado pode refletir diferenças nos protocolos de preparação e nas atualizações dos bancos de dados de espectros. Segundo Decristophoris et al. (2011) e Murugaiyan et al. (2014), a criação de espectros de referência específicos melhora significativamente a acurácia da técnica, permitindo a correta diferenciação entre espécies do grupo SIG. Esses achados reforçam a importância de manter os bancos de dados atualizados e adaptados à realidade microbiológica local.

No entanto, como evidenciado pelos 4,6% dos isolados classificados apenas como CoNS e os 15,5% dos isolados não identificados em nosso estudo, a técnica ainda apresenta limitações, especialmente frente à diversidade proteica de cepas ambientais ou pouco representadas nos bancos de dados comerciais. A integração com métodos genotípicos, como a PCR por exemplo para os genes 16s, coa, nuc e mecA, é fundamental para confirmar a identidade dos isolados e detectar resistência, especialmente em casos de infecções recorrentes ou falha terapêutica (Sasaki et al., 2010; Lange et al, 2011; Awosile, B. et al., 2018; Older, CE. et al., 2020).

Dessa forma, os resultados obtidos demonstram que o MALDI-TOF MS é uma ferramenta eficaz para a identificação preliminar de agentes etiológicos de piodermite canina, com destaque para *S. pseudintermedius*. A técnica apresenta vantagens significativas em termos de rapidez e abrangência, mas ainda requer complementação por métodos genotípicos para garantir acurácia diagnóstica e segurança terapêutica. A integração entre espectrometria de massas, testes fenotípicos e genotípicos representa o caminho ideal para o diagnóstico microbiológico moderno, especialmente frente ao desafio da resistência antimicrobiana em ambientes clínicos veterinários.

Em nosso estudo os 81 isolados identificados com pertencentes ao gênero *Staphylococcus* pela espectrometria de massa MALDI-TOF MS, foram posteriormente testados genotipicamente para o gene 16s rRNA (756pb). Destes, 4/81 isolados (4,9%) não apresentaram crescimento. A taxa de recuperação dos isolados foi de 95,1% (77/81). Após o congelamento dos isolados, é comum que a taxa de recuperação não alcance 100% (Koneman et al., 2008; Markey et al., 2013).

A identificação molecular do gene 16s rRNA (756 pb) foi realizada através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), conforme descrito por De Santis e colaboradores (2006). O gene 16s foi identificado em 76/77 (98,7%) dos isolados, que foram então identificados genotipicamente como pertencentes ao gênero *Staphylococcus*.

Correlacionando a avaliação genotípica e os resultados do MALDI-TOF MS, 52/76 (68,4%) dos isolados que possuíam o gene 16s rRNA (756 pb) eram identificados como *Staphylococcus pseudintermedius*. Os outros 24/76 (31,6%) foram classificados da seguinte forma: 8/76 (10,5%) como *Staphylococcus schleiferi* subsp. coagulans, 4/76 (5,3%) como *Staphylococcus haemolyticus*, 4/76 (5,3%) como *Staphylococcus aureus*, 3/76 (3,93%) como *Staphylococcus scuris*, respectivamente *Staphylococcus coagulans* e 2/76 (2,6%) como *Staphylococcus hominis* (Figura 15).

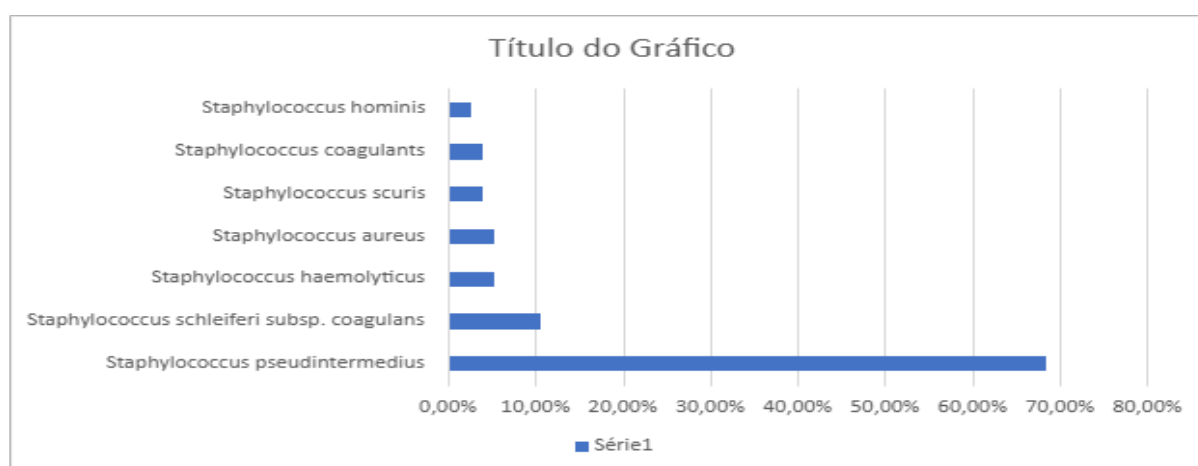


Figura 15: Figura demonstrando a correlação entre avaliação genotípica e resultados do MALDI-TOF MS: Identificação de *Staphylococcus* spp. em isolados com gene 16s rRNA (756 pb).

Um aspecto relevante observado nos resultados deste estudo foi a correlação entre a identificação bacteriana por MALDI-TOF e a detecção do gene 16S rRNA, na qual 8 das 76

(10,5%) amostras analisadas foram classificadas como pertencentes ao grupo dos CoNS. Este achado está em consonância com a literatura científica, que reconhece os CoNS como microrganismos comensais da pele e mucosas de humanos e animais, tradicionalmente considerados de baixa virulência, entretanto atualmente vêm assumindo papel clínico relevante como agentes oportunistas em infecções cutâneas de cães, especialmente em contextos de imunossupressão, disbiose cutânea ou terapias antimicrobianas prolongadas (Kania, S. et al., 2004; Devriese et al., 2005; Bannoehr et al, 200; Miszczak, M. et al., 2023).

Dentre os CoNS identificados, destaca-se *Staphylococcus haemolyticus*, espécie frequentemente associada a infecções nosocomiais humanas, cuja relevância clínica está vinculada à sua elevada capacidade de aquisição de genes de resistência, como o *mecA*, além da produção de biofilme e toxinas hemolíticas (Costa et al., 2020). O isolamento de *S. haemolyticus* em cães com dermatopatias, especialmente em quadros crônicos ou recidivantes, tem sido cada vez mais documentado, sugerindo possível adaptação ao hospedeiro canino e participação etiológica em infecções cutâneas. Outra espécie de interesse é *Staphylococcus sciuri*, originalmente descrita como saprófita ambiental, mas atualmente reconhecida como integrante da microbiota cutânea e do conduto auditivo externo de cães. Estudos recentes apontam seu envolvimento em casos de piodermite e otite externa, além da presença de genes de resistência antimicrobiana, o que reforça seu potencial como patógeno oportunista (Zhao et al., 2022). *Staphylococcus hominis*, embora classicamente considerado um comensal da pele humana, tem sido isolado em cães, sobretudo em ambientes hospitalares, levantando hipóteses de colonização cruzada ou desequilíbrio da microbiota normal. Apesar de sua relevância clínica em medicina veterinária ainda ser incerta, sua identificação deve ser interpretada com cautela, especialmente em pacientes com histórico de internação ou exposição a ambientes contaminados (Guardabassi et al., 2004).

Dessa forma, embora os CoNS não sejam reconhecidos como os principais agentes etiológicos da piodermite canina, os dados obtidos neste estudo reforçam a necessidade de considerar sua relevância clínica, especialmente em casos de falha terapêutica, infecções recidivantes ou em pacientes imunocomprometidos. A identificação precisa dessas espécies, aliada à análise genômica e fenotípica de resistência, é fundamental para o delineamento de estratégias terapêuticas eficazes e para a compreensão da dinâmica microbiológica das dermatopatias em cães.

4.3. Avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos e resistência bacteriana

Após a identificação fenotípica, todos os 109 isolados foram submetidos ao teste de difusão em disco (antibiograma) para avaliação da sensibilidade a diversos antimicrobianos. Foram testados, os seguintes antibióticos: amoxicilina com clavulanato, cefalexina, enrofloxacina, oxacilina, clindamicina, doxiciclina, cefoxitina, entre outros. Os resultados foram interpretados com base nos diâmetros dos halos de inibição ao redor dos discos, seguindo os critérios estabelecidos pelo BRCAST/CLSI VET (2024).

A penicilina foi o antimicrobiano com maior índice de resistência, com 82/109 (75,2%) dos isolados classificados como resistentes, seguida por cefovecina 67/109 (61,5%), doxiciclina 51/109 (46,8%), oxacilina 46/109 (42,2%), eritromicina 46/109 (42,2%), sulfametoxazol com trimetoprima 43/109 (39,4%), cefalexina 42/109 (38,5%), amoxicilina com clavulanato 42/109 (38,5%), enrofloxacina 41/109 (37,6%), clindamicina 36/109 (33%), cefoxitina 26/109 (23,9%), marbofloxacina 22/109 (20,2%), norfloxacina 22/109 (20,2%), gentamicina 20/109 (18,3%) e rifamicina 18/109 (16,5%), que apresentou o menor índice de resistência.

Entre os 109 isolados testados, 36/109 (33%) apresentaram multirresistência, ou seja, resistência a três ou mais classes de antimicrobianos avaliados. Além disso, 3/109 (2,8%) amostras foram identificadas como resistentes a todos os antimicrobianos testados, enquanto 6/109 (5,5%) foram sensíveis a todos os antimicrobianos avaliados (Figura 16).

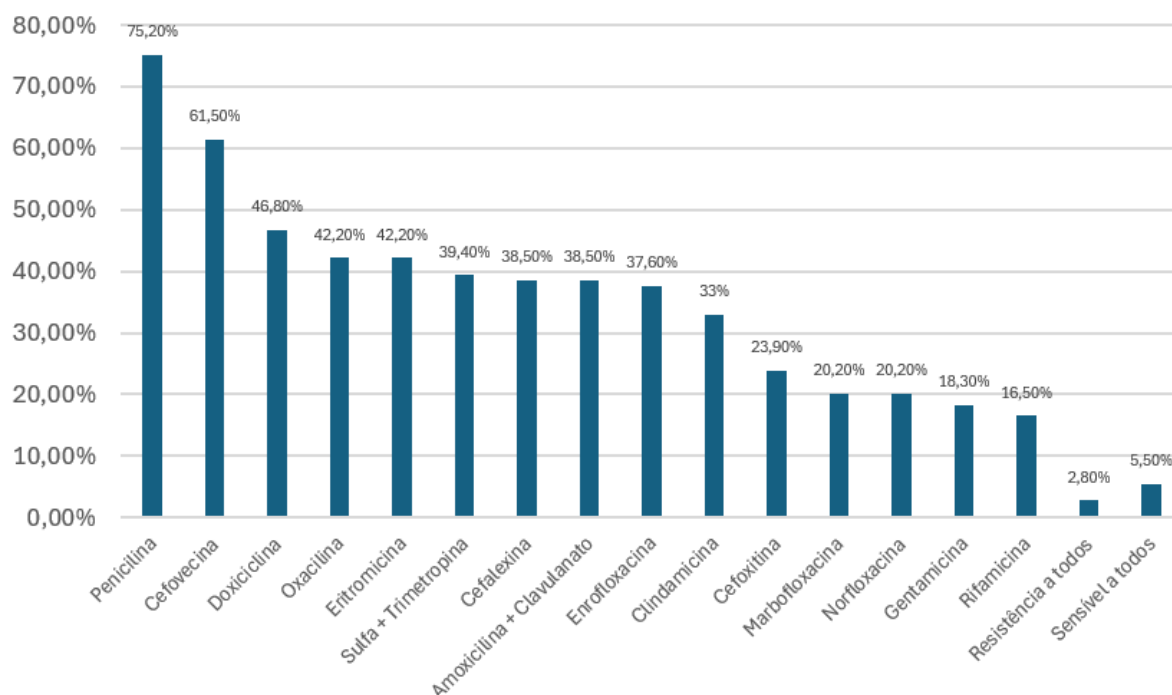


Figura 16: Figura demonstrativa da resistência para diferentes antimicrobianos pelo teste de difusão em disco (antibiograma): A Penicilina apresenta maior índice de resistência (75,2%), seguida por cefovecina (61,5%) e doxiciclina (46,8%). A multirresistência foi observada em 33% dos isolados.

O elevado índice de resistência à penicilina (75,2%) e a multirresistência observada em 33% dos isolados revelam um cenário alarmante, condizente com as evidências apresentadas por Burke & Santoro (2023) e Teixeira, I et al. (2023).

A interpretação da sensibilidade à penicilina em isolados de *Staphylococcus* deve ser realizada com cautela, uma vez que, conforme as diretrizes do CLSI (2024), voltadas para bactérias isoladas de animais, cepas produtoras de beta-lactamase podem apresentar perfil fenotípico de sensibilidade à penicilina, mascarando sua real resistência. O teste da zona edge foi utilizado para avaliar a resistência da penicilina aos beta-lactâmicos. Embora o teste seja recomendado principalmente para a detecção de beta-lactamases em *Staphylococcus aureus*, ele também é adotado para as demais espécies de *Staphylococcus*. Esse teste foi realizado em isolados de *Staphylococcus* sensíveis à penicilina, ou seja, que apresentavam um halo de inibição ≥ 29 mm, entretanto quando esses isolados apresentavam um teste de zona edge positivo, ou seja, com a borda do halo de inibição bem definida, foram considerados resistentes devido à produção de beta-lactamase (Moon et al., 2007; Soares et al., 2008; Stegger et al., 2012) (Figura 17). Desta maneira, dos 82/109 (75,2%) isolados resistentes à penicilina, 48/82

(58,5%) foram positivos no teste de zona edge. Portanto, considerados como resistentes pela produção de beta-lactamase. Para contribuir com a leitura interpretativa do antibiograma, a amoxicilina associada ao inibidor de beta-lactamases o ácido clavulânico foi incluído nos ensaios. A taxa de resistência observada foi de 42/109 (38,5%) dos isolados.

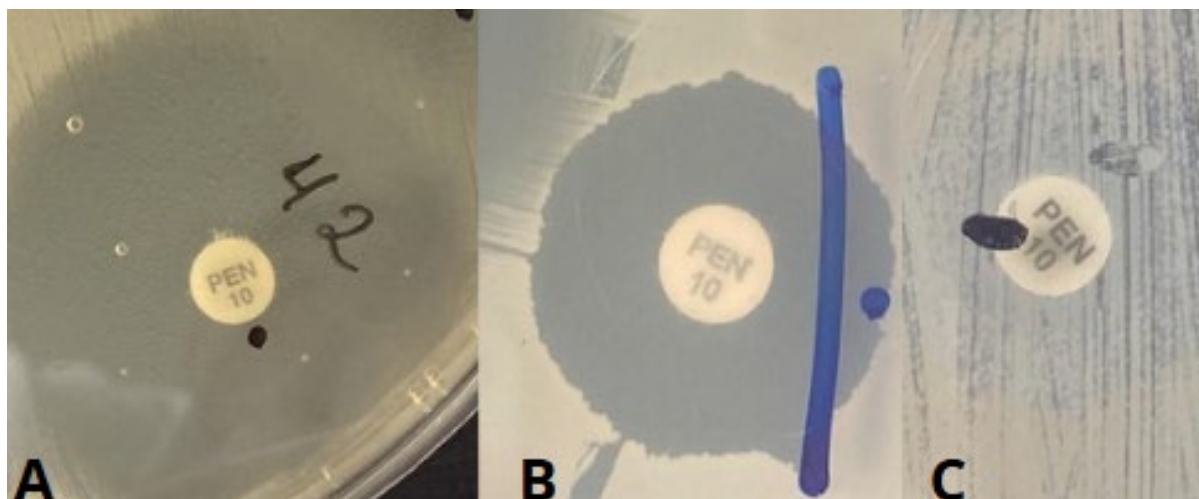


Figura 17: Avaliação da resistência à penicilina e beta-lactâmicos em *Staphylococcus spp.* utilizando o teste da Zona Edge: A) Isolados com halo de inibição ≥ 29 mm mas sem borda bem definida considerados sensíveis, B) Isolados com halo de inibição ≥ 29 mm mas com borda bem definida considerados resistentes devido à produção de beta-lactamase, C) Isolados sem halo de inibição considerados resistentes.

Para contribuir com a leitura interpretativa do antibiograma, a amoxicilina associada ao inibidor de beta-lactamases o ácido clavulânico foi incluído nos ensaios. A taxa de resistência observada foi de 42/109 (38,5%) dos isolados. A taxa de resistência observada reforça que, embora o inibidor enzimático seja eficaz em muitos casos, há cepas que mantêm resistência mesmo na presença de clavulanato, possivelmente por mecanismos adicionais como por exemplo a presença do gene *mecA* (BRCAST/CLSI VET 2024).

De acordo com o CLSI VET 2024 a triagem da resistência à meticilina em espécies do gênero *Staphylococcus* deve considerar o antimicrobiano e os pontos de corte específicos para cada espécie. Para *S. aureus* e *S. lugdunensis*, recomenda-se o uso do disco de cefoxitina (30 μ g), sendo considerados resistentes os isolados com halos de inibição iguais ou inferiores a 21 mm. Já para *S. pseudintermedius* e *S. schleiferi*, a oxacilina (1 μ g) é o antimicrobiano indicado, com resistência atribuída a halos ≤ 17 mm. As demais espécies do gênero devem ser avaliadas

também com cefoxitina (30 µg), adotando-se como ponto de corte halos ≤ 24 mm para resistência. Em todos os casos, a resistência está associada à presença do gene *mecA*.

Os dados obtidos por meio da análise fenotípica de resistência à metilicina revelaram que 46 dos 109 isolados (42,2%) foram resistentes à oxacilina. Dentre os isolados identificados como *Staphylococcus* spp. pelo MALDI-TOF MS e, posteriormente, pela análise do gene 16S, 19 dos 46 (41,3%) resistentes à oxacilina foram classificados como *Staphylococcus pseudintermedius*, 5 (10,9%) como *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* e 2 (4,3%) como *Staphylococcus scuris*. Os demais 20 isolados foram identificados como pertencentes a outros gêneros bacterianos que não *Staphylococcus*, ou não puderam ser caracterizados pelo MALDI-TOF MS, portanto, não avaliados quanto a presença do gene 16S. Além disso, é importante destacar que 1 dos 4 isolados identificados como *Staphylococcus aureus* pelo MALDI-TOF MS e portador do gene 16S demonstrou resistência à cefoxitina.

O teste de aproximação de disco é realizado com o objetivo de avaliar o fenótipo de resistência pela proximidade entre os discos de eritromicina (15 µg) e clindamicina (2 µg). A resistência induzível é identificada quando o halo de inibição ao redor do disco de clindamicina apresenta uma constrição de diâmetro perto do disco de eritromicina, fenômeno conhecido como "zona D" (CLSI VET 2024).

Nos resultados obtidos, entre os isolados considerados resistentes à clindamicina, 4/36 (11,1%) apresentaram a "zona D", sendo, portanto, identificados como portadores de resistência induzível (Figura 18).



Figura 18: Presença de resistência induzível evidenciada pela redução no diâmetro do halo de inibição ao redor do disco de clindamicina, localizada adjacente ao disco de eritromicina. Esse padrão de interferência, caracterizado pela formação de uma área sem crescimento bacteriano com formato semelhante à letra “D”, é denominado efeito “Zona D”.

Nossos resultados demonstram que todos os isolados resistentes à metilina apresentavam perfil de multirresistência. Além disso, entre os três isolados classificados como resistentes a todos os antimicrobianos testados, dois foram identificados como *Staphylococcus pseudintermedius* e um como *Staphylococcus scuris*.

No presente estudo, dois dos três isolados classificados como resistentes a todos os antimicrobianos testados foram identificados como *S. pseudintermedius*. O terceiro isolado, identificado como *Staphylococcus scuris*, também apresentou resistência total, o que é particularmente relevante, dado o número limitado de estudos sobre essa espécie e principalmente porque sua identificação como multirresistente sugere que pode estar emergindo como um patógeno oportunista relevante, especialmente em contextos de pressão seletiva antimicrobiana (Nemeghaire et al., 201; Bonnard et al., 2025).

O relato de caso de Severino et al. (2024) reforçam a importância da cultura bacteriana e dos testes de sensibilidade na condução terapêutica, além de alertarem para o potencial zoonótico das piodermites caninas. A presença de cepas resistentes em animais de companhia representa um risco não apenas para a saúde animal, mas também para a saúde pública, exigindo protocolos de biossegurança e vigilância epidemiológica.

4.4. Identificação genotípica de *Staphylococcus* sp - mecA (533 pb) e características dos isolados

A identificação molecular do gene mecA (533 pb) foi realizada utilizando a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), de acordo com metodologia descrita por Murakami e colaboradores (1991).

Entre os isolados portadores do gene 16s rRNA (756 pb), 27/76 (35,5%) foram identificados como positivos para o gene mecA. Correlacionando com a identificação detectada pelo MALDI-TOF, os isolados positivos foram caracterizados como 19/27 (70,4%) *Staphylococcus pseudintermedius*, 5/27 (18,5%) *Staphylococcus schleiferi* subsp. coagulans, 2/27 (7,4%) *Staphylococcus scuris* e 1/27 (3,7%) *Staphylococcus aureus* (Figura 19).

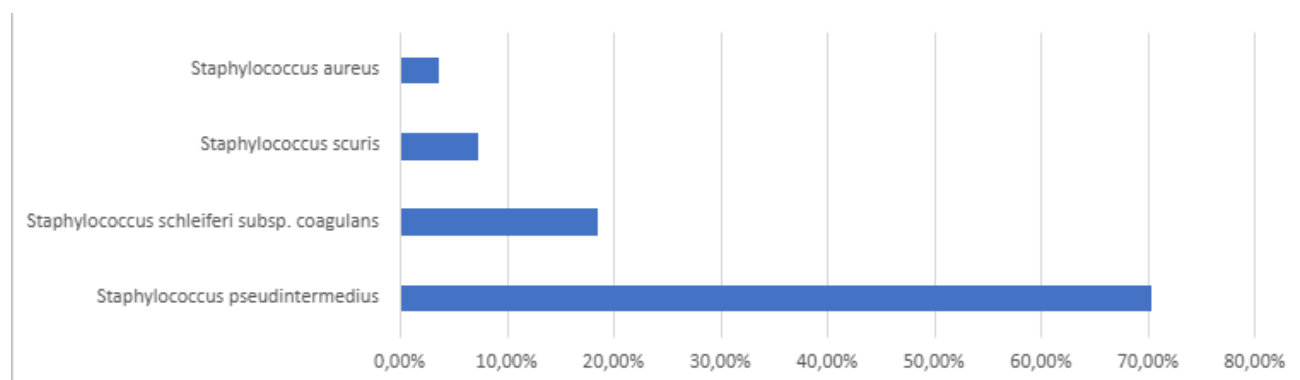


Figura 19: Figura representativa da identificação dos isolados com gene mecA: 70,4% *Staphylococcus pseudintermedius*, 18,5% *Staphylococcus schleiferi* subsp. coagulans, 7,4% *Staphylococcus scuris* e 3,7% *Staphylococcus aureus*.

Nossa prevalência está em concordância com dados apresentados por Silva et al. (2021), Burke & Santoro (2023) e Teixeira et al. 2024, que relatam taxas entre 20% e 60% de MRSP em cães com piodermite superficial. O papel predominante de *S. pseudintermedius* como agente etiológico de infecções cutâneas em cães, especialmente em casos associados à resistência antimicrobiana, reforça sua importância clínica como patógeno multirresistente emergente, conforme alertado por Santoro et al. (2023) e (Loeffler, A. et al., 2025).

A disseminação global de cepas de MRS foi facilitada pela mobilidade humana e pelo comércio internacional, tornando a resistência à meticilina um problema de saúde pública mundial. A resistência à meticilina em cepas de *Staphylococcus pseudintermedius* e em

Staphylococcus schleiferi subsp. *coagulans* tem emergido, e são associadas principalmente ao uso indevido, errôneo, equivocado ou a tratamentos prolongados com antibióticos (Burke & Santoro, 2023). Esse fenômeno sugere que o elemento *mecA* pode ser facilmente transferido entre diferentes espécies, ultrapassando barreiras de adaptação ao hospedeiro (Brooks, B. & Morse., 2007; Schwarz et al., 2017). O Brasil, segundo a OMS, está entre os países com maior consumo de antibióticos, o que agrava o risco de seleção e disseminação de cepas pan-resistentes.

Em nosso estudo dos 27 isolados portadores do gene *mecA*, 26 (96,3%) apresentavam histórico de uso prévio de antimicrobianos, enquanto apenas um isolado (3,7%) foi identificado em um paciente sem registro de antibioticoterapia anterior. Os antibióticos mais frequentemente utilizados antes do início da pesquisa foram amoxicilina com clavulanato, utilizada em 25 dos 26 casos (96,2%), cefalexina, administrada em 22 dos 26 casos (84,6%), e enrofloxacino, oferecida para 6 dos 26 casos (23,1%).

12 dos 27 isolados (43,7%) apresentaram multirresistência, enquanto 3 dos 27 casos (7,4%) eram resistentes a todos os antibióticos testados. Além disso, 6/27 (22,2%) dos isolados possuíam “Zona edge” positiva, caracterizada por uma borda bem definida, e 19 dos 27 casos (72%) testaram positivo para a presença de “Zona D”. Entre os medicamentos avaliados, a rifamicina demonstrou ser o antibiótico com maior sensibilidade, apresentando eficácia em 15 dos 27 isolados (55,6%) (Figura 20).

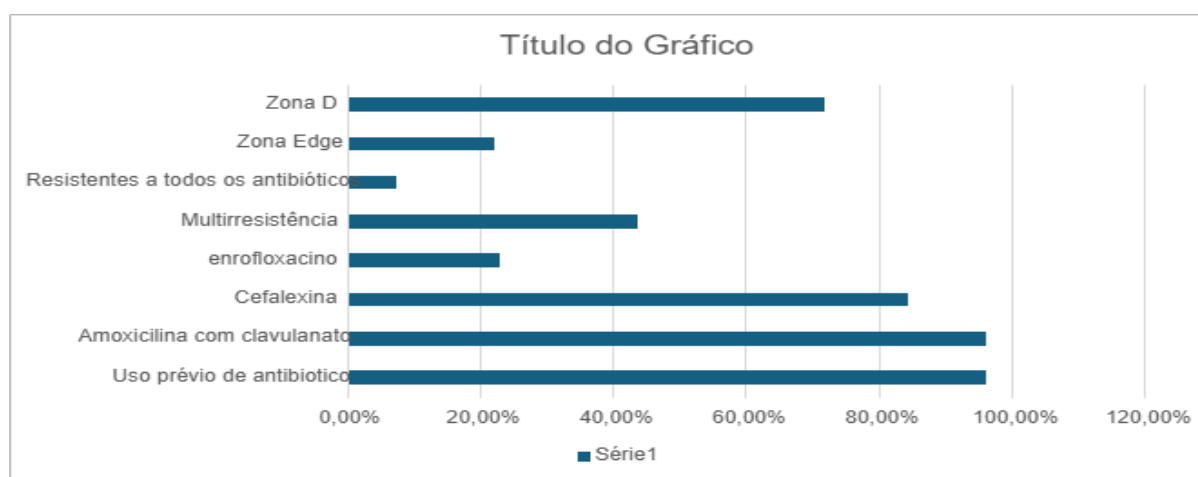


Figura 20: Figura representativa de todos os isolados com *mecA* 26/27 (96,3%) que tinham histórico de uso de antibióticos

Dois dos 3 isolados resistentes a todos os antibióticos testados eram *Staphylococcus pseudintermedius*, provenientes de animais com histórico de múltiplos tratamentos, especialmente para casos recorrentes de piodermite.

Conforme Brooks e Morse (2007) e Schwarz et al. (2017) a presença do gene *mecA* está associada à produção da proteína PBP2a, que confere resistência aos beta-lactâmicos, ou seja, o cassete cromossômico SCCmec, que carrega esse gene, pode conter elementos genéticos móveis que promovem resistência cruzada a outras classes, como macrolídeos e lincosamidas, justificando os resultados encontrados em nossa pesquisa. Além disto, conforme observado neste estudo, a positividade da “Zona Edge” reforça a produção de beta-lactamases como mecanismo disseminado entre os estafilococos, enquanto a resistência induzível à clindamicina (zona D) evidencia a importância da realização desse teste na rotina laboratorial para avaliação de múltiplas resistências (Pitkälä et al., 2007; Hombach et al., 2017).

A análise do histórico clínico dos animais inclusos no estudo revelou que dos animais com isolados positivos para *mecA* haviam recebido antibioticoterapia prévia, sendo os antimicrobianos mais frequentemente utilizados a amoxicilina com clavulanato (96,2%) e a cefalexina (84,6%). Esse padrão de uso reflete a prática clínica comum na medicina veterinária, mas também evidencia a pressão seletiva exercida por esses fármacos, favorecendo a seleção de cepas resistentes.

Essas evidências reforçam as diretrizes estabelecidas pela CLSI VET01 (2024) e o BRCast (2024) quanto à necessidade da realização de testes de sensibilidade e da limitação ao uso empírico de antimicrobianos de primeira escolha. Nosso estudo demonstra com clareza que mesmo moléculas tradicionalmente eficazes como amoxicilina-clavulanato e a cefalexina podem perder efetividade diante da prescrição repetida e sem cultura prévia. Evidenciando uma relação direta entre exposição terapêutica prévia e emergência de resistência, confirmando os achados de Hensel et al. (2016) e Van Damme et al. (2020). A multirresistência observada em isolados com *mecA* também é corroborada por Feuer et al. (2024) e Teixeira et al. (2023), que alertam sobre os desafios clínicos na condução de casos de piodermite. Os autores alertam para o crescente perfil de resistência entre *Staphylococcus pseudintermedius*, em especial frente os antibióticos mais utilizados entre os animais estudados.

Por outro lado, o único isolado positivo para *mecA* sem histórico de antibioticoterapia foi identificado como *Staphylococcus scuris*, oriundo de um filhote em seu primeiro episódio

de piodermite. Esse achado é particularmente relevante, pois sugere a possibilidade de transmissão vertical ou ambiental de cepas resistentes, mesmo na ausência de exposição prévia a antimicrobianos. Tal cenário reforça a importância da vigilância microbiológicas nas piodermites caninas e levanta hipóteses sobre a disseminação comunitária de genes de resistência.

Estudos mais recentes têm destacado o papel ecológico e clínico do *S. sciuri*, recentemente reclassificado como *Mammaliicoccus sciuri*, como reservatório genético de resistência antimicrobiana e fatores de virulência (Bonnard et al., 2025). De acordo com Becker et al. (2014) esse patógeno tem potencial zoonótico, capacidade de causar infecções oportunistas e compartilhar genes de virulência com *Staphylococcus aureus*, como toxinas e proteínas de adesão, além de elementos genéticos móveis, como o cassete cromossômico SCCmec, que facilitam a transferência horizontal de genes de resistência, incluindo os genes mecA. A resistência a múltiplas classes de antimicrobianos, como β -lactâmicos, tetraciclina, macrolídeos, aminoglicosídeos, reforça a importância do *S. sciuri* como reservatório ambiental e clínico de resistência, trazendo ainda mais destaque, importância e preocupação em relação ao isolado positivo para mecA e resistente a todos antibióticos avaliados pelo antibiograma em nossa pesquisa.

Bonnard et al., (2025) em sua pesquisa realizada no estado do Rio de Janeiro, destaca a identificação de *Staphylococcus sciuri* em amostras de cães e seus tutores, evidenciando seu potencial zoonótico. Essa espécie foi responsável por 16,2% dos isolados totais, sendo detectada nos cães, além de seus tutores. Notavelmente, 14,5% dos isolados de *S. sciuri* apresentaram o gene mecA, demonstrando o seu papel como reservatório de genes de resistência entre estafilococos. A presença simultânea de cepas resistentes em cães e humanos, aliada à proximidade física entre os hospedeiros, sugere a possibilidade de transmissão cruzada, tornando *S. sciuri* uma preocupação emergente em saúde pública no contexto brasileiro.

Em conjunto, os dados evidenciam que *S. Sciuri*, não apenas possui plasticidade genética para adquirir e disseminar genes de resistência, como também representa um elo importante na interface entre saúde humana, animal e ambiental. A sua presença em ambientes comunitários, domésticos e clínicos, aliada à capacidade de resistência múltipla, torna imperativa a implementação de estratégias integradas de monitoramento, uso racional de antimicrobianos e educação sanitária, especialmente em contextos veterinários e de saúde pública.

Hoje sabe-se que, apesar de apresentarem adaptações e, na maioria dos casos, afinidade a um determinado hospedeiro natural, a capacidade de transferência genética horizontal de *Staphylococcus* spp. permite a aquisição de genes de virulência e resistência, que capacitam cepas, anteriormente restritas a determinado hospedeiro, a colonizarem outras espécies (Schwarz, S. & Chaslus-Dancla, É. 2001; Schwarz et al., 2013; Burke & Santoro., 2023).

A detecção de cepas multirresistentes de *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) em cães com acesso domiciliar e estreita convivência com humanos impõe preocupações crescentes sob a perspectiva da Saúde Única. A proximidade entre espécies favorece não apenas a colonização cruzada, mas também a transmissão direta de microrganismos resistentes, configurando um risco epidemiológico relevante. Conforme discutido por Bannoehr e Guardabassi (2012), a resistência antimicrobiana na medicina veterinária não pode ser tratada isoladamente, uma vez que se trata de uma problemática compartilhada entre humanos, animais e o ambiente. Organismos internacionais como a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2022) e o consórcio europeu EFSA-ECDC (2023) reforçam que a resistência bacteriana é um desafio, exigindo abordagens interdisciplinares e coordenadas para sua contenção.

Estudos recentes têm demonstrado que a transmissão zoonótica de MRSP é uma realidade concreta, inclusive em indivíduos imunocompetentes. Kaspar et al. (2018) e Somayaji et al. (2016) documentaram casos de infecção humana por *S. pseudintermedius* resistente à meticilina, oriundos de contato direto com cães colonizados, evidenciando que a barreira entre espécies pode ser facilmente eliminada por microrganismos dotados de mecanismos de resistência robustos.

A presença do gene *mecA* em cepas de origem animal, como identificadas em nosso estudo, *S. pseudintermedius*, *S. schleiferi* e *S. sciuri*, evidencia ainda mais o espectro de disseminação da resistência. Nesse contexto, a interface entre saúde humana, animal e ambiental torna-se um ponto crítico na contenção da propagação de *Staphylococcus* multirresistentes. A implementação de medidas de biossegurança, protocolos de vigilância epidemiológica e capacitação técnica dos profissionais envolvidos na medicina veterinária e humana são estratégias fundamentais para reduzir os riscos associados à resistência bacteriana zoonótica. A resistência antimicrobiana, como reiterado por Bannoehr & Guardabassi (2012), WHO (2022) e EFSA-ECDC (2023), transcende os limites disciplinares e exige respostas integradas, baseadas em evidências científicas e em políticas públicas que reconheçam a interdependência entre os ecossistemas de saúde.

Dessa forma, os achados apresentados nesta tese contribuem para o entendimento da dinâmica de transmissão de cepas resistentes entre animais e humanos, bem como da circulação de genes de resistência entre diferentes espécies bacterianas. A caracterização fenotípica, genotípica e proteômica dos isolados, aliada à análise do histórico clínico dos animais, demonstra a relação direta entre exposição terapêutica prévia e emergência de resistência, além de levantar hipóteses sobre rotas alternativas de disseminação, como a transmissão ambiental e vertical. Tais evidências reforçam a necessidade de vigilância contínua e de políticas públicas voltadas ao controle da resistência antimicrobiana em uma perspectiva verdadeiramente integrada.

5. CONCLUSÃO

Diante dos achados desta investigação, torna-se evidente que a resistência antimicrobiana em *Staphylococcus spp.* de origem animal representa um desafio crescente e multifacetado na clínica dermatológica veterinária. A correlação entre tratamento empírico, perfis multirresistentes e disseminação de MRSP em cães com dermatite atópica canina (DAC) reforça a urgência de estratégias integradas para contenção desse fenômeno. A caracterização microbiológica, fenotípica e genotípica dos isolados obtidos, aliada ao uso de metodologias avançadas como MALDI-TOF MS, PCR para os genes 16S e *mecA*, e testes fenotípicos de alta precisão, conferiu robustez técnica à pesquisa e contribuiu de forma significativa para o avanço do conhecimento na área.

A identificação de cepas multirresistentes não está necessariamente associada a maior virulência, mas impõe severas limitações às opções terapêuticas disponíveis, comprometendo o manejo clínico eficaz e favorecendo a persistência e recorrência das infecções. Nesse contexto, é imperativo que a detecção de microrganismos resistentes seja acompanhada por medidas de biossegurança, protocolos de vigilância epidemiológica e educação continuada dos profissionais envolvidos na prática veterinária. A aplicação criteriosa das diretrizes do CLSI VET 2024, aliada à interpretação técnica dos testes de sensibilidade, constitui um pilar essencial para a preservação da eficácia dos antimicrobianos ainda disponíveis.

Além das ações clínicas e laboratoriais, esta tese destaca a necessidade urgente de medidas regulatórias por parte dos órgãos governamentais competentes. A comercialização indiscriminada de antimicrobianos em estabelecimentos pet shops e agropecuários no Brasil, muitas vezes sem prescrição ou controle adequado, contrasta com as práticas restritivas adotadas em países da União Europeia e nos Estados Unidos. Tal desordem favorece o uso irracional de fármacos, acelera o surgimento de cepas multirresistentes e compromete a saúde pública e animal. A regulamentação rigorosa da venda de antibióticos, com exigência de prescrição veterinária e fiscalização efetiva, deve ser considerada uma prioridade estratégica no enfrentamento da resistência bacteriana.

Por fim, os dados obtidos nesta pesquisa extrapolam o ambiente hospitalar e alcançam o debate epidemiológico e as práticas clínicas cotidianas, sugerindo a implementação de protocolos diagnósticos mais robustos, monitoramento contínuo da resistência bacteriana e ações educativas voltadas tanto para médicos veterinários quanto para tutores. A abordagem

integrada microbiológica, genotípica, fenotípica e proteômica proposta nesta tese representa um modelo promissor para o manejo clínico e epidemiológico da piodermite canina, contribuindo para a construção de uma medicina veterinária mais segura, eficaz e alinhada aos princípios da saúde única.

6. REFERENCIAS

ALATOOM, A. A. et al. Comparison of direct colony method versus extraction method for identification of gram positive cocci by use of Bruker Biotyper Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 49, p. 2868–2873, 2011.

AL KINDI, Arwa et al. *Staphylococcus aureus* internalized by skin keratinocytes evade antibiotic killing. *Frontiers in Microbiology*, v. 10, p. 2242, 2019.

AWOSILE, B. B. et al. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from cats and dogs from the Atlantic provinces, Canada from 1994 to 2013. *Canadian Veterinary Journal*, v. 59, p. 885–893, 2018.

ARCIOLA, C. R.; CAMPOCCIA, D.; RAVAIOLI, S.; MONTANARO, L. Polysaccharide intercellular adhesin in biofilm: structural and regulatory aspects. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 5, n. 7, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00007>.

BAPTISTE, K. E. et al. Methicillin-resistant staphylococci in companion animals. *Emerging Infectious Diseases*, v. 11, p. 1942–1944, 2005.

BAJWA, J. Canine superficial pyoderma and therapeutic considerations. *Canadian Veterinary Journal*, v. 57, n. 2, p. 204–206, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4713004/>. Acesso em: 17 maio 2025.

BANNOEHR, J. et al. Molecular diagnostic identification of *Staphylococcus pseudintermedius*. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 47, p. 469–471, 2009.

BANNOEHR, J.; GUARDABASSI, L. *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog: taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. *Veterinary Dermatology*, v. 23, p. 253–e52, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2012.01046.x>.

BANOVIC, Frane. Updated insights into the molecular pathogenesis of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 2024.

BARROS, E. M. et al. Species-level identification of clinical staphylococcal isolates based on polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis of a partial

groEL gene sequence. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 59, p. 251–257, 2007.

BECKER, K. et al. Development and evaluation of a quality-controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA-based identification of *Staphylococcus* species. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 42, n. 11, p. 4988–4995, 2004.

BIBBY, Helen L.; BROWN, Kristen L. Identification of *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from wound cultures by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry improves accuracy of susceptibility reporting at an increase in cost. *Journal of Clinical Microbiology*, [S.l.], v. 59, n. 11, p. 10–1128, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.01073-21>

BORIO, S. et al. Effectiveness of a combined (4% chlorhexidine digluconate shampoo and solution) protocol in MRS and non-MRS canine superficial pyoderma: a randomized, blinded, antibiotic-controlled study. *Veterinary Dermatology*, v. 26, p. 339-e72, 2015. <https://doi.org/10.1111/vde.12233>.

BURKE, M.; SANTORO, D. Prevalence of multidrug-resistant coagulase-positive staphylococci in canine and feline dermatological patients over a 10-year period: a retrospective study. *Microbiology (Reading)*, v. 169, n. 2, p. 001300, 2023. <https://doi.org/10.1099/mic.0.001300>.

BRCAST – Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Tabela de pontos de corte clínicos para testes de sensibilidade aos antimicrobianos: versão 2024. São Paulo: BrCAST, 2024. Disponível em: <https://brcast.org.br/2024>. Acesso em: 24 jul. 2025.

BROOKS, George F.; BUTEL, Janet S.; MORSE, Stephen A. *Medical microbiology*. New York: McGraw-Hill Medical Pub. Division, 2007.

CARBONNELLE, E. et al. MALDI-TOF mass spectrometry tools for bacterial identification in clinical microbiology laboratory. *Clinical Biochemistry*, v. 44, p. 104–109, 2011.

CHANAYAT, Y. et al. The SCCmec Types and Antimicrobial Resistance among Methicillin-Resistant *Staphylococcus* Species Isolated from Dogs with Superficial Pyoderma. *Veterinary Sciences*, v. 8, 2021. <https://doi.org/10.3390/vetsci8050085>

CHERKAoui, A.; HIBBS, J.; EMONET, S. Comparison of two matrix assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry methods with conventional phenotypic identification for routine bacterial speciation. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 48, p. 1169–1175, 2010.

CHURCH, D. et al. Performance and application of 16S rRNA gene cycle sequencing for routine identification of bacteria in the clinical microbiology laboratory. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 33, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/cmr.00053-19>. Acesso em: 15 maio 2025.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals. 6. ed. CLSI document VET01. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2024.

COLOCHO, R. et al. Clinical-epidemiological profile of the canine population in a shelter, Minas Gerais, Brazil, 2019-2020. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, v. 28, p. 104–115, 2023. Acesso em: 29 jul. 2025.

DE ASSIS, P. et al. Population estimate of dogs and cats, domiciled or semi-domiciled, from the urban region of a town in the Midwest region of Brazil. *Research, Society and Development*, v. 9, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/RSD-V9I10.8217>. Acesso em: 29 jul. 2025.

DECRISTOPHORIS, P. et al. Identification of *Staphylococcus intermedius* Group by MALDI-TOF MS. *Systematic and Applied Microbiology*, v. 34, p. 45–51, 2011.

DEVRIESE, L. A.; VANDAMME, L. R.; FAMEREE, L. Methicillin (cloxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* from strains isolated. *Veterinärmedizin Reihe*, v. 9, n. 7, p. 598–605, 1972.

DEVRIESE, L. et al. *Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase-positive species from animals. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 55, p. 1569–1573, 2005. <https://doi.org/10.1099/IJS.0.63413-0>.

DUBIN, G. et al. Bacterial proteases in disease – role in intracellular survival, evasion of coagulation/fibrinolysis innate defenses, toxicoses and viral infections. *Current Pharmaceutical Design*, v. 19, p. 1090–1113, 2013.

DROUGKA, E. et al. Interspecies spread of *Staphylococcus aureus* clones among companion animals and human close contacts in a veterinary teaching hospital: a cross-sectional study in Greece. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 126, p. 190–198, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.02.004>.

EDWARDS, V. M. et al. Characterization of the canine type C enterotoxin produced by *Staphylococcus intermedius* pyoderma isolates. *Infection and Immunity*, v. 65, p. 2346–2352, 1997.

EFSA; ECDC. The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, v. 21, n. 12, p. e8442, 2023. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8442>.

EL-SAYED, A. et al. Comparative study on genotypic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical and subclinical mastitis in Mexico. *Veterinaria México*, v. 37, n. 2, p. 165–179, 2006.

FACCIN, M. et al. Common superficial and deep cutaneous bacterial infections in domestic animals: a review. *Veterinary Pathology*, v. 60, p. 796–811, 2023.

FAVROT, C. et al. A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Veterinary Dermatology*, v. 21, n. 1, p. 23–31, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2009.00758.x>.

FEUER, L. et al. Comparative analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* prevalence and resistance patterns in canine and feline clinical samples: insights from a three-year study in Germany. *Antibiotics*, v. 13, p. 660, 2024. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13070660>.

FOSTER, T. J. Colonization and infection of the human host by staphylococci: adhesion, survival and immune evasion. *Veterinary Dermatology*, v. 20, p. 456–470, 2009.

FUTAGAWA-SAITO, K. et al. Identification of first exfoliative toxin in *Staphylococcus pseudintermedius*. *FEMS Microbiology Letters*, v. 301, p. 176–180, 2009.

FRANK, L. et al. Isolation of *Staphylococcus schleiferi* from dogs with pyoderma. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 222, n. 4, p. 451–454, 2003. <https://doi.org/10.2460/JAVMA.2003.222.451>.

GEOGHEGAN, J. A. et al. *Staphylococcus pseudintermedius* expresses surface proteins that closely resemble those from *Staphylococcus aureus*. *Veterinary Microbiology*, v. 138, p. 345–352, 2009.

GONZÁLEZ-DOMÍNGUEZ, M. et al. Molecular detection and characterization of the *mecA* and *nuc* genes from *Staphylococcus* species (*S. aureus*, *S. pseudintermedius*, and *S. schleiferi*) isolated from dogs suffering superficial pyoderma and their antimicrobial resistance profiles. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 7, 2020. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00376>.

GUAN, C. et al. Engineering a “detect and destroy” skin probiotic to combat methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *PLoS ONE*, v. 17, n. 12, e0276795, 2022. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0276795>.

GUARDABASSI, L. Orientações para o uso de antimicrobianos em cães e gatos. In: GUARDABASSI, L.; JENSEN, L. B.; KRUSE, H. *Guia de antimicrobianos em veterinária*. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. cap. 11, p. 224–246.

HAVERI, M. et al. Molecular types and genetic profiles of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine intramammary infections and extramammary sites. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 46, n. 11, p. 3728–3735, 2008.

HENSEL, P. et al. Canine atopic dermatitis: detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Veterinary Research*, v. 11, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0515-5>. Acesso em: 15 maio 2025.

HENSEL, N.; ZABEL, S.; HENSEL, P. Prior antibacterial drug exposure in dogs with methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) pyoderma. *Veterinary Dermatology*, v. 27, p. 72–e20, 2016. <https://doi.org/10.1111/vde.12292>.

HENSEL, P. et al. Update on the role of genetic factors, environmental factors and allergens in canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 2023. <https://doi.org/10.1111/vde.13210>.

HILLIER, A. et al. Guidelines for the diagnosis and antimicrobial therapy of canine superficial bacterial folliculitis. *Veterinary Dermatology*, v. 25, p. 163–e43, 2014. <https://doi.org/10.1111/vde.12118>.

HOMBACH, M.; WEISSERT, C.; SENN, M.; ZBINDEN, R. Comparison of phenotypic methods for the detection of penicillinase in *Staphylococcus aureus* and proposal of a practical diagnostic approach. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 72, p. 1089–1093, 2017. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw521>.

HOOKEY, J. V.; RICHARDSON, J. F.; COOKSON, B. D. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on PCR restriction fragment length polymorphism and DNA sequence analysis of the coagulase gene. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 36, n. 4, p. 1083–1089, 1998.

IKHIMIUKOR, O. O. et al. Leaky barriers to gene sharing between locally co-existing coagulase-negative *Staphylococcus* species. *Communications Biology*, v. 6, n. 1, 2023.

IYORI, K. et al. *Staphylococcus pseudintermedius* exfoliative toxin EXI selectively digests canine desmoglein 1 and causes subcorneal clefts in canine epidermis. *Veterinary Dermatology*, v. 22, p. 319–326, 2011.

JESUMIRHEWE, C. et al. Genetic characterization of antibiotic-resistant *Staphylococcus* spp. and *Mammaliicoccus sciuri* from healthy humans and poultry in Nigeria. *Antibiotics*, v. 13, n. 8, p. 733, 2024.

JEVONS, M. P. “Celbenin”-resistant staphylococci. *British Medical Journal*, v. 124, p. 124–125, 1961.

LAARHOVEN, L. et al. Longitudinal Study on Methicillin-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Households. PLoS ONE, v. 6, e27788, 2011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027788>.

LANGE, C. C. et al. Uso de PCR e sequenciamento do rDNA 16S para identificação de bactérias do gênero *Staphylococcus* isoladas de mastite bovina. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 31, n. 1, p. 36–40, 2011.

LARSSON, C. E.; LUCAS, R. Tratado de medicina externa: dermatologia veterinária. São Caetano do Sul: Interbook, 2016.

LAUTZ, S. et al. Dissemination of the gene encoding exfoliative toxin of *Staphylococcus intermedius* among strains isolated from dogs during routine microbiological diagnostics. *Journal of Veterinary Medicine*, v. 53, p. 434–438, 2006.

LEONARD, F. C.; MARKEY, B. K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals: a review. *Veterinary Journal*, v. 175, p. 27–36, 2008.

LINEK, M.; FAVROT, C. Impact of canine atopic dermatitis on the health-related quality of life of affected dogs and quality of life of their owners. *Veterinary Dermatology*, v. 21, n. 5, p. 456–462, 2010.

List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature – Genus *Staphylococcus*. Disponível em: <http://www.bacterio.net/staphylococcus.html>. Acesso em: jan. 2025.

LYNCH, S. A.; HELBIG, K. J. The complex diseases of *Staphylococcus pseudintermedius* in canines: where to next? *Veterinary Sciences*, v. 8, p. 11, 2021.

LOEFFLER, A.; LLOYD, D. H. What has changed in canine pyoderma? A narrative review. *The Veterinary Journal*, v. 235, p. 73–82, 2018.

LOEFFLER, Anette; et al. Antimicrobial use guidelines for canine pyoderma by the International Society for Companion Animal Infectious Diseases (ISCAID). *Veterinary Dermatology*, [S.l.], v. 36, n. 3, p. 234–282, 2025.

KADLEC, K.; SCHWARZ, S. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus pseudintermedius*. *Veterinary Dermatology*, v. 23, n. 4, p. 276–e55, 2012. Disponível em: . Acesso em: 15 maio 2025.

KANIA, S. A. et al. Methicillin resistance of staphylococci isolated from the skin of dogs with pyoderma. *American Journal of Veterinary Research*, v. 65, n. 9, p. 1265-1268, 2004. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2004.65.1265>.

KASPAR, U. et al. Zoonotic multidrug-resistant microorganisms among small companion animals in Germany. *PLoS ONE*, v. 13, e0208364, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208364>.

KAWAKAMI, T. et al. Antimicrobial susceptibility and methicillin resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* and *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* isolated from dogs with pyoderma in Japan. *The Journal of Veterinary Medical Science*, v. 72, n. 12, p. 1615–1619, 2010. <https://doi.org/10.1292/JVMS.10-0172>.

KONEMAN, E. W. et al. *Diagnóstico Microbiológico*. 6. ed. Rio de Janeiro: MEDS, 2008. 1760 p.

MANIAN, F. Asymptomatic nasal carriage of mupirocin-resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a pet dog associated with MRSA infection in household contacts. *Clinical Infectious Diseases*, v. 36, n. 2, p. e26–e28, 2003. <https://doi.org/10.1086/344772>.

MARKEY, B. et al. *Clinical Veterinary Microbiology*. 2. ed. Dublin: Mosby Elsevier, 2013.

MARSELLA, R. et al. Comparison of various treatment options for canine atopic dermatitis: a blinded, randomized, controlled study in a colony of research atopic beagle dogs. *Veterinary Dermatology*, 2020. <https://doi.org/10.1111/vde.12849>.

MARSELLA, R.; OLIVRY, T.; CARLOTTI, D. Current evidence of skin barrier dysfunction in human and canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v. 22, n. 3, p. 239–248, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2011.00967.x>.

MARSSELLA, R. Advances in our understanding of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v. 32, n. 6, p. 547–e151, 2021.

MAXSON, T.; TAYLOR-HOWELL, C.; MINOGUE, T. Semi-quantitative MALDI-TOF for antimicrobial susceptibility testing in *Staphylococcus aureus*. *PLoS ONE*, v. 12, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183899>.

MCCARTHY, H. et al. Methicillin resistance and the biofilm phenotype in 84 *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 5, n. 1, 2015.

MELO, D. A. et al. Impairments of *mecA* gene detection in bovine *Staphylococcus* spp. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 45, n. 3, p. 1075–1082, 2014.

MENANDRO, M. et al. Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* from symptomatic companion animals in Northern Italy: Clonal diversity and novel sequence types. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, v. 66, p. 101331, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.101331>.

MILLER, W. H.; GRIFFIN, C. E.; CAMPBELL, K. L. Muller & Kirk's Small Animal Dermatology. 7. ed. St. Louis: Elsevier, 2013.

MISZCZAK, M. et al. Colonization of methicillin-resistant *Staphylococcus* species in healthy and sick pets: prevalence and risk factors. *BMC Veterinary Research*, v. 19, n. 1, p. 85, 2023. <https://doi.org/10.1186/s12917-023-03640-1>.

MOON, J. S.; et al. *Antibiogram and coagulase diversity in staphylococcal enterotoxin-producing Staphylococcus aureus from bovine mastitis*. *Journal of Dairy Science*, v. 90, n. 4, p. 1716–1724, 2007.

MORRIS, D. O. et al. Recommendations for approaches to methicillin-resistant staphylococcal infections of small animals: diagnosis, therapeutic considerations and preventative measures. *Clinical Consensus Guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology*. *Veterinary Dermatology*, v. 28, n. 3, p. 304-e69, 2017. <https://doi.org/10.1111/vde.12444>.

MURAKAMI, K. et al. Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 29, p. 2240–2244, 1991.

NUTTALL, T. J. et al. Update on pathogenesis, diagnosis, and treatment of atopic dermatitis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 254, p. 1291–1300, 2019.

OLIVRY, T. Is the skin barrier abnormal in dogs with atopic dermatitis? *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 144, n. 1-2, p. 11–16, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2011.07.014>.

OLIVRY, T. et al. Validation of the Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI)-4, a simplified severity scale for assessing skin lesions of atopic dermatitis in dogs. *Veterinary Dermatology*, v. 25, n. 2, p. 77–85, e25, 2014. <https://doi.org/10.1111/vde.12107>.

OLIVRY, T. et al. Treatment of canine atopic dermatitis: 2015 updated guidelines from the International Committee on Allergic Diseases of Animals (ICADA). *BMC Veterinary Research*, v. 11, p. 210, 2015. <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0514-6>.

OLIVRY, T. et al. Development of a core outcome set for therapeutic clinical trials enrolling dogs with atopic dermatitis (COSCAD'18). *BMC Veterinary Research*, v. 14, p. 238, 2018. Disponível em: <https://www.icada.org/publications-1>. Acesso em: 24 jul. 2025.

OLDER, C. E. et al. Characterization of cutaneous bacterial microbiota from superficial pyoderma forms in atopic dogs. *Pathogens*, v. 9, p. 638, 2020.

PALMA, E.; TILOCCA, B.; RONCADA, P. Antimicrobial resistance in veterinary medicine: an overview. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 6, p. 1914, 2020. <https://doi.org/10.3390/ijms21061914>.

PIETROCOLA, G. et al. Fibronectin Binding Proteins SpsD and SpsL both support invasion of canine epithelial cells by *Staphylococcus pseudintermedius*. *Infection and Immunity*, v. 83, p. 4093–4102, 2015.

PIEREZAN, F. et al. The skin microbiome in allergen-induced canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v. 27, n. 5, p. 332–e82, 2016. <https://doi.org/10.1111/vde.12366>.

PIEWNGAM, P. et al. Probiotic for pathogen-specific *Staphylococcus aureus* decolonisation in Thailand: a phase 2, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *The Lancet Microbe*, v. 4, n. 2, p. e75–e83, 2023.

PITKÄLÄ, A.; SALMIKIVI, L.; BREDBACKA, P.; MYLLYNIEMI, A.; KOSKINEN, M. Comparison of tests for detection of β -lactamase-producing staphylococci. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 45, p. 2031–2033, 2007. <https://doi.org/10.1128/JCM.00621-07>.

QEKWANA, D. et al. Burden and predictors of *Staphylococcus aureus* and *S. pseudintermedius* infections among dogs presented at an academic veterinary hospital in South Africa (2007–2012). *PeerJ*, v. 5, 2017. <https://doi.org/10.7717/peerj.3198>.

RIBEIRO, J. Z. M. et al. Análise da ocorrência dos critérios de Favrot e das comorbidades apresentadas por cães com dermatite atópica. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 27, n. 3, p. 104–109, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.4322/rbcv.2020.031>. Acesso em: 15 maio 2025.

ROBINSON, T. P. et al. Antibiotic resistance is the quintessential One Health issue. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 110, n. 7, p. 377–380, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/trstmh/trw048>. Acesso em: 15 maio 2025.

SILVA, J. G. et al. First report of a livestock-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* ST126 harbouring the mecC variant in Brazil. *Transboundary and Emerging Diseases*, v. 68, n. 3, p. 1019–1025, 2020.

SANTORO, D. et al. Update on the skin barrier, cutaneous microbiome and host defence peptides in canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 2023. <https://doi.org/10.1111/vde.13215>.

SOMAYAJI, R. et al. Exploring *Staphylococcus pseudintermedius*: an emerging zoonotic pathogen? *Future Microbiology*, v. 11, n. 11, 2016.

SANTOS, T.; DAMBORG, P.; MOODLEY, A.; GUARDABASSI, L. Systematic Review on Global Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius*: Inference of Population Structure from Multilocus Sequence Typing Data. *Frontiers in Microbiology*, v. 7, 2016. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01599>.

SASAKI, T. et al. Reclassification of phenotypically identified *Staphylococcus intermedius* strains. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 45, n. 9, p. 2770–2778, 2007. <https://doi.org/10.1128/JCM.00360-07>.

SASAKI, T. et al. Multiplex-PCR method for species identification of coagulase-positive staphylococci. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 48, p. 765–769, 2010. <https://doi.org/10.1128/JCM.01232-09>.

SENGUPTA, S.; CHATTOPADHYAY, M. K.; GROSSART, H.-P. The multifaceted roles of antibiotics and antibiotic resistance in nature. *Frontiers in Microbiology*, v. 4, p. 47, 2013. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00047>.

SILVA, V. et al. Clonal diversity and antimicrobial resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from canine pyoderma. *Microorganisms*, v. 9, p. 482, 2021. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030482>.

SOARES, L. C. et al. Caracterização fenotípica da resistência a antimicrobianos e detecção do gene *mecA* em *Staphylococcus* spp. coagulase-negativos isolados de amostras animais e humanas. *Ciência Rural*, v. 38, n. 5, p. 1346–1350, 2008.

STEGGER, M. et al. Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harbouring either *mecA* or the new *mecA* homologue *mecA*(LGA251). *Clinical Microbiology and Infection*, v. 18, n. 4, p. 395–400, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03715.x>.

SCHWARZ, S.; CHASLUS-DANCLA, É. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Veterinary Research*, v. 32, n. 3-4, p. 201-225, 2001. <https://doi.org/10.1051/VETRES:2001120>.

TEIXEIRA, I. et al. Investigation of antimicrobial susceptibility and genetic diversity among *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs in Rio de Janeiro. *Scientific Reports*, v. 13, 2023. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-47549-z>.

TERAUCHI, R. et al. Isolation of exfoliative toxin from *Staphylococcus intermedius* and its local toxicity in dogs. *Veterinary Microbiology*, v. 94, p. 19–29, 2003.

TITO, Tiago Marques; et al. Choice of DNA extraction protocols from Gram negative and positive bacteria and directly from the soil. *African Journal of Microbiology Research*, v. 9, n. 12, p. 863–871, 2015.

THOMSON, P. et al. Isolation and identification of *Staphylococcus* species obtained from healthy companion animals and humans. *Veterinary Sciences*, v. 9, 2022. <https://doi.org/10.3390/vetsci9020079>.

VAN DAMME, C. M. M. et al. Clindamycin resistance of skin-derived *Staphylococcus pseudintermedius* is higher in dogs with a history of antimicrobial therapy. *Veterinary Dermatology*, v. 31, p. 305-e75, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/vde.12854>. Acesso em: 15 maio 2025.

VAN HOOVELS, L. et al. First case of *Staphylococcus pseudintermedius* infection in a human. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 44, p. 4609–4612, 2006.

WANG, Z. et al. Antibiotic resistance, biofilm formation, and virulence factors of isolates of *Staphylococcus pseudintermedius* from healthy dogs and dogs with keratitis. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 9, 2022. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.903633>.

WEESE, J. S. et al. Suspected transmission of MRSA between domestic pets and humans. *Veterinary Microbiology*, v. 115, p. 148–155, 2006.

WEESE, J. S. Staphylococcal infections in small animals: diagnosis, treatment, and public health implications. *The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 42, n. 6, p. 1283–1298, 2012.

WEESE, J. S.; VAN DUIJKEREN, E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Veterinary Microbiology*, v. 140, p. 418–429, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report 2022. Geneva: World Health Organization, 2022.

ZHANG, K. et al. New quadriplex PCR assay for detection of methicillin and mupirocin resistance and simultaneous discrimination of *Staphylococcus aureus* from coagulase-negative staphylococci. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 42, n. 11, p. 4947–4955, 2004.

7. ANEXOS

7.1. Anexo 1

**UFRRJ**
Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro

Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

**CCEUA**
Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "PIDERMITES RECIDIVANTES EM CÃES ATÓPICOS COMO FONTE DE INFECÇÃO PARA HUMANOS", protocolada sob o CEUA nº 8404250122 (ID 002235), sob a responsabilidade de **Júlio Israel Fernandes e equipe; RAFAELLA TORTORIELLO BARBOSA SAMPAIO; Bruna Sampaio Martins Land Manier ; Camila Sampaio Martins Land Manier** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) na reunião de 04/04/2022.

We certify that the proposal "RECURRENT PYODERMA IN ATOPIC DOGS AS SOURCE OF INFECTION FOR HUMANS", utilizing 150 Dogs (males or females), protocol number CEUA 8404250122 (ID 002235), under the responsibility of **Júlio Israel Fernandes and team; RAFAELLA TORTORIELLO BARBOSA SAMPAIO; Bruna Sampaio Martins Land Manier ; Camila Sampaio Martins Land Manier** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the Veterinary Institute of Rural Federal University of Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) in the meeting of 04/04/2022.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 04/2022 a 04/2024 Área: Clínica Médica

Origem: Animais de proprietários

Espécie: Cães sexo: Machos ou Fêmeas idade: 6 a 180 meses Quantidade: 150

Linhagem: diversas Peso: 1 a 50 kg

Seropédica, 25 de junho de 2024


Prof. Dr. Fabio Barbour Scott
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro


Viviane de Souza Magalhães
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

7.2. Anexo 2

Questionário Projeto Doutorado Piodermite Dermatológica

1. ANAMNESE DERMATOLÓGICA / HISTÓRICO CLÍNICO

Queixa principal/ histórico:

Data de início das manifestações:

Primeira ocorrência ou já teve manifestações similares anterior:

Fez uso de antibioticoterapia anterior – Sim () Não ()

Oral () Tópico () Ambos () – Qual/ Quais: Por quanto tempo/
dose:

Há prurido: () Leve () Moderado () Intenso

1.2 Critérios de Favrot

Aparecimento dos sinais antes dos 3 anos de vida – Sim () Não ()

Cão que vive maior parte do tempo dentro de casa – Sim () Não ()

Prurido responsivo a corticoterapia – Sim () Não ()

Prurido como primeiro sinal e somente após lesões – Sim () Não ()

Extremidades dos membros torácicos afetadas – Sim () Não ()

Pavilhões auriculares afetados – Sim () Não ()

Margens auriculares não afetadas – Sim () Não ()

Área dorso-lombar não afetada – Sim () Não ()

2.2 Tipo de lesão dermatológica:

() Alopecia () Eritema () Erosão () Úlcera () Crostas

Melicericas () Crostas Hemorrágicas ()

Descamação () Papulas () Nódulo () Tumor ()

Vesícula () Bolha () Pústula () Mácula ()

Hiperpigmentação () Despigmentação () Hiperkeratose ()

Lignificação () Colaretes epidérmicos () Comedo

Otite - Sim () Não ()

() Ceruminosa () Purulenta () Eczematosa () Hiperplásica ()
Estenosante

3. EXAMES COMPLEMENTARES

3.1 Citologia cutânea - Pústula () Colarete epidérmico ()

3.1.1 Inflamação () Cocos Fagocitados () Bastonetes () Malassezia ()

Obs:

3.1.2 Citologia Otológica:

Inflamação () Cocos Fagocitados () Bastonetes () Malassezia

() Mista

Obs:

3.2 Cultura antibiograma - Pústula () Colarete epidérmico ()

Obs:

7.3. Anexo 3



TERMO DE ANUÊNCIA DE USO DA ÁREA

Seropédica, 10/02/2022

À Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Veterinária da UFRRJ,

Informo que a Direção do Hospital Veterinário (HV), está ciente que o professor/responsável Julio Israel Fernandes desenvolverá suas atividades/ações de título "PIODERMITES RECIDIVANTES EM CÃES ATÓPICOS COMO FONTE DE INFECÇÃO PARA HUMANOS", no período de 03/2022 a 03/2024, durante a rotina de atendimento clínico no Hospital Veterinário. Estando suas atividades delineadas de forma a atender as normas internas do HV.

Felipe Delorme Azevedo - Diretor do Hospital Veterinário