

COLONIZAÇÃO E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *Staphylococcus* spp. EM GATOS SAUDÁVEIS E INTERNADOS EM UMA CLÍNICA VETERINÁRIA

Ana Carolina Coelho Costa^{1*}, Clara Alcântara Lara de Mesquita¹, Thayanne Gabryelle Viana de Souza², Victor Santos do Amarante²; Rafael Fariglio Clark Xavier², Rodrigo Otávio Silveira Silva³.

¹Discente no Curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG – Belo Horizonte/MG – Brasil – *Contato: carolcoelhoacc568123@gmail.com

²Discente no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Belo Horizonte/MG – Brasil

³Docente do Curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG – Belo Horizonte/MG – Brasil

INTRODUÇÃO

O gênero *Staphylococcus* é conhecido por colonizar uma ampla variedade de hospedeiros domésticos, sendo um membro importante da microbiota da pele e mucosas de humanos e animais¹. Bactérias pertencentes a este gênero podem atuar como patógenos oportunistas em diversos quadros infecciosos tanto em indivíduos hígidos quanto em pacientes imunocomprometidos². Em felinos domésticos, os estafilococos podem colonizar pele, membrana mucosa da cavidade nasal, oral e ânus sem causar infecção^{2,3}. Além disso, felinos podem albergar estafilococos resistentes à metilina (MRS), isolados multirresistentes e que tornam o tratamento de quadros de infecção por *Staphylococcus* sp. extremamente desafiadores³.

Essa ampla resistência tem relação com a aquisição de um elemento genético móvel nomeado “Cassete Cromossômico Estafilocócico *mec*” (SCC*mec*). Nesse cassete, encontra-se o gene *mecA*, que concede as bactérias resistência a todos os antimicrobianos beta-lactâmicos^{1,3}, além de também comumente levarem a resistência a outras classes de antimicrobianos, como fluoroquinolonas, aminoglicosídeos e macrolídeos^{1,3}.

Entre as espécies mais relevantes para pequenos animais, destaca-se *Staphylococcus pseudintermedius*, frequente causador de quadros infecciosos e que possui marcante facilidade na aquisição do gene *mecA* (MRSP - *S. pseudintermedius* resistentes à metilina)⁴. Outros estafilococos também possuem a capacidade de tornarem metilina resistente, como *S. haemolyticus*, importante patógeno em infecções humanas, sobretudo em recém-nascidos⁵. Apesar da crescente importância da resistência antimicrobiana, há poucos estudos sobre a caracterização de espécies estafilocócicas em gatos⁶, principalmente com relação a resistência antimicrobiana e espécies colonizadoras^{6,7}. Portanto, o objetivo do presente estudo foi isolar e identificar bactérias do gênero *Staphylococcus* sp. em gatos domésticos de residência e uma clínica, bem como analisar seu perfil de resistência antimicrobiana.

METODOLOGIA

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), sob o protocolo 287/2019. No total, foram coletadas amostras de 109 felinos, sendo 77 (70,6%) de gatos aparentemente saudáveis e 32 (29,3%) de gatos internados. Para tal, kits contendo swabes estéreis com meio Stuart (Olen, China), potes coletores e uma ficha clínica foram entregues aos tutores de gatos (grupo não hospitalizado) e aos veterinários da clínica veterinária parceira (animais hospitalizados). De cada felino, foram coletados dois swabes, um oral e um axilar. Após coleta, os swabes foram armazenados sob refrigeração e enviados para processamento no Laboratório de Bacterioses e Pesquisa da Escola de Veterinária da UFMG. As amostras foram cultivadas e as colônias sugestivas foram identificadas pela técnica de espectrometria de massa por desorção/ionização a laser assistida por matriz (MALDI-ToF)⁸. Os isolados com score <2,0 no MALDI-ToF foram submetidos à extração de DNA pelo método da guanidina⁹, seguido da realização do sequenciamento do gene *rpoB*¹⁰. A partir disso, os isolados identificados como *S. pseudintermedius* por MALDI-ToF foram confirmados por reação em cadeia da polimerase (PCR) monoplex para detecção do gene *nuc*¹¹.

O fluxograma do processamento realizado no laboratório se encontra na figura 1. Todos os isolados obtidos foram submetidos ao teste de disco-difusão (CLSI, 2021) para determinação dos seus perfis de resistência e sensibilidade antimicrobiana¹². Os seguintes antimicrobianos foram selecionados: oxacilina, cefoxitina, penicilina, ciprofloxacina, cloranfenicol, clindamicina, eritromicina, gentamicina, nitrofurantoina, rifampicina, sulfametoxazol-trimetoprima e tetraciclina. Os resultados foram interpretados de acordo com o *Clinical And Laboratory Standards*

Institute (CLSI)^{12,13}. Os isolados que apresentavam resistência a três ou mais classes antimicrobianas eram classificados como multirresistentes (MDR)¹⁴. Os isolados que apresentaram resistência a oxacilina ou a cefoxitina no método de disco-difusão foram submetidos à PCR para detecção do gene *mecA*¹⁵.

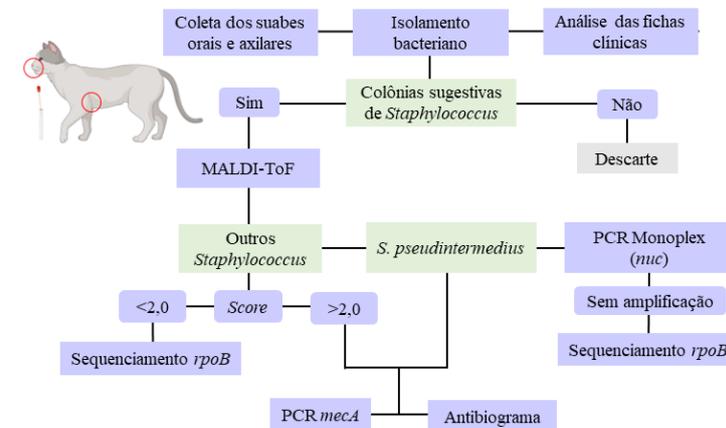


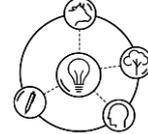
Figura 1. Fluxograma da metodologia adotada para processamento das amostras do presente estudo. Em lilás estão os processos realizados e em verde claro são os isolados obtidos (Fonte Autoral).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos 81 isolados de 58 gatos domésticos (53,2%), sendo 57 isolados de gatos não hospitalizados (70,3%) e 24 isolados de gatos hospitalizados (29,6%) (Tabela 1). *S. felis* foi a espécie mais comum em gatos amostrados em domicílios, enquanto *S. pseudintermedius* foi a espécie mais comum em gatos hospitalizados. *S. felis* é considerada a principal espécie estafilocócica compondo a microbiota de gatos saudáveis^{7,16}. Já *S. pseudintermedius* é comumente encontrado colonizando cães, sendo um importante causador de diversos quadros infecciosos. Em gatos, tanto a infecção quanto a colonização por essa espécie parece ser mais comum em gatos hospitalizados^{6,7,16}, corroborando os achados do presente estudo. De fato, *S. pseudintermedius* foi comumente isolado tanto do sítio oral como axilar em gatos hospitalizados. Já *S. felis* também foi a espécie mais comum do sítio oral de gatos não hospitalizados nesse estudo, contrastando um trabalho anterior que relatou *S. lentus* como a espécie mais identificada na cavidade oral de gatos saudáveis². A resistência a penicilina (61,7%) foi mais alta quando comparada a resistência aos antimicrobianos testados (p=0,0001), seguido de eritromicina e oxacilina (35,8% e 32%, respectivamente). Por outro lado, nitrofurantoina destacou-se pela maior frequência de isolados suscetíveis (p<0,0001) (Gráfico 1).

Tabela 1: Espécies estafilocócicas isoladas de gatos domésticos não hospitalizados e hospitalizados em uma clínica veterinária (Fonte Autoral).

Espécies isoladas	Não hospitalizado n (%)		Hospitalizados n (%)		Total n (%)
	Oral (%)	Axilar (%)	Oral (%)	Axilar (%)	
<i>S. felis</i>	13 (16,8)	1 (1,2)	2 (6,2)	2 (6,2)	18 (16,5)
<i>S. pseudintermedius</i>	0	2 (2,6)	3 (9,4)	3 (9,4)	8 (7,3)
<i>S. haemolyticus</i>	1 (1,2)	2 (2,6)	2 (6,2)	2 (6,2)	7 (6,4)
<i>S. epidermidis</i>	4 (5,1)	2 (2,6)	0	1 (3,2)	7 (6,4)
Outros <i>Staphylococcus</i>	21 (27,3)	11 (14,3)	4 (12,5)	5 (15,6)	41 (37,6)



IX Colóquio Técnico Científico de Saúde Única, Ciências Agrárias e Meio Ambiente

Vinte e um isolados (25,9%) foram classificados como multirresistentes (MDR), sendo a prevalência superior entre os isolados de gatos hospitalizados (52,3%). De fato, um gato hospitalizado apresentou entre 2 e 5 vezes mais chance de ser colonizado por um *Staphylococcus* sp. MDR que um gato amostrado em seu domicílio. Esse resultado sugere que a hospitalização como um fator de risco relevante para colonização de *Staphylococcus* sp. MDR em gatos, similar ao relatado previamente em cães^{17,18}. Esse achado tem relância para saúde pública pelo potencial de disseminação desses patógenos tanto intra-hospitalar quanto no retorno desses animais a seus domicílios^{18,20}. Ainda no contexto de resistência antimicrobiana, quinze isolados (18,5%) foram caracterizados como MRS, sendo cinco deles (33,3%) MRSP obtidos de gatos hospitalizados. Quatro (26,6%) *S. haemolyticus* resistentes à metilicina foram identificados, sendo três em gatos hospitalizados e um identificado em um gato amostrado em seu domicílio. A identificação dessa espécie como resistente à metilicina em gatos hospitalizados é importante, visto que esta possui caráter zoonótico e é prevalente tanto em humanos quanto em animais de companhia¹⁹. A detecção de *S. pseudintermedius* resistente à metilicina em gatos hospitalizados é semelhante a outros estudos sobre essa espécie em animais internados^{7,8}. Acredita-se que uma associação entre uso de antimicrobianos e intenso manejo por parte dos profissionais veterinários auxilia na disseminação desse agente entre os pacientes^{18,20}.

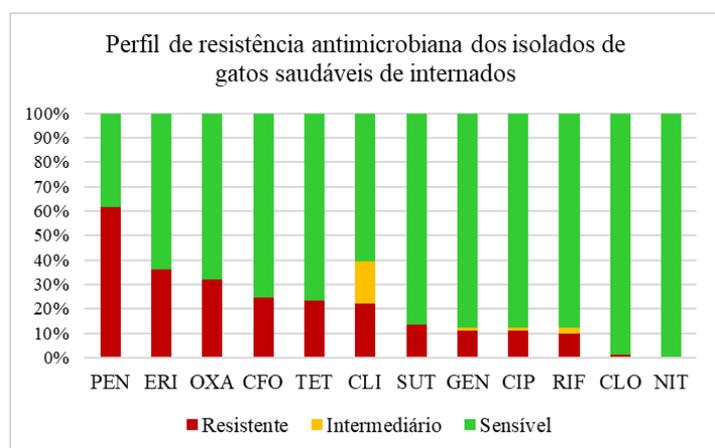


Gráfico 1. Perfil de resistência antimicrobiana dos isolados de *Staphylococcus* sp. de gatos saudáveis e internados em uma clínica veterinária (Fonte Autoral).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho demonstrou que gatos não hospitalizados podem ser colonizados por *S. felis* na microbiota oral e axilar, enquanto que *S. pseudintermedius* foi comumente associado a gatos hospitalizados. Em adição, houve uma clara associação entre multirresistência aos antibióticos e hospitalização dos gatos do presente estudo, sendo isolados estafilocócicos potencialmente patogênicos para animais e seres humanos. A detecção de MRSP em gatos hospitalizados enfatiza a importância do manejo correto de animais internados para a prevenção da disseminação desse patógeno entre os pacientes, bem como em profissionais veterinários.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABDULLAHI, Idris Nasir et al. Nasal *Staphylococcus aureus* and *S. pseudintermedius* carriage in healthy dogs and cats: a systematic review of their antibiotic resistance, virulence and genetic lineages of zoonotic relevance. **Journal of Applied Microbiology**, v. 133, n. 6, p. 3368-3390, 2022;
2. ROSSI, Ciro César et al. The oral microbiota of domestic cats harbors a wide variety of *Staphylococcus* species with zoonotic potential. **Veterinary microbiology**, v. 201, p. 136-140, 2017;
3. WEIß, Sonja et al. Identification and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* and *Staphylococcus pettenkoferi* from a small animal clinic. **Veterinary microbiology**, v. 167, n. 3-4, p. 680-685, 2013;

4. BHOOSHAN, Suneel; NEGI, Vikrant; KHATRI, Prabhat K. *Staphylococcus pseudintermedius*: An undocumented, emerging pathogen in humans. **GMS Hygiene and Infection Control**, v. 15, 2020;
5. PEREIRA, Paula Marcele Afonso et al. *Staphylococcus haemolyticus* disseminated among neonates with bacteremia in a neonatal intensive care unit in Rio de Janeiro, Brazil. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 78, n. 1, p. 85-92, 2014;
6. BIEROWIEC, Karolina et al. Prevalence of *Staphylococcus* species colonization in healthy and sick cats. **BioMed research international**, v. 2019, 2019;
7. BIEROWIEC, K. et al. Epidemiology of *Staphylococcus pseudintermedius* in cats in Poland. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 18898, 2021;
8. ASSIS, G.B.N.; et al. Use of MALDI-TOF Mass Spectrometry for the Fast Identification of Gram-Positive Fish Pathogens. **Frontiers in Microbiology**, v.8, p.1492, 2017. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01492;
9. PITCHER, D. G.; SAUNDERS, N. A.; OWEN, R. J. Rapid extraction of bacterial genomic DNA with guanidium thiocyanate. **Letters in Applied Microbiology**, v.8, p.151-156, 1989. DOI: 10.1111/j.1472-765X.1989.tb00262.x;
10. MELLMANN, A; et al. Sequencing and staphylococci identification. **Emerging Infectious Diseases**, v.12, p.333-336, 2006. DOI: 10.3201/eid1202.050962;
11. SASAKI, T., et al. Multiplex-PCR method for species identification of coagulase-positive staphylococci. **Journal of Clinical Microbiology**, v.48, p.765-769, 2010. DOI: 10.1128/JCM.01232-09;
12. CLSI. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animal. 5th ed. CLSI supplement VET01S. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 2020;
13. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing. 31st ed. CLSI supplement M100; ISBN 978-1-68440-105-5. **Clinical and Laboratory Standards Institute, USA**, 2021;
14. SWEENEY, Michael T. et al. Applying definitions for multidrug resistance, extensive drug resistance and pandrug resistance to clinically significant livestock and companion animal bacterial pathogens. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, n. 6, p. 1460-1463, 2018;
15. MURAKAMI, Kazuhisa et al. Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. **Journal of clinical microbiology**, v. 29, n. 10, p. 2240-2244, 1991;
16. OLDER, Caitlin E. et al. The feline skin microbiota: The bacteria inhabiting the skin of healthy and allergic cats. **PLoS One**, v. 12, n. 6, p. e0178555, 2017;
17. VIEGAS, Flávia Mello et al. Occurrence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus* spp. in diseased dogs in Brazil. **Plos one**, v. 17, n. 6, p. e0269422, 2022;
18. SANTANA, Jordana Almeida et al. Risk Factors, Genetic Diversity, and Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus* spp. Isolates in Dogs Admitted to an Intensive Care Unit of a Veterinary Hospital. **Antibiotics**, v. 12, n. 3, p. 621, 2023;
19. RUZAUSKAS, Modestas et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus haemolyticus* in companion animals: a cross-sectional study. **Annals of clinical microbiology and antimicrobials**, v. 13, p. 1-7, 2014;
20. ELMOSLEMANY, Ahmed et al. Diversity and risk factors associated with multidrug and methicillin-resistant staphylococci isolated from cats admitted to a veterinary clinic in eastern province, Saudi Arabia. **Antibiotics**, v. 10, n. 4, p. 367, 2021.

APOIO:

