



Ocorrência de *Staphylococcus pseudintermedius* resistentes à meticilina isolados do campo operatório de cadelas submetidas à ovariectomia

[Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from the operative field of female dogs submitted to ovariectomy]

"Artigo Científico/Scientific Article"

Sabrina Cândido **Trajano***, Breno Bezerra **Aragão**, José Givanildo da **Silva**, Kleyton Domingos de **Melo**, Rebeqa Menezes **Pontes**, Rinaldo Aparecido **Mota**, Grazielle Anahy de Sousa **Aleixo**

Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE, Brasil.

*Autor para correspondência/Corresponding author: E-mail: sabrina-vetbio@hotmail.com

Resumo

Objetivou-se avaliar a contaminação por *Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina no campo operatório de cadelas submetidas à ovariectomia. Foram coletadas 40 amostras de swabs de pele (um por animal). Posteriormente, essas amostras foram submetidas à análise microbiológica e molecular. *Staphylococcus* spp. foram identificados em 16/40 (40%) das amostras, sendo todos *Staphylococcus* coagulase-positivos. Na prova fenotípica de resistência aos antimicrobianos, 7/16 (43,75%) dos isolados foram resistentes à penicilina G, 8/16 (50%) à oxacilina, 2/16 (12,5%) à cefoxitina, 6/16 (37,5%) à cefalexina e 2/16 (12,5%) à amoxicilina com ácido clavulânico. Na avaliação de perfil genotípico, detectou-se o gene *mecA* em dois isolados e esses foram identificados através do MALDI-TOF como *Staphylococcus pseudintermedius*. Os dados obtidos revelaram o primeiro isolamento e identificação de *Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina isolados em cães no estado de Pernambuco, Brasil. O estudo corrobora a necessidade de monitorar o perfil de resistência a antimicrobianos utilizados na medicina veterinária e alerta para o risco que patógenos multirresistentes podem causar a saúde humana e animal.

Palavras-chave: cães; cirurgia eletiva; resistência antimicrobiana; MALDI-TOF.

Abstract

The objective was to evaluate the contamination by *Staphylococcus* spp. resistant to methicillin in the operative field of female dogs submitted to ovariectomy. Forty skin swab samples were collected (one per animal). Subsequently, these samples were submitted to microbiological and molecular analysis. *Staphylococcus* spp. were identified in 16/40 (40%) of the samples, all of which were coagulase-positive *Staphylococcus*. In the antimicrobial resistance phenotypic test, 7/16 (43.75%) of the isolates were resistant to penicillin G, 8/16 (50%) to oxacillin, to cefoxitin 2/16 (12.5%), to cephalexin 6 /16 (37.5%) and amoxicillin with clavulanic acid 2/16 (12.5%). In the genotypic profile evaluation, the *mecA* gene was detected in two isolates and these were identified through MALDI-TOF as *Staphylococcus pseudintermedius*. The data obtained revealed the first isolation and identification of *Staphylococcus* spp. methicillin-resistant strains isolated from dogs in the state of Pernambuco, Brazil. The study supports the need to monitor the resistance profile of antimicrobials used in veterinary medicine and alerts to the risk that multidrug-resistant pathogens can cause to human and animal health.

Keywords: dogs; elective surgery; antimicrobial resistance; MALDI-TOF.

Introdução

O uso de antimicrobianos como medida profilática na medicina veterinária é um importante

método na prevenção de Infecção do Sítio Cirúrgico (ISC), no entanto o uso indiscriminado está diretamente relacionado à seleção de bactérias

Recebido 24 de maio de 2022. Aceito 14 de agosto de 2022.

DOI: <https://doi.org/10.26605/medvet-v16n2-4986>

resistentes, razão pela qual deve ser utilizada de forma racional e justificada em cada situação (Ferraz et al., 2001).

Sabe-se que a pele do animal é a fonte mais comum de infecção, sendo as bactérias do gênero *Staphylococcus* as de maior importância na clínica médica e cirúrgica de animais de companhia (Cemal et al., 2022). Dessa forma, o conhecimento das espécies de microrganismos presentes no campo operatório assim como a sensibilidade desses agentes frente a antimicrobianos é uma importante medida preventiva de ISC (Fernando et al., 2015).

Apesar de culturas positivas para bactérias no campo operatório não indicarem quadros de infecção (Singh e Weese, 2017), na medicina humana, são descritos diferentes estudos associando a ISC com os microrganismos presentes no campo operatório (Alexiou et al., 2017; Birhanu e Endalamaw, 2020)

Entretanto, na Medicina Veterinária há poucos dados correlacionando esses fatores (Fernando et al., 2015). Ainda que a taxa de ISC nos animais seja semelhante a encontrada em humanos, variando entre 0,8% quando se trata de qualquer tipo de procedimento cirúrgico, 3,6% a 15,8% para cirurgias de implante ortopédico e 18,1% para cirurgias consideradas contaminadas (Singh e Weese, 2017).

Na medicina humana existe o monitoramento intensificado, o incentivo à prevenção e uso racional de antimicrobianos, no entanto, na Medicina Veterinária não há comissões de controle de infecção hospitalar (Benedict et al., 2008; Santos et al., 2012). Esse fato, faz com que na Medicina Veterinária, o uso da terapia antimicrobiana ainda seja controverso (Quessada et al., 2013), sendo necessário maior monitoramento no uso dos antimicrobianos para que haja controle efetivo da ISC e da resistência microbiana (Ferraz et al., 2001; Gagliardi et al., 2009).

Com isso, este estudo objetivou avaliar a contaminação por *Staphylococcus* spp. resistentes à metilina no campo operatório de cadelas submetidas à ovariectomia.

Material e Métodos

Amostragem

A amostragem deste estudo foi do tipo não probabilística por conveniência (Sampaio, 1998). O experimento foi realizado no setor de cirurgia do Hospital Veterinário da Universidade Federal

Rural de Pernambuco (HV/UFRPE) e no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas (LDIC) do Departamento de Medicina Veterinária (DMV) da mesma instituição.

Coleta de amostras e avaliação clínica dos animais

As coletas foram realizadas em 40 cadelas hípidas submetidas ao procedimento de ovariectomia (OSH) eletiva, sem predileção por raça. Os animais tinham idade entre um e seis anos e peso corpóreo entre sete e 13 quilos e foram submetidos à avaliação clínica para descartar doenças de pele, infecções e o risco cirúrgico. Foram realizados hemograma; bioquímico com dosagem sérica das enzimas alanina aminotransferase (ALT), aspartato transaminase (AST), fosfatase alcalina (FA), ureia e creatinina; eletrocardiograma e ultrassonografia abdominal. Os responsáveis pelas cadelas foram orientados a banhar os animais com até 24 horas antes do procedimento cirúrgico.

No dia da cirurgia, foi realizada a tricotomia e remoção dos pelos livres com chumaço de gaze estéril, posteriormente, foi friccionado um *swab* estéril embebido em solução de caldo *Müller-Hinton* (Merck, Germany) no campo operatório. Foram coletados um total de 40 *swabs* de campo operatório, sendo um por animal.

Todas as coletas foram realizadas por uma única pessoa devidamente paramentada. A sala cirúrgica foi mantida com a porta fechada para impedir a entrada de pessoas que não faziam parte da equipe e assim, minimizar a contaminação do ambiente e o risco de infecção para o paciente e equipe cirúrgica.

Após as coletas, os *swabs* foram colocados em tubos estéreis contendo 2 mL de caldo *Müller-Hinton* (Merck, Germany) devidamente identificados e enviados imediatamente para o LDIC, para realização da análise microbiológica.

Análise microbiológica

Os *swabs* foram semeados em Ágar Base acrescido de sangue ovino a 7%, por meio da técnica de esgotamento em estrias e, posteriormente, incubadas a 35 - 37 °C por 24 a 48 horas para o isolamento de *Staphylococcus* spp. Decorrido esse período, foi realizada a técnica de coloração de Gram para determinar a morfologia dos agentes bacterianos (Stinghen et al., 2002).

Após a avaliação morfotintorial, os isolados de *Staphylococcus* spp. foram inoculados em tubos contendo caldo *Brain Heart Infusion* (BHI), a 35–

37°C durante 24 horas. Decorrido esse período, foram realizadas as provas bioquímicas de coagulase e catalase (Silva et al., 2017).

Avaliação do perfil de resistência aos antimicrobianos in vitro

Para a avaliação do perfil de resistência aos antimicrobianos *in vitro*, foi realizada a técnica de difusão em disco em ágar Mueller-Hinton (Merck, Germany) dos isolados (Bauer et al., 1996). Para realização do teste, foram usados os discos impregnados com amoxicilina + ácido clavulânico (20/10 µg), oxacilina (1 µg), penicilina G (10 µg), cefalexina (30 µg) e cefoxitina (30 µg). A zona de inibição foi interpretada após 24 horas de incubação de acordo com o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2015).

Pesquisa de gene de resistência e sequenciamento

Após a avaliação do perfil de resistência fenotípico *in vitro*, os isolados de *Staphylococcus* spp. foram submetidos à pesquisa do gene *mecA* pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Os isolados foram plaqueados novamente em Ágar Base acrescido de 7% de sangue ovino e incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas. Após esse período, foi empregada a técnica de extração térmica para obtenção do DNA de acordo com a metodologia descrita por Malik et al. (2007), em seguida foi quantificado e analisado quanto ao grau de pureza em um espectrofotômetro com realização das leituras em absorvância de 230 nm, 260 nm e 280 nm.

Para pesquisa do gene *mecA* foram utilizados os oligonucleotídeos 2W (5'- TGG-TAT-GTG-GAA-GTT-AGA-TTG-GGA-T-3') e 2X (5'-CTA-ATC-TCA-TAT-GTG-TTC-CTG-TAT-TGG-C-3') de acordo com a metodologia proposta por Nakagawa et al. (2005). Os produtos amplificados por PCR foram purificados usando o *Qiaquick Purification Kit* (Qiagen®), seguindo as recomendações do fabricante, e encaminhados para sequenciamento no *Center of Biological Sciences* (CCB) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Foi então realizado um sequenciamento bidirecional por protocolos padrão usando o *BigDye Terminator* v3.1 Kit de sequenciamento de ciclo (Applied Biosystems®), seguindo as recomendações do fabricante, usando uma placa de 96 poços e ciclado em um termociclador Veriti (Applied Biosystems®) por 40 ciclos de 15s a 96°C, 15s a 56°C e 4min a 60°C em um

sequenciador ABI-PRISM 3130 automatizado (Applied Biosystems®). Posteriormente, as sequências foram analisadas com auxílio do software Staden® (Hall, 1999) para comparação com o banco de dados encontrado no Centro Nacional de Informação Biotecnológica (NCBI) usando a ferramenta básica de pesquisa de alinhamento local (BLAST).

MALDI-TOF

Os isolados portadores do gene *mecA* foram encaminhados para o Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE) e submetidos à técnica de *Matrix Associated Laser Desorption-Ionization - Time of Flight* (MALDI-TOF) para identificação da espécie, para isso foi utilizada a metodologia descrita por Wolters et al. (2011).

Estatística

Todos os resultados obtidos foram expressos em frequências absolutas e relativas (Field, 2009).

Resultados

Foram isoladas e identificadas espécies do gênero *Staphylococcus* em 16/40 (40%) dos *swabs* coletados, todas classificadas como *Staphylococcus* coagulase-positivos (SCP). A avaliação do perfil de resistência aos antimicrobianos demonstrou um maior percentual de sensibilidade para todos os antimicrobianos, com exceção da cefalexina (Tabela 1).

Tabela 1. Perfil geral de resistência fenotípica aos antimicrobianos de *Staphylococcus* spp. isolados em sítio cirúrgico

Princípio ativo	Interpretação das zonas		
	Sen	Int	Res
Amoxicilina + ácido clavulânico	11/16	3/16	2/16
Cefalexina	0/16	10/16	6/16
Cefoxitina	12/16	2/16	2/16
Oxacilina	7/16	1/16	8/16
Penicilina G	9/16	0/16	7/16

*Sen= sensível; Int= intermediária; Res= resistente.

Dos isolados de SCP, 8/16 (50%) apresentaram resistência à oxacilina, seis apresentaram resistência a no mínimo três dos princípios ativos testados. Entre os isolados resistentes à oxacilina, sete também apresentaram resistência à penicilina G, seis à cefalexina, dois a CFO e à AMC. Ainda, um deles apresentou resistência a todos os antimicrobianos testados e o outro foi sensível apenas à cefoxitina. Oxacilina, penicilina G e cefalexina foram os antimicrobianos

que apresentaram maior taxa de resistência aos isolados SCP, respectivamente, 50%, 43,7% e 37,5% (Tabela 2).

Dos 16 isolados de SCP, 2/16 (12,5%) foram portadores do gene *mecA*. Esses tiveram o produto amplificado por PCR submetido ao

sequenciamento que demonstrou 97% de similaridade com cepas portadoras do gene *mecA*.

Os dois isolados portadores do gene *mecA* foram identificados como *Staphylococcus pseudintermedius* pelo MALDI-TOF.

Tabela 2. Perfil de resistência fenotípica dos isolados de *Staphylococcus* coagulase-positivos.

Isolado (Gram +)	PENG (43,75%)*	OXA (50%)*	CFO (12,5%)*	CFE (37,5%)*	AMC (12,5%)*
SCP 1	S	S	S	S	S
SCP 2	S	S	S	S	S
SCP 3	S	S	S	S	S
SCP 4	<u>R</u>	<u>R</u>	I	<u>R</u>	S
SCP 5	S	<u>R</u>	S	S	S
SCP 6	S	I	S	S	S
SCP 7	S	S	S	S	S
SCP 8	<u>R</u>	R	S	R	I
SCP 9	<u>R</u>	<u>R</u>	R	R	R
SCP 10	<u>R</u>	R	S	<u>R</u>	<u>R</u>
SCP 11	S	S	S	S	S
SCP 12	S	S	S	S	S
SCP 13	S	S	S	S	S
SCP 14	R	R	I	R	I
SCP 15	<u>R</u>	<u>R</u>	R	<u>R</u>	I
SCP 16	<u>R</u>	R	S	S	S

*(%) porcentagem de resistência; S = Sensível; I = Intermediário; R = Resistente; R = Sem formação de halo; PENG = penicilina G; OXA = Oxacilina; CFO = Cefoxitina; CFE = Cefalexina; AMC = Amoxicilina + ácido clavulânico.

Discussão

Dentre os patógenos mais isolados em cães, destacam-se as bactérias do gênero *Staphylococcus* (Bourguignon et al., 2016). Na Medicina Veterinária de pequenos animais, esses microrganismos estão frequentemente associados às infecções supurativas. Fernando et al. (2015) relataram que a maioria dos casos de ISC encontrada no centro cirúrgico de pequenos animais do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Maringá foi causada por *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp.

Em pesquisa realizada por Murta et al. (2015), isolados de *Staphylococcus* spp. obtidos de cães com ISC exibiram resistência aos antimicrobianos: ampicilina, cefalexina, cefalotina, ciprofloxacina, gentamicina e tetraciclina. Devido à importância clínica, o teste de sensibilidade aos antimicrobianos foi realizado em todos os isolados *Staphylococcus* coagulase-positivo deste estudo.

É importante mencionar que os animais avaliados (40 cadelas) não fizeram uso de antimicrobianos até 30 dias antes das coletas e, de acordo com o relato dos tutores, a maioria sem antibioticoterapia prolongada até o momento da cirurgia. Para realização da OSH eletiva nas

cadelas do grupo experimental dessa pesquisa, não foram prescritos antimicrobianos no período pré-operatório, uma vez que de acordo com Brown et al. (1997) e Whitem et al. (1999), a antibioticoprofilaxia não é recomendada para procedimentos cirúrgicos classificados como limpos, por apresentar baixo risco de contaminação (menos que 5%), exceto se a cirurgia tiver duração acima de 90 minutos, o que não ocorreu no presente estudo.

Os resultados demonstraram que ocorreu uma alta taxa de resistência nos isolados SPC, principalmente à penicilina G e à cefalexina. E, provavelmente, que diversos mecanismos de resistência aos β -lactâmicos sejam responsáveis (Zhang et al., 2001).

A hiperprodução de penicilinas pode acarretar resistência a antimicrobianos mais estáveis, como a meticilina (Brown, 2001), isso pode explicar a alta frequência de SPC resistentes à oxacilina. Dois isolados (SCP 9 e SCP 15) apresentaram resistência à oxacilina e à cefoxitina e, de acordo com *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2015), *Staphylococcus* spp. que apresentem resistência a esses antimicrobianos são considerados resistentes a outros β -lactâmicos de uso clínico (CLSI, 2015).

Além de exibirem resistência fenotípica à oxacilina e à cefoxitina, os dois isolados são portadores do gene *mecA*, determinante genético responsável pela resistência aos β -lactâmicos, com exceção das cefalosporinas anti-MRS (MRS - *Staphylococcus* resistentes à meticilina) como a ceftarolina e ceftobiprole, ambas pertencentes a 5ª geração de cefalosporinas (Bond e Loeffler, 2012; File et al., 2012).

O *mecA* é responsável pela codificação das proteínas de membrana denominadas PBP2' ou PBP2a. Essas se ligam aos β -lactâmicos e sofrem alteração conformacional, não sofrendo mais a ação do fármaco, uma vez que são refratárias e ainda que ligadas ao fármaco, desempenham sua função (Guignard et al., 2005). Dessa forma, as cepas de *Staphylococcus* resistentes à meticilina são consideradas, em todo o globo, um problema de saúde pública (Balakuntla et al., 2014).

A desativação enzimática de β -lactâmicos é um dos vários mecanismos de resistência utilizados pelos *Staphylococcus* spp. Como estratégia terapêutica para potencializar o efeito dos β -lactâmicos e inativar as possíveis penicilinas, é realizada a associação de β -lactâmicos e ácido clavulânico (Drawz e Bonomo, 2010). Essa potencialização é exibida nos resultados do antibiograma da amoxicilina associada ao ácido clavulânico, que foi um dos antimicrobianos mais eficientes neste estudo.

Esse é o primeiro relato de ocorrência de *Staphylococcus* spp. resistente à meticilina (fenotipicamente e geneticamente) isolados de cães em Pernambuco. Investigações sugerem que seres humanos portadores assintomáticos de cepas *Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina possam ser os principais responsáveis pela contaminação de ambientes, vestimentas, além de diversos equipamentos como bombas de infusão, computadores, ar-condicionado, bem como infectando pacientes humanos e animais apenas pelo contato físico (Weese et al., 2006; Hogan et al., 2019).

Além disso, os animais domésticos tendem a ser infectados por cepas de MRS que colonizam portadores assintomáticos humanos, desse modo, constituindo reservatórios dessas bactérias (Loeffler et al., 2005; Weese et al., 2006). Outros estudos indicaram que os animais sejam reservatórios de *Staphylococcus* spp. portadores do gene *mecA* (Schnellmann et al., 2006; Laura et al., 2021).

Os dois isolados portadores do gene *mecA* foram identificados como da espécie *S. pseudintermedius*. Há relatos de que outras espécies de *Staphylococcus* também podem adquirir resistência à meticilina, como *S. intermedius* e *S. schleiferi* (Hanselman et al., 2009). Dentre as espécies, *S. pseudintermedius* é a mais frequente isolada em cães (Devriese et al., 2009), além disso, em pesquisa realizada no Brasil, *S. pseudintermedius* foi responsável por casos de pioderma e foram identificados isolados portadores do gene *mecA* (Bourguignon et al., 2016).

Apesar de *S. pseudintermedius* resistentes à meticilina serem importantes patógenos causadores de infecções em cães (Międzobrodzki et al., 2010; Freitas et al., 2013), não houve casos de ISC nos animais avaliados nesse estudo. Mesmo sem causar infecções, a detecção de *S. pseudintermedius* resistentes à meticilina em animais sadios, revela um importante dado epidemiológico, pois *Staphylococcus* spp. são reconhecidos mundialmente pela capacidade evolutiva de adquirir genes interespecies (Chambers e Deleo, 2009), especialmente, devido às 13 regiões do cassete cromossomal de *Staphylococcus* (SCC*mec*), que possibilita portar e/ou trocar genes responsáveis pela resistência aos antimicrobianos (Baig et al., 2018).

Os mecanismos de resistência aos antimicrobianos pelos microrganismos têm limitado o número disponível de drogas eficazes, reduzindo as intervenções bem-sucedidas nos tratamentos das infecções bacterianas (Douafer et al., 2019). A escolha dos antimicrobianos muitas vezes é realizada pelo espectro de ação, experiência profissional, apelo comercial ou custo (Ribeiro et al., 2006).

O uso inadequado dos antimicrobianos na medicina humana e veterinária colabora de forma significativa para a seleção de bactérias com genes de resistência a antimicrobianos (Watkins e Bonomo, 2020), o que torna a realização do antibiograma essencial para determinar uma abordagem terapêutica mais adequada para na clínica do paciente e eficaz como medida para evitar a seleção de bactérias resistentes (Duque-Estrada et al., 2003; Pedersen et al., 2007). O monitoramento molecular de genes de resistência é uma importante ferramenta epidemiológica para determinar os patógenos em animais de companhia, pois dimensiona cepas que possam causar riscos à saúde humana e animal como

Staphylococcus resistente à meticilina (Bruce et al., 2022).

Conclusão

Os resultados demonstram a ocorrência de *Staphylococcus pseudintermedius* resistente à meticilina em cadelas sadias submetidas à ovariosterectomia. Além disso, destaca-se a necessidade de monitoramento do perfil de resistência aos princípios ativos, visto que muitos microrganismos antes susceptíveis aos antimicrobianos usualmente utilizados na medicina veterinária se tornaram resistentes aos mesmos princípios ativos. O acompanhamento clínico de animais de companhia é fundamental para prevenir e controlar infecções por patógenos multirresistentes zoonóticos que representam um grave risco para saúde humana e animal.

Conflito de Interesse

Os autores declaram que este estudo não apresenta conflito de interesses.

Comitê de Ética

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco, sob a licença de número 107/2017.

Referências

- Alexiou, K.; Drikos, I.; Terzopoulou, M.; Sikalias, N.; Ioannidis, A.; Economou, N. A prospective randomised trial of isolated pathogens of surgical site infections (SSI). **Annals of Medicine and Surgery**, 21: 25-29, 2017.
- Baig, S.; Johannesen, T.B.; Overballe-Petersen, S.; Larsen, J.; Larsen, A.R.; Stegger, M. Novel SCCmec Type XIII (9A) Identified in an ST152 Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Infection, Genetics and Evolution**, 61: 74-76, 2018.
- Balakuntla, J.; Prabhakara, S.; Arakere, G. Novel rearrangements in the staphylococcal cassette chromosome *mec* type V elements of Indian ST772 and ST672 methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains. **PLoS One**, 9(4): 1-8, 2014.
- Bauer, A.; Kirby, W.M.; Sherris, J.C.; Turck, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, 45(4): 493-496, 1996.
- Birhanu, Y.; Endalamaw, A. Surgical site infection and pathogens in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis. **Patient Safety in Surgery**, 14: 1-8, 2020.
- Benedict, K.M.; Morley, P.S.; Metre, D.C.V. Characteristics of biosecurity and infection control programs at veterinary teaching hospitals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 233(5): 767-73, 2008.
- Bond, R.; Loeffler, A. What's happened to *Staphylococcus intermedius*? Taxonomic revision and emergence of multi-drug resistance. **Journal of Small Animal Practice**, 53(3): 147-54, 2012.
- Bourguignon, E.; Viçosa, G.N.; Corsini, C.M.M.; Moreira, M.A.S.; Nero, L.A.; Conceição, L.G. Description of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* from canine pyoderma in Minas Gerais state, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 68(2): 299-306, 2016.
- Brown, D.C.; Conzemius, M.G.; Shofer, F.; Swann, H. Epidemiologic evaluation of post operative wound infections in dogs and cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 210(9): 1302-26, 1997.
- Brown, D.F.J. Detection of methicillin/oxacillin resistance in staphylococci. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**, 48: 65-70, 2001.
- Bruce, S.A.; Smith, J.T.; Mydosh, J.L.; Ball, J.; Needle, D.B.; Gibson, R.; Andam, C.P. Shared antibiotic resistance and virulence genes in *Staphylococcus aureus* from diverse animal hosts. **Scientific Reports**, 12(1): 4413, 2022.
- Cemal, A.M.; Kayla, S.; Trevor, R.; Jessica, O.; Orhan, S. Prevalence, mechanism, genetic diversity, and cross-resistance patterns of methicillin-resistant *Staphylococcus* isolated from Companion Animal Clinical Samples submitted to a Veterinary Diagnostic Laboratory in the Midwestern United States. **Antibiotics**, 11(5): 609, 2022.
- Chambers, H.F.; Deleo, F.R. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. **Nature Reviews Microbiology**, 7(9): 629-641, 2009.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 25th ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015. Disponível em:

- <<https://www.facm.ucl.ac.be/intranet/CLSI/CLSI2015-M100-S25.unlocked.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2022.
- Devriese, L.A.; Hermans, K.; Baele, M.; Haesebrouck, F. *Staphylococcus pseudintermedius* versus *Staphylococcus intermedius*. **Veterinary Microbiology**, 133:206-207, 2009.
- Douafer, H.; Andrieu, V.; Phanstiel, O.; Brunel, J.M. Antibiotic Adjuvants: Make Antibiotics Great Again! **Journal of Medicinal Chemistry**, 62(19): 8665-8681, 2019.
- Drawz, S.M.; Bonomo, R.A. Three decades of β -Lactamase inhibitors. **Clinical Microbiology Reviews**, 23(1): 160-201, 2010.
- Duque-Estrada, E.O.; Duarte, M.R.; Rodrigues, D.M.; Raphael, M.D. Infections in pediatric surgery: a study of patients in a University Hospital. **Pediatric Surgery International**, 19(6): 436-438, 2003.
- Fernando, F.S.; Silva, K.R.; Vignoto, V.K.C.; De Conti, J.B.; Pachaly, J.R.; Wosiacki, S.R. Avaliação microbiana de sítio cirúrgico relacionado ao tempo de procedimento e resistência a antimicrobianos em cães e gatos. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, 2(1): 26-33, 2015.
- Ferraz, E.M.; Ferraz, A.A.B.; Bacelar, T.S.; Albuquerque, H.S.T.D.; Vasconcelos, M.D.M.M.; Leão, C.S. Controle de infecção em cirurgia geral - resultado de um estudo prospectivo de 23 anos e 42.274 cirurgias. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, 28(1): 17-26, 2001.
- Field, A. **Descobrimo a estatística usando o SPSS**. 2nd ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 684p.
- File, T.M.; Wilcox, M.H.; Stein, G.E. Summary of ceftaroline fosamil clinical trial studies and clinical safety. **Clinical Infectious Diseases**, 55(3): 173-180, 2012.
- Freitas, A.B.; Pereira, J.Q.; Teixeira, D.R.; Moura, M.A. *Staphylococcus aureus* resistentes em animais de companhia. **Revista Eletrônica Novo Enfoque**, 16(16): 95-101, 2013.
- Gagliardi, A.R.; Eskicioglu, C.; McKenzie, M.; Fenech, D.; Nathens, A.; McLeod, R. Identifying opportunities for quality improvement in surgical site infection prevention. **American Journal of Infection Control**, 37(5): 398-402, 2009.
- Guignard, B.; Entenza, J. M.; Moreillon, P. β -lactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Current Opinion in Pharmacology**, 5: 479-489, 2005.
- Hall, T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, 41:95-98, 1999.
- Hanselman, B.A.; Kruth, S.A.; Rousseau, J.; Weese, J.S. Coagulase positive staphylococcal colonization of humans and their household pets. **Canadian Veterinary Journal**, 50(9): 954-958, 2009.
- Hogan, P.G.; Mork, R.; Boyle, M.G.; Muenks, C.E.; Morelli, J.J.; Thompson, R.M.; Sullivan, M.L.; Gehlert, S.J.; Merlo, J.R.; McKenzie, M.G.; Wardenburg, J.B.; Rzhetsky, A. Interplay of personal, pet, and environmental colonization in households affected by community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Infection**, 78(3): 200-207, 2019.
- Laura, R-R; Carmen, S.; Sara, C.; Carmelo, O.; Myriam, Z.; Carmen, T.; Elena, G-S. *S. pseudintermedius* and *S. aureus* lineages with transmission ability circulate as causative agents of infections in pets for years. **BMC Veterinary Research**, 17(1): 42, 2021.
- Loeffler, A.; Boag, A.K.; Sung, J.; Lindsay, J.A.; Guardabassi, L.; Dalsgaard, A.; Smith, H.; Stevens, K.B.; Lloyd, D.H. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 56(4): 692-697, 2005.
- Malik, S.; Christensen, H.; Peng, H.; Barton, M.D. Presence and diversity of the b-lactamase gene in cat and dog staphylococci. **Veterinary Microbiology**, 123: 162-168, 2007.
- Międzobrodzki, J.; Kasproicz, A.; Bialecka, A.; Jawordka, O.; Polakowska, K.; Wladyka, B.; Dubin, A. The first case of a *Staphylococcus pseudintermedius* infection after joint prosthesis implantation in a dog. **Polish Journal of Microbiology**, 59(2): 133-135, 2010.
- Murray, P.R.; Baron, E.J.; Jorgensen, J.H.; Tenover, M.A.; Tenover, H. **Manual of Clinical Microbiology**. 6th ed. Washington: ASM Press, United States, 2003. p. 354-383.
- Murta, A.R.; Abreu Jr., N.B.; Oliveira, L.S.; Carlo Reis, E.C.; Valente, F.L.; Gonçalves, G.P.; Eleotério, R.B.; Borges, A.P.B. Perfil epidemiológico e análise microbiológica da infecção de sítio cirúrgico em pacientes

- humanos e animais de companhia. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 35(7): 652-658, 2015.
- Nakagawa, S.; Taneike, I.; Mimura, D.; Iwakura, N.; Nakayama, T.; Emura, T.; Kitatsuji, M.; Fujimot, A.; Yamamoto, T. Gene sequences and specific detection for Panton-Valentine leukocidin. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 328: 995-1002, 2005.
- Pedersen, K.; Pedersen, K.; Jensen, H.; Finster, K.; Jensen, V.F.; Heuer, O.E. Occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from diagnostic sample from dogs. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 60(4): 775-781, 2007.
- Quessada, A.M.; Dantas, D.A.S.L.; Lima, W.C.; Rodrigues, M.C.; Sousa Neto, J.B. Analysis of use of antimicrobials in elective ovariohysterectomy of bitches. **Encyclopedia Biosphere**, 9(17): 184, 2013.
- Ribeiro, M.G.; Costa, E.O.; Leite, D.S.; Langoni, H.; Garino Júnior, F.; Victória, C.; Listoni, F.J.P. Fatores de virulência em linhagens de *Escherichia coli* isoladas de mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 58(5): 724-731, 2006.
- Sampaio, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.
- Santos, W.G.; Diniz, R.C.; Carvalho, I.A.; Freitas, P.M.C.F. Infecção hospitalar em medicina veterinária. **Revista Veterinária e Zootecnia**, 21: 10-15, 2012.
- Schnellmann, C.; Gerber, V.; Rossano, A.; Jaquier, V.; Panchaud, Y.; Doherr, M.G.; Thomann, A.; Straub, R.; Perreten, V. Presence of New mecA and mph(C) variants conferring antibiotic resistance in *Staphylococcus* spp. isolated from the skin of horses before and after clinic admission. **Journal Of Clinical Microbiology**, 44(12): 4444-4454, 2006.
- Silva, N.; Junqueira, V.C.A.; Silveira, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5ª ed. São Paulo: Varela, 2017. p. 63-72.
- Singh, A.; Weese, J.S. **Wound infections and antimicrobial use**. In: Tobias, K.M.; Johnston, S.A. (Eds.). **Veterinary surgery: small animal**. 2nd ed. St. Louis: Elsevier, 2017. p. 530-549.
- Stinghen, A.E.M.; Albini, C.A.; Souza, H.A.P.H.M. **Coloração de gram: como fazer, interpretar e padronizar**. Microscience, 2002. 70 p.
- Watkins, R.R.; Bonomo, R.A. Overview: the ongoing threat of antimicrobial resistance. **Infectious Disease Clinics of North America**, 34(4): 649-658, 2020.
- Weese, J.S.; Dick, H.; Willey, B.M.; McGeer, A.; Kreiswirth, B.N.; Innis, B.; Low, D.E. Suspected transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and in the household. **Veterinary Microbiology**, 115: 145-155, 2006.
- Whittem, T.L.; Johnson, A.L.; Smith, C.W.; Schaeffer, D.J.; Coolman, B.R.; Averill, S.M.; Cooper, T. K.; Merkin, G.R. Effect of perioperative prophylactic antimicrobial treatment in dogs undergoing elective orthopedic surgery. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 215(2): 212-226, 1999.
- Wolters, M.; Rohdea, H.; Maier, T.; Belmar-Campos, C.; Frankea, G.; Scherpea, S.; Aepfelbacher, M.; Christner, M. MALDI-TOF MS fingerprinting allows for discrimination of major methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages. **International Journal of Medical Microbiology**, 301: 64-68, 2011.
- Zhang, H.Z.; Hackbarth, C.J.; Chansky, K.M.; Chambers, H.F. A proteolytic transmembrane signaling pathway and resistance to beta-lactams in staphylococci. **Science**, 291: 1962-1965, 2001.