



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

INFECÇÃO CUTÂNEA NO DOENTE ATÓPICO CANINO

Diana Branco Vieira

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Henrique Duarte Correia

Doutora Maria Constança Matias
Ferreira Pomba

Doutora Berta Maria Fernandes
Ferreira São Braz

Dr^a Ana Mafalda Lourenço Martins

ORIENTADORA

Doutora Maria Constança Matias
Ferreira Pomba

CO-ORIENTADORA

Dr^a Ana Mafalda Lourenço Martins

2008

LISBOA

Esta dissertação foi realizada no âmbito do projecto CIISA Atopia 61.



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

INFECÇÃO CUTÂNEA NO DOENTE ATÓPICO CANINO

Diana Branco Vieira

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM
“INFECÇÃO CUTÂNEA NO DOENTE ATÓPICO CANINO”

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Henrique Duarte Correia

Doutora Maria Constança Matias
Ferreira Pomba

Doutora Berta Maria Fernandes
Ferreira São Braz

Dr^a Ana Mafalda Lourenço Martins

ORIENTADORA

Doutora Maria Constança Matias
Ferreira Pomba

CO-ORIENTADORA

Dr^a Ana Mafalda Lourenço Martins

2008

LISBOA

Agradecimentos

Quero manifestar o meu especial agradecimento à minha orientadora Professora Doutora Maria Constança Matias Ferreira Pomba pelo que me ensinou e pela disponibilidade, apoio, celeridade e conselhos, e à minha co-orientadora Dr.^a Ana Mafalda Lourenço Martins pelos conhecimentos e bom senso transmitidos, pela sua ajuda e amizade ao longo de todo o meu estágio.

Ao Professor Doutor José Henrique Duarte Correia pela possibilidade de elaborar este estudo no âmbito do projecto CIISA Atopia 61.

A todos os médicos veterinários (em especial ao Dr. Gonçalo Vicente), auxiliares e funcionários do Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária e da Clínica Veterinária Oncovet e aos meus colegas estagiários.

À minha mãe, às minhas irmãs e ao meu namorado pelo apoio incondicional e pela ajuda não só na elaboração deste trabalho, mas ao longo de todo o meu percurso.

Resumo – Infeção cutânea no doente atópico canino

Nesta dissertação é realizada uma revisão bibliográfica sobre a dermatite atópica canina, com especial incidência sobre as infecções secundárias. A prevalência da dermatite atópica canina (DAC) tem sido estimada em cerca de 10% da população canina e os pacientes com DAC exibem frequentemente infecções cutâneas concomitantes com *Staphylococcus* spp. e/ou *Malassezia*.

Foi feito um estudo de 55 doentes atópicos caninos com infecção cutânea na área da Grande Lisboa. No que diz respeito à epidemiologia clínica destes pacientes houve uma maior prevalência de cães de origem indeterminada (29%), seguida do Cocker Spaniel (15%), Labrador Retriever (5%) e Terra Nova (5%). A distribuição sexual dos doentes atópicos com infecção cutânea parece seguir a tendência geral da população hospitalar e a maioria dos cães neste estudo (63%) possuía mais de quatro anos, o que está provavelmente relacionado com a população ter sido obtida de uma consulta de segunda opinião. No diagnóstico citológico de infecção cutânea determinou-se que parte da população em estudo (20%) apresentava uma infecção mista, ou seja, além de infecção bacteriana eram concomitantemente afectados por infecção por *Malassezia*.

Foi realizada uma análise da etiologia da infecção cutânea bacteriana e um estudo de susceptibilidade antimicrobiana e à semelhança do referido na bibliografia o *Staphylococcus intermedius* foi a espécie bacteriana mais frequentemente isolada, tanto nas piodermites como nas otites externas. Apesar de se ter verificado resistência a um ou mais antibióticos para 82.61% das estirpes cutâneas e 75% das estirpes auriculares de *S. intermedius*, a grande maioria dos isolados demonstrou susceptibilidade a antibióticos de primeira linha como a amoxicilina-clavulanato, cefalosporinas, oxacilina, co-trimoxazol e fluoroquinolonas. A resistência à penicilina, ampicilina, tetraciclina e clindamicina foi frequente. A multiresistência foi um achado comum nesta espécie bacteriana o que é preocupante se tivermos em conta o potencial zoonótico das estirpes de *S. intermedius* multiresistentes. Foi feita uma caracterização genotípica da resistência à meticilina em parte das estirpes e nenhuma das estirpes de *S. intermedius* testadas demonstrou a presença do gene *mecA*, contudo a sua existência foi detectada numa estirpe de *Staphylococcus simulans*. Esta estirpe era resistente à oxacilina com uma CIM > 4 µg/ml e demonstrou resistência a outras sete classes de antibióticos. O facto de esta estirpe ser portadora do gene *mecA* e multiresistente vem alertar para a importância da epidemiovigilância da resistência à meticilina em medicina veterinária, não só nos *S. intermedius* e *S. aureus* mas também nos estafilococos coagulase negativos. É apresentado o caso clínico em que a estirpe de *S. simulans* foi isolada.

Palavras-chave: infecção cutânea, dermatite atópica canina, *Staphylococcus* spp., *mecA*, susceptibilidade antimicrobiana.

Abstract – Skin infection in canine atopic patients

In this dissertation a review is made about canine atopic dermatitis, giving special attention to secondary infection. Canine atopic dermatitis has been estimated as affecting around 10% of the canine population and dogs with atopic dermatitis frequently exhibit concurrent skin infections with *Staphylococcus* spp. and /or *Malassezia* yeasts.

Fifty five atopic dogs with concomitant skin infection from the metropolitan area of Lisbon were studied. Regarding the clinical epidemiology of these patients there was a higher prevalence of mixed breed dogs (29%), followed by Cocker Spaniel (15%), Labrador Retriever (5%) and Newfoundland (5%). The gender distribution of atopic dogs with skin infection seems to follow the tendency of the general hospitalar population and most dogs in this study (63%) were more than four years old, which is probably related with the population being obtained from a referral consultation. With the cytological diagnosis of skin infection it was determined that part of the study population (20%) had a mixed infection, this is, they were simultaneously infected with bacteria and *Malassezia* yeasts.

The aetiology of bacterial skin infection was analyzed and a study of antimicrobial susceptibility was made; as referred in the literature the most common bacterial specie isolated from both pyoderma and otitis was *Staphylococcus intermedius*. Despite the resistance observed to at least one antibiotic in 82.61% and 75% of skin and otic isolates respectively, the majority of the *S. intermedius* strains showed susceptibility to first line antimicrobials agents such as amoxicillin-clavulanate, cephalosporins, oxacillin, cotrimoxazole and fluoroquinolones. Resistance to penicillin, ampicillin, tetracycline and clindamycin was frequent. Multidrug resistance was a common finding in this species which is worrisome if the zoonotic potential of multidrug resistant *S. intermedius* is taken in account. The genotypic characterization of the resistance to methicillin was performed in part of the strains and none of the tested *S. intermedius* showed the presence of the *mecA* gene; however this was found in a *Staphylococcus simulans*. This last strain was resistant to oxacillin with a MIC > 4 µg/ml and was resistant to seven other antimicrobial classes. The fact that this strain carried the *mecA* gene and was multidrug resistant alerts to the importance of methicillin resistance surveillance in veterinary medicine not only in *S. intermedius* and *S. aureus* but also in coagulase negative staphylococci. A case report about the dog in which the *S. simulans* was isolated is presented.

Key-words: cutaneous infection, canine atopic dermatitis, *Staphylococcus* spp., *mecA*, antimicrobial susceptibility.

Índice Geral

Agradecimentos	i
Resumo – infeção cutânea no doente atópico canino	ii
Abstract – skin infection in canine atopic patients	iii
Índice geral	iv
Índice de figuras	vi
Índice de tabelas	viii
Lista de abreviaturas	x
I. Introdução e descrição das actividades	1
1. Introdução	1
1.1 Descrição das actividades	1
1.2 Casuística acompanhada na consulta de Dermatologia	3
II. Dermatite atópica canina	6
1. Definição	6
2. Manifestações clínicas da dermatite atópica canina	6
2.1 Limiar de prurido	8
3. Diagnóstico da dermatite atópica canina	8
3.1 Testes alérgicos	10
3.1.1 Testes intradérmicos	10
3.1.2 Testes serológicos	11
4. Tratamento da dermatite atópica canina	12
4.1 Tratamento etiológico	13
4.2 Tratamento sintomático	14
4.2.1 Tratamento anti-inflamatório	14
4.2.2 Controle de ectoparasitas	15
4.2.3 Tratamento antimicrobiano	16
4.2.4 Outros tratamentos	16
5. Infeção cutânea na dermatite atópica canina	16
5.1 Tratamento antimicrobiano	21
5.2 Importância dos <i>Staphylococcus</i> spp. multiresistentes e meticilina resistentes na infeção cutânea canina	24
III. Estudo do doente atópico canino com infeção cutânea na área da Grande Lisboa	28
1. Epidemiologia clínica dos doentes atópicos caninos com infeção cutânea na área da Grande Lisboa	28
1.1 Distribuição rácica	28
1.2 Distribuição sexual	30
1.3 Distribuição etária	31
2. Diagnóstico citológico de infeção cutânea	33
2.1 Material e métodos	33

2.1.1 Amostra populacional	33
2.1.2 Recolha das amostras e interpretação dos achados citológicos	33
2.2 Resultados e discussão	34
3. Etiologia da infeção cutânea bacteriana no doente atópico canino e estudo da susceptibilidade aos antibióticos	36
3.1 Material e métodos	36
3.1.1 Amostra populacional	36
3.1.2 Cultura bacteriológica das zaragatoas de pele e conducto auditivo externo	36
3.1.3 Testes de susceptibilidade aos antibióticos	37
3.1.3.1 Antibiograma	37
3.1.3.2 Determinação de concentrações inibitórias mínimas	38
3.1.3.3 Categorias interpretativas	38
3.1.3.3.1 Susceptível (S)	39
3.1.3.3.2 Intermédio (I)	39
3.1.3.3.3 Flexível (F)	39
3.1.3.3.4 Resistente (R)	39
3.1.3.4 Categorias interpretativas usadas no antibiograma	40
3.1.3.5 Categorias Interpretativas usadas na determinação de concentrações inibitórias mínimas	50
3.2 Resultados e discussão	52
3.2.1 Etiologia da infeção cutânea no doente atópico canino	52
3.2.2 Etiologia da infeção auricular no doente atópico canino	53
3.2.3 Susceptibilidade aos antibióticos das estirpes de <i>Staphylococcus intermedius</i>	54
3.2.3.1 Isolados cutâneos	54
3.2.3.2 Isolados auriculares	61
3.2.4 Susceptibilidade aos antibióticos das estirpes de <i>Staphylococcus</i> spp.	64
3.2.4.1 Isolados cutâneos	64
3.2.4.2 Isolados auriculares	68
3.2.5 Susceptibilidade aos antibióticos das estirpes de <i>Proteus mirabilis</i>	69
3.2.6 Susceptibilidade aos antibióticos das estirpes de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	71
3.2.7 Padrões de resistência	73
4. Caracterização genotípica da resistência à meticilina	77
4.1 Material e métodos	77
4.1.1 Estirpes bacterianas	78
4.2 Resultados e discussão	79
5. Conclusões	82
IV. Caso clínico: primeiro caso de infeção cutânea por <i>Staphylococcus simulans</i> meticilina resistente num cão com dermatite atópica em Portugal	84
V. Bibliografia	90
Anexo I. Póster apresentado no IV Congresso Hospital Veterinário Montenegro	101
Anexo II. Resumo da comunicação oral efectuada no 17 ° Congresso da APMVEAC	102

Índice de figuras

Figura 1. Frequência relativa das entidades clínicas apresentadas à consulta de Dermatologia	4
Figura 2. Distribuição rácica dos doentes atópicos com infecção cutânea (n=55)	28
Figura 3. Distribuição rácica dos doentes atópicos com piodermite (n=36)	29
Figura 4. Distribuição rácica dos doentes atópicos com otite externa (n=19)	30
Figura 5. Distribuição sexual dos doentes atópicos com infecção cutânea (n=55)	31
Figura 6. Distribuição etária dos doentes atópicos com infecção cutânea (n=55)	32
Figura 7. Classificação do tipo de infecção cutânea de acordo com a avaliação citológica (n=36)	34
Figura 8. Classificação do tipo de infecção auricular de acordo com a avaliação citológica (n=19)	35
Figura 9. Frequência das espécies bacterianas isoladas de zaragatoas cutâneas (n=35)	52
Figura 10. Frequência das espécies bacterianas isoladas de zaragatoas auriculares (n=15)	53
Figura 11. Susceptibilidade dos isolados cutâneos de <i>S. intermedius</i> aos β -lactâmicos	55
Figura 12. Susceptibilidade dos isolados cutâneos de <i>S. intermedius</i> aos aminoglicosídeos	56
Figura 13. Susceptibilidade dos isolados cutâneos de <i>S. intermedius</i> às fluoroquinolonas	56
Figura 14. Susceptibilidade dos isolados cutâneos de <i>S. intermedius</i> a outros antibióticos	57
Figura 15. Susceptibilidade dos isolados auriculares de <i>S. intermedius</i> aos antibióticos β -lactâmicos	61
Figura 16. Susceptibilidade dos isolados auriculares de <i>S. intermedius</i> aos aminoglicosídeos	62
Figura 17. Susceptibilidade dos isolados auriculares de <i>S. intermedius</i> às fluoroquinolonas	63
Figura 18. Susceptibilidade dos isolados auriculares de <i>S. intermedius</i> a outros antibióticos	63
Figura 19. Gel de agarose após migração dos produtos de amplificação por PCR dos genes <i>mecA</i> e <i>16S rRNA</i>	79

Figura 20. O canídeo “Toch” um ano após o diagnóstico de atopia

86

Índice de tabelas

Tabela 1. Entidades clínicas apresentadas à consulta de Dermatologia	3
Tabela 2. Procedimentos efectuados durante a consulta de Dermatologia	5
Tabela 3. Distinguição das formas clássicas, graves e atípicas na dermatite atópica canina de acordo com Prélaud (2005)	7
Tabela 4. Critérios clínicos para o diagnóstico de dermatite atópica canina de acordo com Willemse (1986, 1988)	9
Tabela 5. Critérios clínicos para o diagnóstico de dermatite atópica canina de acordo com Prélaud <i>et al.</i> (1998)	9
Tabela 6. Frequências relativas por sexo dos canídeos atendidos em consulta no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa durante o período de estágio (n=245)	31
Tabela 7. Antibióticos usados, cargas dos discos e critérios interpretativos dos halos para detectar a resistência à meticilina nas estirpes de <i>Staphylococcus</i> spp.	40
Tabela 8. Antibióticos usados, cargas dos discos e critérios interpretativos para os halos usados nos TSA's do <i>Staphylococcus</i> spp. (critérios veterinários e humanos)	41
Tabela 9. Antibióticos usados, cargas dos discos e critérios interpretativos dos halos usados nos TSA's da <i>P. aeruginosa</i> (critérios veterinários e humanos)	45
Tabela 10. Antibióticos usados, cargas dos discos e critérios interpretativos para os halos usados nos TSA's do <i>P. mirabilis</i> , <i>E. coli</i> e <i>Enterobacter</i> spp (critérios veterinários e humanos)	47
Tabela 11. Antibióticos e critérios interpretativos usados na determinação das CIMs de <i>Staphylococcus</i> spp	50
Tabela 12. Interpretação combinada das CIMs e halos de inibição de duas estirpes de <i>S. intermedius</i>	58
Tabela 13. Resultados do TSA das estirpes de <i>Staphylococcus</i> spp. isoladas de piodermites	65
Tabela 14. Interpretação combinada das CIMs e halos de inibição da estirpe de <i>S. simulans</i>	66
Tabela 15. Resultados do TSA das estirpes de <i>Staphylococcus</i> spp. isoladas de otites externas	68
Tabela 16. Resultados do TSA das estirpes isoladas de <i>P. mirabilis</i>	70
Tabela 17. Resultados do TSA das estirpes isoladas de <i>P. aeruginosa</i>	71
Tabela 18. Padrões de resistência antimicrobiana das estirpes de <i>S. intermedius</i> isoladas de piodermites	73

Tabela 19. Padrões de resistência antimicrobiana das estirpes de <i>S. intermedius</i> isoladas de otites externas	74
Tabela 20. Tipo de resistência apresentada pelas estirpes de <i>S. intermedius</i> isoladas de piodermites	75
Tabela 21. Tipo de resistência apresentada pelas estirpes de <i>S. intermedius</i> isoladas de otites externas	75
Tabela 22. Padrão de resistência das estirpes testadas por PCR	78
Tabela 23. Sensibilização do canídeo “Toch” determinada por testes intradérmicos	85
Tabela 24. Resultados do antibiograma e do teste de microdiluição do canídeo “Toch”	87

Lista de abreviaturas

- ADN – Ácido desoxirribonucleico
AMC – Amoxicilina-ácido clavulânico
AML – Amoxicilina
AMP – Ampicilina
AK – Amicacina
AZI – Azitromicina
BSAVA – *British small animal veterinary association*
bid – Duas vezes ao dia
C – Cloranfenicol
CASFM – Comité do antibiograma da sociedade francesa de microbiologia
CASFM Vet – Comité do antibiograma da sociedade francesa de microbiologia para o antibiograma veterinário
CAZ – Ceftazidima
CIM – Concentração inibitória mínima
CIP – Ciprofloxacina
CLSI – *Clinical and laboratory standards institute*
CN – Gentamicina
CFM – Cefixima
CTX – Cefotaxima
CXM – Cefuroxima
DA – Clindamicina
DAC – Dermatite atópica canina
ECN – Estafilococo coagulase negativo
ECP – Estafilococo coagulase positivo
ENR – Enrofloxacina
ESBL – β -lactamases de espectro alargado (*extended spectrum β -lactamases*)
F – Flexível
FD – Ácido fusídico
FDA – Food and drug administration
FOX – Cefoxitina
FR – Frequência relativa
GAT – Gatifloxacina
I – Intermédio
IgE – Imunoglobulina E
IgG – Imunoglobulina G

IPM – Imipeneme
KF – Cefalotina
LEV – Levofloxacina
LZD – Linezolid
MAR – Marbofloxacina
MXF – Moxifloxacina
MR – Meticilina-resistente
MRSA – *Staphylococcus aureus* metilina-resistente
MRSI – *Staphylococcus intermedius* metilina-resistente
MS – Meticilina-susceptível
MUP – Mupirocina
NCCLS – *National committee for clinical laboratory standards*
ND – Não testado
NET – Netilmicina
P – Penicilina G
PAAF – Punção aspirativa por agulha fina
pb – pares de bases
PBP – *Penicillin binding protein*
PCR – *Polimerase chain reaction*
PFGE – *Pulsed field gel electrophoresis*
PRL – Piperacilina
R – Resistente
RNA – Ácido ribonucleico
S – Susceptível
sid – Uma vez ao dia
SIG – grupo de *Staphylococcus intermedius*
SSCmec – *Staphylococcal cassette chromosome mec*
SXT – Trimetoprim-sulfametoxazole
SYN – Quinopristina-dalfopristina
TE – Tetraciclina
TEI – Teicoplanina
TIC – Ticarcilina
tid – Três vezes ao dia
TOB – Tobramicina
TSA – Teste de susceptibilidade antibiótica
TZP – Piperacilina-tazobactam
VA – Vancomicina

I. Introdução e descrição das actividades

1. Introdução

O estágio curricular foi realizado no Hospital Escolar de pequenos animais da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa, sob a orientação científica da Professora Doutora Maria Constança Matias Ferreira Pomba e co-orientação da Dr.^a Ana Mafalda Lourenço Martins, com a duração de seis meses, compreendidos entre 8 de Outubro de 2007 e 31 de Março de 2008. O estágio compreendeu também o acompanhamento das consultas de Dermatologia na Clínica Veterinária Oncovet no período de 6 de Dezembro de 2007 a 31 de Março de 2008.

Durante este período, foi desenvolvido um plano de actividades que teve como objectivo a aquisição de conhecimentos e aptidões na área da clínica e cirurgia dos animais de companhia.

De todas as áreas com as quais tive contacto, a Dermatologia foi a que mais me cativou e foi na sequência deste meu interesse que escolhi fazer a dissertação sobre a dermatite atópica canina.

1.1 Descrição das actividades

O Hospital Escolar de pequenos animais da Faculdade de Medicina Veterinária, situado no Alto da Ajuda em Lisboa, é um hospital que tem por finalidade promover a formação dos estudantes na área clínica dos animais de companhia e, presta serviços com consultas de 1^a opinião nas áreas de medicina interna, radiologia e cirurgia, e de 2^a opinião nas áreas de dermatologia, neurologia, cardiologia, ortopedia, oftalmologia, endocrinologia e comportamento animal. No campo da imagiologia, são realizados exames de radiologia, ultrasonografia e tomografia axial computadorizada.

Faz parte das competências do estagiário auxiliar na contenção dos animais, durante as consultas; colaborar activamente na realização da anamnese e do exame físico dos pacientes, sendo-lhe dada a oportunidade de iniciar desta forma as consultas; preparar e administrar medicações, quando solicitado. A sua colaboração na realização dos meios complementares de diagnóstico passa pela colheita de amostras de sangue, realização de biópsias, citologias, raspagens cutâneas, testes serológicos, testes rápidos, radiografias, ecografias e electrocardiogramas. Na área de cirurgia é feito o acompanhamento do animal no período pré-operatório, operatório e pós-operatório, podendo o estagiário participar como anestesista, circulante, ajudante de cirurgião ou instrumentista. Assegurar o serviço de

internamentos do Hospital também faz parte das atribuições do estagiário, que é escalonado para bancos com a duração de 24 horas.

Neste espaço foi-me então possível o acompanhamento das consultas de medicina interna e de especialidades, das cirurgias e dos animais internados e participar na realização de meios complementares de diagnóstico. Particpei também em reuniões semanais de estagiários, em que cada estagiário pode escolher um tema à sua escolha, apresentá-lo aos colegas e aos médicos veterinários recorrendo a meios audiovisuais, terminando com uma discussão do tema.

Durante o estágio colaborei ainda como segunda autora na elaboração de um póster subordinado ao tema “Identificação da sensibilização de 50 cães atópicos da área de Lisboa”, apresentado no IV Congresso Hospital Veterinário Montenegro em 2008 (Anexo I).

No âmbito da presente tese foi efectuada uma parte de trabalho laboratorial no Laboratório de Bacteriologia e Resistência aos Antibióticos integrado no Laboratório de Análises Clínicas Dr. Braço Forte da FMV-UTL, nomeadamente a determinação de concentrações inibitórias mínimas e um estudo molecular de estirpes de *Staphylococcus* spp., bem como a totalidade do diagnóstico bacteriológico de infecção cutânea na amostra populacional em estudo de doentes atópicos na área da Grande Lisboa.

Foi ainda feita uma comunicação oral sobre o “Primeiro caso de infecção cutânea por *Staphylococcus simulans* meticilina resistente num cão com dermatite atópica em Portugal” no 17º Congresso Nacional da Associação Portuguesa dos Médicos Veterinários Especialistas em Animais de Companhia (APMVEAC) de 2008, cujo resumo se encontra em anexo (Anexo II).

Como referido na sequência do meu interesse pela área da Dermatologia, acompanhei as consultas de especialidade da Dr.^a Ana Mafalda Lourenço Martins, tanto no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária como na Clínica Veterinária Oncovet. Foi-me assim possível aprender a fazer uma história e exame dermatológicos detalhados, proceder à realização de meios complementares de diagnóstico e de tratamentos inerentes a esta área e acompanhar várias patologias dermatológicas. A casuística acompanhada na consulta de Dermatologia é seguidamente apresentada de forma mais detalhada.

1.2 Casuística acompanhada na consulta de Dermatologia

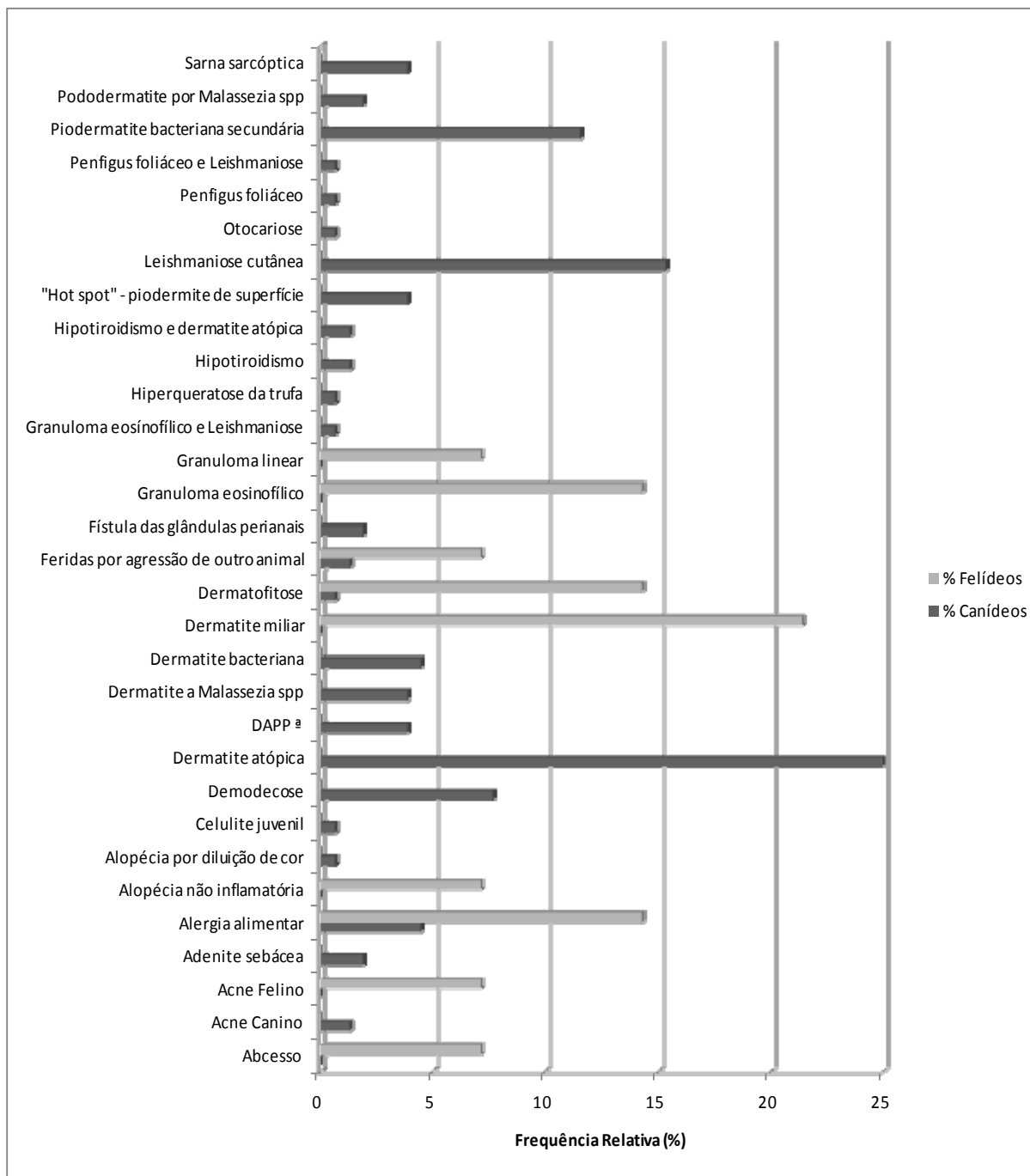
A tabela 1 e a figura 1 representam as entidades clínicas apresentadas à consulta de dermatologia e a sua frequência relativa.

Tabela 1. Entidades clínicas apresentadas à consulta de Dermatologia.

Entidades Clínicas		Nº	
		Canídeos	Felídeos
Abscesso			1
Acne Canino		2	
Acne Felino			1
Adenite sebácea		3	
Alergia alimentar		7	2
Alopécia	Não inflamatória		1
	Por diluição de cor	1	
Celulite juvenil		1	
Demodecose		12	
Dermatite	Atópica	39	
	DAPP ^a	6	
	a <i>Malassezia</i> spp.	6	
	bacteriana	7	
	miliar		3
Dermatofitose		1	2
Feridas por agressão de outro animal		2	1
Fístula das glândulas perianais		3	
Granuloma	Eosinofílico		2
	Linear		1
Granuloma eosinofílico e Leishmaniose		1	
Hiperqueratose da trufa		1	
Hipotiroidismo		2	
Hipotiroidismo e dermatite atópica		2	
"Hot spot" - dermatite piotraumática		6	
Leishmaniose cutânea		24	
Otocariose		1	
Penfigus foliáceo		1	
Penfigus foliáceo e Leishmaniose		1	
Piodermatite bacteriana secundária		18	
Pododermatite por <i>Malassezia</i> spp.		3	
Sarna sarcóptica		6	
Total			170

^a DAPP, Dermatite alérgica à picada da pulga.

Figura 1. Frequência relativa das entidades clínicas apresentadas à consulta de Dermatologia.



^a DAPP, Dermatite alérgica à picada da pulga.

Nos cães houve uma maior incidência para a dermatite atópica seguida da Leishmaniose e das piodermites bacterianas secundárias. Nos gatos (com menor incidência de presença nas consultas) destacaram-se as alergias alimentares, granulomas eosinofílicos, dermatite miliar e a dermatofitose.

Tabela 2. Procedimentos efectuados durante a consulta de Dermatologia.

Procedimentos Efectuados		Nº		FR (%)
		Canídeos	Felídeos	
Biópsia cutânea		5		1,32
Citologia	auricular	12	4	4,22
	cutânea	22	6	7,39
	interdigital	11		2,90
	labial	3		0,79
	leito ungueal	2	1	0,79
	podal	29		7,65
Colheita de medula óssea para pesquisa de <i>Leishmania</i> spp.		5		1,32
Colheita de sangue para detecção IgE alergeno-específica		51	4	14,51
Colheita de sangue para detecção T3, T4, TSH		8		2,11
Colheita de sangue para pesquisa de <i>Leishmania</i> spp.		40		10,55
Colheita de zaragatoas para cultura bacteriana e TSA		15		3,96
Exame com lâmpada de Wood		18	12	7,92
Imunoterapia		49		12,93
Raspagem cutânea		36		9,50
Recolha de pêlos para cultura e identificação de dermatófitos		26	7	8,71
Tricograma		9	4	3,43
Total		379		100,00

De entre as intervenções realizadas na consulta de dermatologia as citologias são as intervenções mais comuns (total de 23,7%), seguidas da colheita de sangue para detecção de IgE alergeno-específica (14,51%) e da imunoterapia (12,93%).

II. Dermatite atópica canina

1. Definição

A atopia canina é definida como uma predisposição genética para o desenvolvimento de alergia a alergenios ambientais, mediada por Imunoglobulina (Ig) E. A dermatite atópica canina (DAC) é a doença atópica mais frequentemente diagnosticada no cão. É definida como uma doença cutânea determinada geneticamente, alérgica, inflamatória e prurítica, com aspectos clínicos característicos, associada a anticorpos IgE mais frequentemente dirigidos contra alergenios ambientais (Olivry *et al.*, 2001; Halliwell, 2006). Os alergenios são inalados, absorvidos por via percutânea e possivelmente através do tracto gastrointestinal estimulando a produção de IgE alérgeno-específica (Marsella, Nicklin & Lopez, 2006).

A prevalência da DAC tem sido estimada em cerca de 10% da população canina (Hillier & Griffin, 2001; Scott, Miller & Griffin, 2001) e representa a segunda causa mais comum de prurido, a seguir à dermatite alérgica à picada da pulga (Prélaud, 2005).

2. Manifestações clínicas da dermatite atópica canina

O principal sintoma do cão atópico é o prurido que se manifesta por o animal esfregar, coçar e lambe-se. Tipicamente um cão com dermatite atópica canina (DAC) exhibe prurido no focinho, orelhas, extremidades e/ou ventre podendo qualquer uma destas áreas ou combinação delas estar envolvidas (Griffin & DeBoer, 2001).

Quanto à existência de lesões primárias de DAC o consenso parece ser que alguns cães não têm lesões primárias visíveis mesmo em zonas pruríticas, e que as lesões primárias se presentes consistiriam em eritema (Griffin & DeBoer, 2001).

São descritas lesões secundárias que reflectem o prurido crónico e trauma, a inflamação crónica e as infecções secundárias concomitantes. As lesões secundárias incluem manchas acrais vermelho-acastanhadas na pelagem, escoriações, alopecia auto-induzida, pelo seco e baço, hiperpigmentação, crostas e liquenificação. Estas lesões são observadas principalmente nos locais de prurido como o focinho (espelho nasal, área periorcular), orelhas, zona dorsal dos dígitos e faces palmares/plantares, face palmar dos carpos e plantar dos tarsos, zonas flexoras dos membros, axilas, abdómen, virilhas e face medial dos membros posteriores. Também são comuns a otite externa e sinais de infecções secundárias bacterianas e/ou por leveduras. Os sinais respiratórios têm sido descritos como pouco comuns na DAC (Griffin & DeBoer, 2001; Mueller & Jackson, 2003).

Prélaud (2005) faz uma divisão da sintomatologia demonstrada pelos pacientes em formas típicas: forma clássica e forma grave; e formas atípicas.

Tabela 3. Distinção das formas clássicas, graves e atípicas na dermatite atópica canina de acordo com Prélaud (2005).

Formas típicas

Forma clássica

O prurido localiza-se na face: pavilhões auriculares, lábios, pálpebras; e/ou nos dígitos; e/ou nas grandes pregas: região inguinal, axilas, cotovelo ou jarrete, ânus.

As lesões são de certa forma primárias, eritema ou pápulas, por vezes com coloração dos pêlos devido à lambadura. Uma xerose cutânea marcada pode exteriorizar-se por um aspecto baço da pelagem ou as lesões podem ser extensas e devidas ao prurido: alopecia, liquenificação, escoriações, hipermelanose.

A maioria dos cães atópicos evolui para esta forma na ausência de tratamento.

Forma grave

Devido à cronicidade ou a uma associação com alterações importantes na corneogénese, as lesões generalizam-se a todo o corpo, o prurido é violento e o estado geral pode estar alterado. As infecções bacterianas e/ou fúngicas (*Malassezia* spp.) de superfície são quase sistemáticas.

São raros os animais que desenvolvem esta forma.

Formas atípicas

São essencialmente as formas localizadas de dermatite atópica: otite externa isolada, pododermatite bilateral, hiperqueratose perimamilonar.

Estas manifestações isoladas existem antes que o prurido constitua motivo de consulta; e o prurido, moderado ou nulo, pode não ser observado pelo proprietário.

A idade típica de aparecimento de DAC é entre os 6 meses e os 3 anos, sendo pouco comum o aparecimento de sinais clínicos em cães com menos de 6 meses e mais de 7 anos (Griffin & DeBoer, 2001; Marsella & Olivry, 2003).

Existe sem dúvida uma predisposição racial, mas podem ocorrer variações regionais e as predisposições podem mudar ao longo do tempo. Exemplos de raças predispostas são o Beauceron, Boston Terrier, Cairn Terrier, Scottish Terrier, Sealyham Terrier, Wire Haired Fox Terrier, Yorkshire Terrier, Cocker Spaniel, Dálmata, Pastor Alemão, Golden Retriever, Labrit, Schnauzer miniatura, Pug, Bull Terrier, Jack Russell Terrier, Fox Terrier, Shar Pei, Labrador Retriever, Boxer, Bulldog Inglês, Lhasa Apso, Shih Tsu, West Highland White Terrier, Setter Inglês e Setter Irlandês (Griffin & DeBoer, 2001; Mueller & Jackson, 2003). Prélaud (2005) aponta as últimas treze raças como as mais predispostas na Europa

referindo também o Bulldog Francês e o Cavalier King Charles, mas recorda que a predisposição rásica varia de acordo com o país.

No que diz respeito à existência de uma predisposição sexual os dados são inconsistentes. Dependendo dos alergenos envolvidos pode haver sazonalidade (Griffin & DeBoer, 2001).

2.1 Limiar de prurido

O conceito de limiar de prurido é útil para perceber o desenvolvimento das manifestações clínicas da doença. Esta teoria tem como hipótese que qualquer indivíduo é capaz de tolerar algum estímulo prurítico. Mas, quando vários estímulos estão presentes e excedem o limiar de prurido, o animal vai acabar por ficar com prurido e manifestá-lo.

Por exemplo, se um animal tiver uma piodermite secundária à atopia e concorrentemente alergia à picada da pulga, parte do prurido é causado pela DAC mas outra parte é causada pela piodermite e pela alergia à picada da pulga. Pode não ser necessário tratar todos os factores para que o paciente fique abaixo do seu limiar de prurido. O tratamento da piodermite e da alergia à picada da pulga pode muitas vezes ser suficiente para que o animal fique confortável (Marsella & Sousa, 2001; Mueller & Jackson, 2003).

Concluindo, é muito importante controlar hipersensibilidades adicionais (por exemplo, alergia alimentar e dermatite alérgica à picada da pulga) e tratar infecções secundárias para remover qualquer estímulo adicional e evitar que o paciente alcance o seu limiar de prurido (Marsella & Sousa, 2001).

3. Diagnóstico da dermatite atópica canina

O diagnóstico inicial de Dermatite atópica canina é feito clinicamente através da avaliação da história progressa e pelo preenchimento de uma combinação de critérios que estão fortemente associados com a doença (DeBoer & Hillier, 2001a).

Relativamente à anamnese deve dar-se importância à dieta, à idade das primeiras manifestações da doença, ao controlo antiparasitário efectuado e a variações associadas à época do ano ou ao ambiente do animal (Prélaud, 2005).

De forma semelhante ao que acontece em medicina humana foram criadas em medicina veterinária listas de critérios por Willemse e por Prélaud *et al.* (Willemse, 1986, 1988; Prélaud *et al.*, 1998). Estas listas estão representadas nas tabelas 4 e 5. Estes esquemas surgiram numa tentativa de definir critérios clínicos uniformes, mas devido à variabilidade apresentada pelos pacientes estas listas não são infalíveis. Se um paciente preenche os critérios deve incluir-se a DAC como um diagnóstico diferencial primário, mas quando há

falha em encontrar os critérios não se deve excluir o diagnóstico de DAC (DeBoer & Hillier, 2001a).

Tabela 4. Critérios clínicos para o diagnóstico de dermatite atópica canina de acordo com Willemse (1986, 1988).

Dermatite atópica canina	
Critérios principais	Critérios secundários
O paciente deve possuir pelo menos três das seguintes características:	Pelo menos três das seguintes características devem também estar presentes:
Prurido	Início dos sintomas antes dos três anos de idade
Morfologia típica e distribuição:	Eritema facial e queilite
Envolvimento facial e/ou digital ou	Conjuntivite bacteriana
Liquenificação da zona flexora do tarso e/ou da zona extensora do carpo	Piodermite superficial estafilocócica
Dermatite crónica ou recidivante	Hiperhidrose (secreção sudorípara excessiva)
História individual ou familiar de atopia e/ou predisposição rácica	Teste intradérmico positivo a alérgenos ambientais
	Níveis elevados de IgE alérgeno-específica
	Níveis elevados de IgGd alérgeno-específica

Tabela 5. Critérios clínicos para o diagnóstico de dermatite atópica canina de acordo com Prélaud *et al.* (1998).

Dermatite atópica canina
Critérios principais
O paciente deve possuir pelo menos três das seguintes características:
Prurido sensível aos corticosteróides
Eritema da face interna dos pavilhões auriculares
Pododermatite eritematosa bilateral dos membros anteriores
Queilite
Aparecimento dos primeiros sinais entre os seis meses e três anos de idade

Uma vez que a DAC seja considerada outros diagnósticos diferenciais devem ser metodicamente eliminados: dermatite alérgica à picada da pulga, alergia alimentar, sarna sarcóptica ou outras infestações por ácaros que causem prurido, foliculite bacteriana prurítica, dermatite a *Malassezia*, e embora menos comuns as alterações de cornificação e dermatite de contacto (DeBoer & Hillier, 2001a; Prélaud, 2005). Daqui se depreende que o diagnóstico da DAC é um diagnóstico de exclusão, no qual despistamos outras causas de prurido.

3.1 Testes alérgicos

De acordo com DeBoer e Hillier (2001a) e Prélaud (2005) os testes alérgicos não são apropriados para usar inicialmente na avaliação do paciente como testes de *screening*. Devem sim ser reservados para, depois de ter sido feito um diagnóstico clínico firme, identificar a sensibilidade individual de cada animal a diversos tipos de alergenos e possibilitar a implementação de esquemas que permitam a evicção alérgica ou seleccionar alergenos para imunoterapia.

Actualmente devido à definição recente de DAC e ao aparecimento do conceito de *canine atopic-like dermatitis* (uma doença clinicamente semelhante em que não são demonstráveis anticorpos IgE) vem referido na bibliografia a necessidade de recorrer a testes intradérmicos ou serológicos para diferenciar as duas doenças (Halliwell, 2006; Olivry, Dunston, Pluchino, Porter & Hammerberg, 2008).

O diagnóstico é então confirmado com um teste alérgico, tipicamente um teste intradérmico ou um teste serológico (DeBoer & Hillier, 2001a).

3.1.1 Testes intradérmicos

São considerados uma ferramenta valiosa na demonstração de hipersensibilidade alérgico-específica se realizados correctamente e de acordo com procedimentos padronizados. A utilidade primária dos testes intradérmicos (IDT) é a demonstração de hipersensibilidade a alergenos mediada por IgE (Hillier & Deboer, 2001).

A selecção de alergenos a usar varia de acordo com a localização regional dos pacientes, mas na maioria dos casos inclui uma selecção de antigénios de cada um dos seguintes grupos: pólenes de árvores, pólenes de ervas, pólenes de ervas daninhas, bolores, ácaros do pó, ácaros de armazenamento, insectos e extractos de epidermes (Hillier & Deboer, 2001; Littlewood, 2003; Prélaud, 2005).

Vários fármacos comumente usados no tratamento sintomático da DAC podem afectar os resultados dos IDT ao afectarem a reactividade da pele. Exemplos são os anti-histamínicos e os glucocorticoides que devem ser suspensos por um período mínimo de dez dias e de três a oito semanas, respectivamente (Hillier & Deboer, 2001).

Por convenção usa-se a pele do tórax lateral, em que é realizada tricotomia e não deve ser esfregada ou lavada. Os sítios das injecções são marcados com marcadores à prova de água e separados por pelo menos 3 cm. São usados controlos positivos (solução de fosfato de histamina 1:100.000 ou 0.001%) e negativos (a solução diluente ou solução salina tamponada de fosfato a 0.9%). Geralmente é injectado um volume de 0.05 ml dos controlos e dos alergenos, intradermicamente. As reacções imediatas são lidas 15 minutos após a injecção e podem ser avaliadas subjectivamente (intensidade e/ou tamanho do eritema, turgidez ou formação de pápula) ou objectivamente (medição do diâmetro ou área do eritema ou pápula). Por convenção as reacções são designadas por 0,1, 2, 3, 4 sendo o 0 igual à reacção do controlo negativo e o 4 igual à reacção do controlo positivo. Qualquer reacção igual ou superior a 2 é tida como positiva (Hillier & Deboer, 2001; Littlewood, 2003; Mueller & Jackson, 2003).

Os testes intradérmicos detectam a capacidade funcional de os mastócitos desgranularem após exposição a alergenos. Os alergenos relevantes para cada paciente ligam-se a IgE alergeno-específica na superfície dos mastócitos, levam à sua desgranulação e forma-se então uma pápula eritematosa (Mueller & Jackson, 2003).

Existe a possibilidade de resultados falso-positivos e falso-negativos e por isso os resultados destes testes devem ser interpretados cautelosamente e avaliados de acordo com a história pregressa do animal.

3.1.2 Testes serológicos

A DAC está associada a anticorpos IgE contra alergenos ambientais (Olivry *et al.*, 2001; Halliwell, 2006) e os testes serológicos *in vitro* que detectam IgE alergeno-específica circulante, são usados comumente na avaliação diagnóstica dos pacientes com DAC para comprovação do diagnóstico e para definir quais os alergenos apropriados para imunoterapia.

Os testes serológicos que medem IgE alergeno-específica detectam IgE que é direccionada especificamente contra um painel de alergenos que se pensam ser clinicamente relevantes para aquele paciente (tipicamente esses painéis contêm pólenes, bolores, ácaros do pó, ácaros de armazenamento e antigénios epidérmicos em várias combinações).

Existem testes que usam anticorpos monoclonais e policlonais como reagentes para detecção de IgE. Contudo, se existir um excesso de IgG alergeno-específica, qualquer reactividade cruzada IgE: IgG no reagente de detecção pode diminuir a especificidade do teste. Foi desenvolvida recentemente uma técnica que utiliza uma forma recombinante da parte extracelular da cadeia alfa do receptor com alta afinidade para IgE humana (FC ϵ R1 α). As principais vantagens desta última técnica são o facto de o FC ϵ R1 α ser um reagente fisiológico cuja função primária *in vivo* é ligar-se a IgE na superfície dos mastócitos e basófilos e o facto do FC ϵ R1 α não se ligar a IgG canina. Foi demonstrado que o FC ϵ R1 α é uma alternativa sensível e específica aos anticorpos monoclonais e policlonais na detecção de IgE alergeno-específica canina (Stedman *et al.*, 2001).

Estes testes não são completamente específicos ou sensíveis, uma vez que animais clinicamente saudáveis podem ter testes serológicos positivos e que cães com um diagnóstico clínico de atopia podem ter testes com resultados negativos. Portanto, os resultados destes testes devem ser interpretados de acordo com a história clínica do animal (DeBoer & Hillier, 2001b).

4. Tratamento da dermatite atópica canina

O tratamento da DAC é multifacetado e consiste numa acção combinada que inclui esquemas que permitem evitar o contacto com os alergenicos, agentes anti-inflamatórios, imunoterapia e terapia antimicrobiana. A importância e ordem de cada um destes tratamentos varia de paciente para paciente e os clínicos podem optar por combinar os passos terapêuticos de acordo com a sua percepção da importância relativa que os factores desencadeantes têm no desenvolvimento da DAC (Olivry & Sousa, 2001a).

O tratamento de um episódio de dermatite atópica geralmente baseia-se no controlo da infecção cutânea e terapia com corticosteróides de curta duração. O controlo a longo-prazo é variável e adaptado individualmente de acordo com a severidade da doença e os principais factores etiológicos do prurido e pode compreender a imunoterapia, ciclosporina A, ácidos gordos essenciais, tratamentos tópicos (champôs, corticosteróides, tacrolimus, pimecrolimus) e deve sempre incluir um controlo apertado dos parasitas externos (Prélaud, 2005).

4.1 Tratamento etiológico

O tratamento etiológico consiste na evicção alérgica e imunoterapia. Faz sentido que um dos primeiros passos no manejo da DAC seja a eliminação ambiental dos alérgenos ou evitar que o animal tenha contacto com esses alérgenos. Para alguns alérgenos como pólenes e bolores este conceito é quase impossível de pôr em prática. Mas, se estiver em causa uma alergia a *Dermatophagoides*, podem usar-se camas que são impermeáveis a estes alérgenos. Quando a eliminação dos alérgenos se mostra impossível, pode tentar-se reduzir o seu contacto prolongado com a pele do cão evitando por exemplo o contacto do cão com relva ou através de banhos frequentes com champôs emolientes (Olivry & Sousa, 2001a).

Relativamente à imunoterapia, esta actua aumentando a habilidade do paciente para tolerar a exposição a alérgenos sem desenvolver sinais clínicos, ou seja, induz uma tolerância imunitária. Consiste na administração por via subcutânea e de forma gradual de quantidades progressivamente maiores de extractos de alérgenos com o objectivo de diminuir a sensibilidade aos mesmos (Griffin & Hillier, 2001; Prélud, 2005). Também estão descritos protocolos de indução mais rápida (Imunoterapia intensiva) (Marsella, 2006).

A escolha dos alérgenos a introduzir na imunoterapia é feita com base nos testes alérgicos (testes intradérmicos ou serológicos). A imunoterapia está indicada quando: é desejável evitar ou reduzir a quantidade de corticosteróides exigidos para controlar os sinais clínicos; formas de terapia não esteróides são insuficientes para o tratamento; os sinais duram mais de 4 a 6 meses por ano ou os donos não permitem a utilização de corticosteróides nos seus animais.

A resposta ao tratamento é lenta, podendo só ser visível 6 meses a 1 ano após o seu início. A percentagem de animais definitivamente curados é da ordem dos 10 a 20% aos 9-18 meses e 50 a 85% dos animais mostram melhorias significativas ao fim desse período (Prélud, 2005). Se a imunoterapia resultar o tratamento será mantido para a vida do paciente. Os factores que podem afectar a eficácia da imunoterapia são: a idade de aparecimento da DAC, a idade de começo da imunoterapia, a duração da doença, a severidade dos sinais clínicos, a raça, e os alérgenos aos quais o paciente é hipersensível (Griffin & Hillier, 2001).

Para que o animal se mantenha confortável ao longo da imunoterapia é muitas vezes necessário o recurso à terapia sintomática. Não se sabe qual a influência dos corticosteróides e da ciclosporina a longo-prazo na imunoterapia (Prélud, 2005; Colombo, Hill, Shaw & Thoday, 2007).

Pensa-se que a imunoterapia altere o curso natural da reacção alérgica e por isso é o único tratamento que pode prevenir o desenvolvimento adicional da alergia. De facto a

imunoterapia oferece a esperança de remissão a longo prazo e pode resultar numa terapia que requer uma frequência relativamente baixa de administração. As reacções adversas que põem em risco de vida o paciente são raras e não há relato de efeitos secundários a longo prazo, portanto existem poucas contra-indicações para o seu uso (Griffin & Hillier, 2001).

4.2 Tratamento sintomático

4.2.1 Tratamento anti-inflamatório

Vários fármacos são usados para aliviar os sinais clínicos da DAC, nomeadamente o prurido. Durante as últimas décadas os glucocorticoides têm sido os fármacos mais comumente prescritos para o tratamento da DAC. A administração de glucocorticoides previne a activação de várias células como aquelas que estão envolvidas na inflamação alérgica: linfócitos T, eosinófilos, células dendríticas, macrófagos, células endoteliais e epiteliais (Olivry & Sousa, 2001b). No que diz respeito aos glucocorticóides orais a prednisolona ou a metilprednisolona usadas em baixa-dose, são os corticosteróides de escolha para um tratamento de curta duração, isto é, para o maneio das crises não sendo necessário um desmame ou a terapia em dias alternados (Prélaud, 2005). Se for necessário um tratamento prolongado deve usar-se a menor posologia eficaz, contudo o seu uso a longo-prazo em cães que manifestem sintomas ao longo de todo o ano é de evitar.

Quanto aos glucocorticoides tópicos, estes estão indicados no tratamento de lesões localizadas e o efeito adverso mais comum é a atrofia cutânea. O aparecimento dos diésteres, como o aceponato de hidrocortisona (o único aprovado em medicina veterinária para cães), veio permitir que um córtico potente seja usado em baixas concentrações proporcionando uma alta actividade anti-inflamatória local e o seu metabolismo específico oferece uma grande segurança pois previne os efeitos secundários. O aceponato de hidrocortisona está indicado como tratamento sintomático proporcionando alívio rápido (Réme, 2007).

Os anti-histamínicos são frequentemente usados de forma empírica no tratamento sintomático do prurido associado à DAC (Prélaud, 2005). Estes fármacos exercem o seu efeito por antagonizarem receptores da histamina específicos (no caso das alergias interessam-nos particularmente os receptores H1). A sua eficácia tem sido comparável à dos placebos em vários estudos (Prélaud, 2005), contudo o consenso actualmente estabelecido pelos clínicos sugere que vários anti-histamínicos devem ser avaliados de forma sequencial, durante 7-14 dias cada, nos pacientes com DAC sendo os seus efeitos benéficos vistos apenas em alguns cães (DeBoer & Griffin, 2001). O efeito sedativo de

certos anti-histamínicos é interessante no controlo do prurido que se manifesta durante a noite (Prélaud, 2005).

A ciclosporina A é um inibidor da calcineurina que actua bloqueando a síntese de certas citocinas, principalmente a Interleucina (IL) 2 e desta forma inibe a função de células que iniciam a reacção imune: células de Langerhans e linfócitos; e de células efectoras da resposta alérgica: mastócitos e eosinófilos (Marsella & Olivry, 2001; Prélaud, 2005). A sua eficácia no tratamento da DAC tem sido comparável à dos glucocorticóides (Olivry & Mueller, 2003; Marsella, 2006) e é bem tolerada não apresentando muitos efeitos secundários. Após uma fase de indução igual ou superior a 4 semanas, a frequência ou a dose podem ser diminuídas em muitos cães atópicos e a associação com quetoconazole permite diminuir a dose de ciclosporina necessária e diminuir o custo da terapêutica (Marsella, 2005). Contudo, num estudo que avaliou a resposta de cães atópicos à ciclosporina durante 6 meses foi necessária a continuação do tratamento para o controlo dos sinais clínicos em cerca de 55% dos cães, embora não fosse necessária a administração diária (Marsella, 2006).

O tacrolimus também é um inibidor da calcineurina com mecanismo de acção semelhante à ciclosporina, mas 10-100 vezes mais potente. Está disponível em preparações tópicas sendo usado no tratamento de lesões localizadas e mostrando uma boa eficácia na redução das lesões e poucos efeitos adversos (Marsella, 2005; Griffin, 2006; Marsella, 2006). O pimecrolimus é outro inibidor da calcineurina desenvolvido mais recentemente com as mesmas indicações do tacrolimus, apesar de não terem sido feitos estudos que documentem a sua eficácia (Griffin, 2006).

4.2.2 Controlo de ectoparasitas

Sousa e Halliwell (2001) referem que parece ser provável que a atopia na espécie canina predisponha ao desenvolvimento de hipersensibilidade aos alergenos de pulga e eventualmente a DAPP. Prélaud (2005) afirma contudo que os cães atópicos não são mais predispostos ao desenvolvimento de dermatite alérgica à picada da pulga, mas que as picadas de pulga quer seja pelo efeito somatório de aumento de prurido quer seja pelo efeito dos superantigénios salivares, estão na origem do agravamento da DAC. O controlo das pulgas com recurso a insecticidas é então imperativo no maneio da DAC.

4.2.3 Tratamento antimicrobiano

As infecções secundárias são muito frequentes na DAC e podem ser bacterianas ou fúngicas. O seu tratamento é discutido em 5.1.

4.2.4 Outros tratamentos

Os ácidos gordos essenciais restabelecem a integridade da camada hidrolipídica do estrato córneo e diminuem a produção de ecosanóides pró-inflamatórios. A sua acção anti-pruriginosa é nula, mas é possível que diminuam as doses de glucocorticoides necessárias (Prélaud, 2005). Os produtos disponíveis possuem ácidos gordos ómega 3, ómega 6 ou uma combinação dos dois e devem ser administrados por um mínimo de 8 a 10 semanas, pois requerem várias semanas de suplementação antes de serem visíveis efeitos positivos (Mueller & Jackson, 2003).

As escovagens diárias e os banhos com champôs emolientes permitem também limitar a presença de alergenos na superfície da pele (Prélaud, 2005). Actualmente os champôs possuem vários ingredientes em diferentes combinações: demulcentes, hidratantes, anti-inflamatórios, antibacterianos e antimicóticos, que podem ser benéficos no alívio sintomático do prurido (Mueller & Jackson, 2003).

5. Infecção cutânea na dermatite atópica canina

Os cães com dermatite atópica, à semelhança do que acontece nos humanos, exibem frequentemente infecções cutâneas concomitantes com *Staphylococcus* spp. e/ou *Malassezia* e o tratamento dessas infecções é muito importante nesses pacientes (DeBoer & Marsella, 2001; Prélaud, 2005).

As infecções cutâneas podem, em alguns casos, ser uma consequência de mudanças na pele induzidas pela dermatite atópica (por exemplo, escoriações auto-induzidas). Inversamente, existem evidências abundantes que sugerem que estas infecções são uma importante componente da patogénese da dermatite atópica através dos seus efeitos no sistema imune e/ou por perpetuarem a resposta inflamatória cutânea (DeBoer & Marsella, 2001).

De entre as bactérias envolvidas nas infecções cutâneas caninas o *Staphylococcus intermedius* é referido como o mais frequentemente isolado (Scott, 2001a; Noli, 2003; Vanni *et al.*, 2006; Hauschild & Wójcik, 2007). O nível de diversidade fenotípica e genotípica observado entre isolados de *S. intermedius* levou alguns autores a colocar a hipótese da

existência de um grupo de *S. intermedius* (SIG), constituído por mais do que uma espécie ou subespécies (Bannoehr *et al.*, 2007). Recentemente, um estudo japonês reclassificou através de um método genotípico estirpes previamente identificadas como *S. intermedius*, em *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* e *S. delphini*; a maioria dos isolados de canídeos nesse estudo foram reclassificados como *S. pseudintermedius* e este estudo sugere então uma reclassificação dos *S. intermedius* (Sasaki *et al.*, 2007). Bannoehr *et al.* (2007) refere que o *S. pseudintermedius*, e não o *S. intermedius*, está implicado como agente patogénico nas piodermites caninas e é causa ocasional de infecções zoonóticas em humanos. Daqui se depreende que muitas das estirpes identificadas anteriormente como *S. intermedius* podem então ser na realidade *S. pseudintermedius*.

Além do *S. intermedius*, outros estafilococos coagulase positivos e negativos (*Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus simulans*), e outras bactérias (*Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus spp.*, *Escherichia coli*) podem também estar envolvidas mas de forma ocasional (Medleau, Long, Brown & Miller, 1986; Noli, 2003; Hauschild & Wójcik, 2007).

Relativamente à *P. aeruginosa* esta pode ser isolada de piodermites profundas crónicas onde está tipicamente associada a uma infecção com outras bactérias como o *S. intermedius* e a *E. coli*, com especial relevo para a primeira bactéria. O isolamento apenas de *P. aeruginosa* é pouco comum, mas foram recentemente descritos 20 casos de piodermite canina em que esta era a bactéria primária (Hillier, A., Alcorn, J. R., Cole, L. K. & Kowalski, J. J., 2006). A incidência de piodermite causada por *P. aeruginosa* neste estudo foi considerada baixa (66 cães com isolados de *P. aeruginosa* em treze anos e meio), mas parece haver um aumento da incidência do isolamento de *P. aeruginosa* da pele de cães nos últimos anos (38% dos 66 casos ocorreram entre 1992-99 e 62% entre 2000-05). Este estudo descreve também características específicas da piodermite por *Pseudomonas*.

Não foi encontrada na literatura referência quanto à prevalência ou frequência com que estas outras espécies bacterianas podem causar infecção especificamente nos pacientes com DAC, mas um dos casos em que a *P. aeruginosa* era a bactéria primária era um paciente com DAC (Hillier *et al.*, 2006).

Relativamente à classificação da piodermite estafilocócica, esta geralmente é dividida em: piodermite de superfície, limitada à superfície do extracto córneo; piodermite superficial, que atinge a porção infundibular dos folículos pilosos e a epiderme; e piodermite profunda, que atinge os folículos pilosos, a derme e ocasionalmente a hipoderme (Noli, 2003). De entre as piodermites de superfície, a dermatite piotraumática é comum nos cães atópicos e é caracterizada por ser muito pruriginosa e causada por prurido e consequente lambedura ou

coceira; clinicamente, é observável uma área de hipotricose e de pele e pêlo húmido com erosões cutâneas localizadas (Correia, Baptista, Costa & Pomba, 2003; Mueller & Jackson, 2003; Noli, 2003). A foliculite bacteriana (subtipo de piodermite superficial) é também comum em cães atópicos e as lesões consistem em pápulas, pústulas foliculares, colaretes epidérmicos e alopecia focal (Scott *et al.*, 2001; Correia *et al.*, 2003; Mueller & Jackson, 2003; Noli, 2003). Os pacientes com DAC podem também apresentar furunculose (piodermite profunda), resultado da ruptura dos folículos pilosos e contacto do seu conteúdo com a derme, provocando uma reacção inflamatória granulomatosa ou piogranulomatosa; a furunculose pode ser localizada (por exemplo, piogranulomas interdigitais ou granulomas de lambadura) e nesses casos o trauma crónico pode ser preponderante no seu desenvolvimento (Scott *et al.*, 2001; Correia *et al.*, 2003; Noli, 2003).

As infecções por estafilococos resultam por si só em inflamação e prurido moderado a severo, mesmo sem a presença de DAC. Num cão atópico, o estímulo prurítico adicional causado pela infecção secundária pode induzir ainda mais desconforto, e por isso a antibioterapia nestes pacientes produz desde uma redução parcial a dramática nos sinais clínicos (DeBoer & Marsella, 2001).

Os estafilococos parecem colonizar a pele atópica facilmente e os produtos bacterianos na pele podem amplificar a inflamação cutânea através de respostas de hipersensibilidade imediata às bactérias, por activação de linfócitos mediada por superantígenos ou outros mecanismos não específicos. Existem evidências para a natureza da relação entre as infecções por *Staphylococcus* spp. e a DAC em quatro áreas principais:

1. Aumento da aderência e colonização da pele atópica por estafilococos (cão, homem): no homem o *S. aureus* coloniza facilmente a pele dos doentes atópicos e parece haver uma relação entre o número de bactérias presentes e a gravidade da atopia (Baker, 2006). O *S. intermedius* existe na pele, pêlo, zona anal ou cavidades nasais de muitos cães saudáveis. Em cães com DAC, factores como trauma auto-induzido, terapia com corticóides e anomalias imunológicas não especificadas, podem teoricamente facilitar as infecções por estafilococos (DeBoer & Marsella, 2001). Foi recentemente demonstrado que existe maior aderência do *S. intermedius* aos corneócitos, tanto na pele inflamada como na pele não inflamada, de cães atópicos comparativamente a animais saudáveis (Simou, Thoday, Forsythe & Hill, 2005; McEwan, Mellor & Kalna, 2006).
2. Hipersensibilidade bacteriana (cão, homem): no homem a existência de uma síndrome de hiperimunoglobulinémia E e o facto de certos pacientes produzirem IgE antiestafilocócica levou à hipótese que em certos indivíduos, os mastócitos podem ficar sensibilizados com IgE antiestafilocócica e desgranular após exposição a pequenas quantidades de antígenos ou toxinas estafilocócicas (DeBoer & Marsella, 2001). Muitos dos pacientes atópicos humanos produzem IgE específica contra toxinas estafilocócicas

encontradas na sua pele, os mastócitos e basófilos desses indivíduos libertam histamina quando expostos a essas toxinas e existe uma correlação entre a existência desses anticorpos e a gravidade da atopia (Baker, 2006). Nos cães foi também sugerido que os estafilococos podem funcionar como antigénios em alguns casos e estimular a produção de IgE, mas a existência de uma resposta de hipersensibilidade imediata a componentes dos estafilococos ainda não foi provada e por isso o conceito de hipersensibilidade bacteriana continua a ser hipotético (DeBoer & Marsella, 2001).

3. O papel das exotoxinas dos estafilococos como superantigénios (homem): no homem sabe-se que algumas das enterotoxinas estafilocócicas produzidas por *S. aureus* servem como superantigénios, isto é, moléculas que activam grandes números de linfócitos T na ausência de antigénios específicos. Estas toxinas também facilitam a migração de linfócitos para os locais de inflamação cutânea e aumentam a libertação de citocinas pró-alérgicas. Por isso, a infecção estafilocócica é capaz de amplificar e manter a resposta alérgica na pele (Marsella & Olivry, 2003). Pensa-se que nos cães atópicos as enterotoxinas estafilocócicas possam também funcionar como superantigénios exacerbando a reacção alérgica. Contudo, o papel das exotoxinas e de outros componentes em servirem como superantigénios na patogénese da DAC é desconhecido (DeBoer & Marsella, 2001; Prélaud, 2005). Foi todavia demonstrado que os *S. intermedius* isolados de piодermite produzem enterotoxinas A (SEA), SEB, SEC e SED e a toxina de síndrome de choque tóxico-1 (TSST-1), que têm propriedades de superantigénios o que vem então reforçar esta hipótese (Hendricks, Schuberth, Schueler & Lloyd, 2002).
4. Possíveis anomalias imunológicas intrínsecas à dermatite atópica e a sua capacidade de promover infecção (cão, homem): alguns estudos sugerem que cães com DAC apresentam uma resposta imune celular anormal, o que teoricamente pode predispor a infecções cutâneas (DeBoer & Marsella, 2001).

O diagnóstico de piодermite ou de otite bacteriana é geralmente feito através de citologia. Em caso de piодermite, é possível observar pápulas e pústulas (lesões primárias) e colaretos epidérmicos ou crostas (lesões secundárias); a otite é caracterizada pela inflamação auricular e é geralmente acompanhada de exsudação. As amostras citológicas podem ser recolhidas usando fita adesiva, zaragatoas ou por impressão directa (pústulas, exsudados, úlceras). Os achados citológicos geralmente consistem na observação de bactérias intracelulares, neutrófilos degenerados, cocos e/ou bastonetes em número > 2 por campo (x 1000). É aceite de uma forma geral, que quando na citologia se identificam cocos se pode assumir que o organismo envolvido é o *S. intermedius*, e que devido à estabilidade da sua susceptibilidade antibiótica não é necessária cultura bacteriana e teste de

susceptibilidade antibiótica (TSA) (Scott, 2001a). A cultura bacteriana e subsequente TSA, estão indicados quando na citologia se observam bastonetes, quando a terapia antibiótica escolhida de forma empírica falha e em casos de piodermite ou otites que ocorrem frequentemente.

De forma semelhante ao que acontece com os estafilococos, a colonização da pele por *Malassezia*, pode contribuir para os sinais clínicos de DAC. Os componentes desta levedura podem induzir inflamação através de mecanismos não específicos, tais como alteração da libertação de mediadores ou através de reacções de hipersensibilidade específicas a antigénios.

Um sinal clínico comum na dermatite a *Malassezia* é o prurido que pode ser severo. Cerca de 50% dos cães com dermatite a *Malassezia* são atópicos ou afectados por outras doenças alérgicas (alergia alimentar ou DAPP), mas defeitos primários da cornificação da pele e endocrinopatias são também comuns (DeBoer & Marsella, 2001; Prélaud, 2005).

A *Malassezia pachydermatis* é parte da flora cutânea normal. Os factores que estão presentes na DAC e que podem levar ao seu sobrecrescimento são: uma diminuição da função de barreira da pele, aumento da humidade na pele (hiperhidrose) e infecções bacterianas secundárias. Outro factor predisponente que frequentemente também pode ser encontrado nos cães atópicos é o recurso a certas terapêuticas, como o uso prolongado de glucocorticóides e os tratamentos com antibióticos (Chen & Hill, 2005).

Existem evidências que sob certas condições pode desenvolver-se uma reacção de hipersensibilidade imediata a antigénios de *Malassezia*, com produção de IgE contra antigénios desta levedura, o que exacerba a gravidade das lesões e do prurido; contudo, as alterações imunológicas específicas continuam por determinar (DeBoer & Marsella, 2001; Prélaud, 2005). Foi demonstrada reactividade imediata a extractos de *M. pachydermatis* em testes intradérmicos de cães atópicos, usando concentrações que não causaram reacção em cães saudáveis (Morris, Olivier & Rosser, 1998; Lourenço, Peleteiro & Correia, 2005). Foi também determinado que os cães atópicos possuem níveis superiores de IgG e IgE específicas para *Malassezia* em relação a cães saudáveis, e que estes níveis não são dependentes da presença de elevados números de leveduras (Nuttall & Halliwell, 2001). As proteínas de *M. pachydermatis* com peso molecular de 45, 52, 56 e 63 kDa provaram ser antigénios *major* reconhecidos por IgE em mais de 50% do soro de cães atópicos com dermatite a *Malassezia* (Chen, Halliwell, Pemberton & Hill, 2002). Foi ainda demonstrado que é possível a transferência passiva de hipersensibilidade imediata a este organismo, o que indica que os anticorpos IgE anti-*Malassezia* são funcionais nas reacções de hipersensibilidade do tipo I (Morris & DeBoer, 2003).

O diagnóstico de dermatite e/ou de otite a *Malassezia* é comumente realizado por citologia. As lesões caracterizam-se por eritema, alopecia, exsudado oleoso e vários graus

de descamação; os casos mais crónicos podem apresentar hiperpigmentação e liquenificação marcadas (Chen & Hill, 2005). As amostras citológicas podem ser colhidas usando fita adesiva, raspagens cutâneas, zaragatoas ou por impressão directa. Os achados citológicos consistem na observação de leveduras com forma oval ou de “amendoim/boneco-de-neve”. Não existe nenhum número definido para diagnosticar a dermatite a *Malassezia*, mas entre > 2 leveduras por campo (x 400) até >10 leveduras por campo (x 1000), é considerado um número significativo (Nuttall, 2003). Devido à grande variabilidade de números apontados na literatura, outros autores indicam que a existência de uma levedura por campo (x 1000) na presença de sinais clínicos, indica o sobrecrescimento de *M. pachydermatis* (Chen & Hill, 2005). Parece lógico que a importância do número de leveduras encontradas na citologia dependa também da existência de reacções de hipersensibilidade.

5.1 Tratamento antimicrobiano

As infecções secundárias são muito frequentes na DAC e podem ser bacterianas (piodermite de superfície, superficial ou profunda; otites) ou fúngicas (dermatite e/ou otite a *Malassezia*).

Enquanto a piодermite de superfície pode ser tratada topicamente, as piодermites superficial e profunda necessitam de antibioterapia sistémica. Na piодermite superficial o antibiótico deve ser usado por um período mínimo de 3 semanas, incluindo pelo menos uma semana após o desaparecimento das lesões. Na piодermite profunda é necessário um tratamento mínimo de 6 semanas, que deve ser continuado pelo menos 2 semanas após a resolução das lesões (Noli, 2003).

Como já referido o organismo mais comumente implicado nas infecções bacterianas é o *S. intermedius* e é aceite que na maioria dos casos o antibiótico pode ser escolhido de forma empírica (Noli, 2003). Vem referido na bibliografia que a penicilina, amoxicilina e ampicilina não são eficazes na piодermite por estafilococos, porque são antibióticos sensíveis às β -lactamases produzidas pela maioria dos isolados de *S. intermedius* (Harvey & Hunter, 1999; DeBoer, 2006; May, 2006). Também a tetraciclina não está indicada, pois a maioria dos estafilococos é resistente a este antibiótico (DeBoer, 2006; May, 2006). As sulfonamidas potenciadas, eritromicina, lincomicina ou clindamicina são indicadas como escolhas razoáveis. Antibióticos indicados como sendo particularmente eficazes nestas infecções são as cefalosporinas, associação amoxicilina-ácido clavulânico e penicilinas resistentes às penicilinases como a oxacilina. Os aminoglicosídeos e as fluoroquinolonas, apesar de serem geralmente eficazes contra os estafilococos, devem ser reservados para agentes

patogénicos mais sérios em que não existem outras opções terapêuticas (DeBoer, 2006; May, 2006).

Os antibióticos recomendados para a primeira ocorrência de piodermite superficial são as associações trimetoprim-sulfonamidas (pode não ser eficaz em infecções profundas e muito exsudativas), eritromicina (tem um espectro estreito, mas rapidamente induz resistência bacteriana com resistência cruzada para a lincomicina), lincomicina, outros macrólidos e lincosamidas (Noli, 2003).

Relativamente às piodermite recorrentes ou profundas os antibióticos que se seguem são eficazes na maioria das piodermite por estafilococos e podem ser escolhidos de forma empírica ou após um TSA: cefalosporinas (as de primeira geração são excelentes escolhas para as piodermite recorrentes), amoxicilina-ácido clavulânico, penicilinas resistentes às β -lactamases (cloxacilina, dicloxacilina, nafcilina e oxacilina), rifampina (é um antibiótico bactericida capaz de penetrar em lesões crónicas, granulomatosas e profundas, mas a resistência desenvolve-se rapidamente e deve ser sempre administrado com outro antibiótico bactericida como a cefalexina; não deve ser administrado com a enrofloxacin pois esta antagoniza os seus efeitos) e fluoroquinolonas. A resistência bacteriana a estes antibióticos é geralmente rara, mesmo após tratamentos longos e repetidos e são geralmente bem tolerados (Noli, 2003).

Os cremes e loções contendo antibióticos são recomendados apenas em lesões muito localizadas, como a pododermatite. A bacitracina, a mupirocina e o ácido fusídico são antibióticos usados em preparações tópicas com eficácia contra os estafilococos e com um baixo nível de resistência (Werner & Russel, 1999; Noli, 2003).

Quanto à susceptibilidade antimicrobiana vem descrito na literatura que o *S. intermedius* é muito susceptível (> 95%) a várias fluoroquinolonas, à associação amoxicilina-ácido clavulânico, à oxacilina e às cefalosporinas de 1ª geração. É descrita uma boa eficácia (> 75%) para a lincomicina, clindamicina, tilosina, eritromicina e cloranfenicol (Scott, 2001a). Contudo, a percentagem de estirpes resistentes a várias classes de antibióticos varia entre continentes, países e altera-se com o tempo e tem-se verificado um aumento das resistências para vários antibióticos em estirpes de *S. intermedius* (Ganière, Medaille & Mangion, 2005; Hauschild & Wójcik, 2007; Jones, Kania, Rohrbach, Frank & Bemis, 2007).

Em França, num estudo de 50 isolados de *S. intermedius* de piodermite caninas não foi observada resistência adquirida à associação amoxicilina-ácido clavulânico, oxacilina, cefalosporinas (cefalexina, ceftiofur e cefquinoma), trimetoprim, co-trimoxazol e florfenicol; foi observada resistência às penicilinas sensíveis às β -lactamases (62%), à oxitetraciclina (46%), estreptomicina, canamicina, neomicina e eritromicina (28%), à clindamicina (22%) e à gentamicina e fluoroquinolonas (2%) (Ganière *et al.*, 2005). Noutro estudo semelhante realizado em Itália conclui-se que a maioria dos isolados de *S. intermedius* (n=140) era

altamente susceptível a antibióticos de primeira linha como as cefalosporinas, fluoroquinolonas, sulfonamidas potenciadas, ácido fusídico, cloranfenicol e amoxicilina-clavulanato; este estudo comprovou uma alta resistência à penicilina (44%) e tetraciclina (40%) (Vanni *et al.*, 2006). Em Portugal, um estudo de 75 estirpes de *S. intermedius* isoladas de piodermite e otites detectou um alto nível de resistência à amoxicilina (33.8%), susceptibilidade total à associação amoxicilina-clavulanato, oxacilina, cefalosporinas (cefotaxima, cefotriaxona) e vancomicina e um baixo nível de resistência às fluoroquinolonas, com apenas uma estirpe resistente à enrofloxacin (1.35%). Os autores deste último estudo confirmam que a associação amoxicilina-clavulanato, as cefalosporinas de 1ª geração e as fluoroquinolonas continuam a ter um grande valor no tratamento empírico das infecções cutâneas por *S. intermedius* (Correia *et al.*, 2003). O mesmo é indicado pelos estudos realizados em França e na Itália, o que vem então confirmar que apesar da emergência de resistências entre estirpes de *S. intermedius*, o tratamento empírico continua a justificar-se.

De forma semelhante ao que acontece com a antibioterapia também alguns autores sugerem que deveria ser prescrito um tratamento antifúngico com quetoconazole de forma sistemática nos pacientes com DAC (DeBoer & Marsella, 2001). Esta recomendação é questionável e Prélud (2005) prefere reservar esta terapia para as formas de dermatite a *Malassezia* muito pruriginosas ou em que o tratamento tópico é ineficaz.

Existem várias opções terapêuticas tópicos e sistémicas para tratar a dermatite a *Malassezia* e o tratamento deve ser adaptado a cada paciente. A combinação da terapia tópica e sistémica pode acelerar a resolução e aumentar a eficácia (Chen & Hill, 2005).

Os agentes antifúngicos tópicos incluem a clorhexidina, clotrimazole, enilconazole, quetoconazole, miconazole, nistatina e o sulfido de selénio; são usados em vários produtos tópicos como sprays, champôs e emulsões (Chen & Hill, 2005). Áreas localizadas de dermatite a *Malassezia* podem ser tratadas com a aplicação focal de um destes produtos, mas o corpo inteiro deve ser tratado se existirem lesões multifocais ou generalizadas. O tratamento deve ser continuado diariamente ou três vezes por semana até à resolução e depois quando necessário para manter a remissão (Nuttall, 2003). Nas formas de dermatite a *Malassezia* em que o tratamento tópico é ineficaz ou insuficiente, o recurso ao quetoconazole ou ao itraconazole é necessário por um período de duas semanas (quatro semanas para as formas graves) e deve ser continuado 7 a 14 dias após a cura clínica. Periodicamente ao longo da terapia o hemograma e perfil bioquímico devem ser monitorizados, o que está relacionado com os efeitos secundários descritos: anorexia, vômito, diarreia e hepatotoxicidade (Nuttall, 2003; Chen & Hill, 2005).

Se as recidivas forem frequentes os champôs ou a medicação oral administrada de forma pulsátil, podem ser usadas profilacticamente (Nuttall, 2003; Chen & Hill, 2005; Prélaud, 2005).

5.2 Importância dos *Staphylococcus* spp. multiresistentes e meticilina resistentes na infecção cutânea canina

Existe uma preocupação mundial em medicina humana e medicina veterinária no que diz respeito ao aparecimento de estirpes de *Staphylococcus* spp. multiresistentes e meticilina resistentes

O facto de o *S. intermedius* ser o agente bacteriano mais comumente implicado quer nas piodermites quer nas otites do cão, faz com que esta seja a espécie que é mais frequentemente controlada por antibioterapia nestas situações (Pellerin, Bourdeau, Sebbag & Person, 1998; Scott, 2001b; Bensignor, 2003; Noli, 2003; Hauschild & Wójcik, 2007). Como já referido tem-se verificado um aumento da resistência a vários antibióticos nesta espécie bacteriana e têm sido descritas estirpes multiresistentes isoladas de cães (Ganière *et al.*, 2005; Futagawa-Saito, Ba-Thein & Fukuyasu, 2007).

Relativamente às estirpes de *S. intermedius* meticilina-resistentes (MRSI) a sua frequência de isolamento é considerada baixa, mas é descrita em isolados cutâneos desde há algum tempo nos Estados Unidos da América (Kania *et al.*, 2004; Morris, Rook, Shofer & Rankin, 2006; Jones *et al.*, 2007) e começa a emergir na Europa (Loeffler *et al.*, 2007).

A existência de estirpes de *S. intermedius* multiresistentes e MRSI é preocupante se tivermos em conta que esta bactéria parece ser comum entre pessoal veterinário em contacto constante com cães e em donos de cães atópicos (Harvey, Marples & Noble, 1994; Guardabassi, Schwarz & Lloyd, 2004b). Uma vez que o *S. intermedius* é um comensal da pele canina e é normalmente raro no homem tem sido sugerido que a transmissão é feita a partir do cão. Guardabassi, Loeber e Jacobson (2004a) também determinaram que os donos de cães afectados por piodermite profunda frequentemente possuem a mesma estirpe de *S. intermedius* dos seus animais, e que estas estirpes podem ser resistentes a uma grande variedade de antibióticos. Foi ainda recentemente descrita a transmissão de estirpes de MRSI multiresistentes epidemiologicamente relacionadas, entre humanos e animais de companhia num hospital veterinário (Duijkeren, Ikawaty & Wagenaar, 2008).

É de salientar que o *S. intermedius* raramente causa doença no homem, mas existe um risco potencial de transmissão de genes para resistência entre os *S. intermedius* e os estafilococos patogénicos no homem. Por exemplo, os genes que conferem resistência à tetraciclina e plasmídeos estruturalmente relacionados com origem em *S. aureus* humanos,

têm sido também identificados em estirpes de *S. intermedius* caninas o que sugere que é possível a troca genética entre estas duas bactérias (Duquette & Nuttall, 2004; Guardabassi *et al.*, 2004a).

Recentemente, um estudo determinou que todas as estirpes MR do grupo SIG examinadas eram *S. pseudintermedius* e que essas estirpes evoluíram a partir de vários clones por aquisições múltiplas do gene *mecA* (Bannoehr *et al.*, 2007). As estirpes classificadas anteriormente como MRSI podem então ser na realidade *S. pseudintermedius* MR.

Apesar de não ser a espécie de estafilococos mais comumente isolada, o *S. aureus* tem sido implicado em piodermites e otites em cães (Medleau *et al.*, 1986; Lilenbaum, Veras, Blum & Souza, 2000; Hauschild & Wójcik, 2007).

Actualmente as infecções por *S. aureus* meticilina-resistentes (MRSA) nos animais de companhia têm ganho grande relevo dada a sua importância em medicina humana. A maioria das infecções por MRSA nos animais de companhia parecem ser adquiridas por contacto directo com humanos portadores e estar associadas a feridas cirúrgicas, outras feridas, hospitalização prolongada e/ou tratamentos imunossupressores (Duquette & Nuttall, 2004). Contudo, têm também sido descritas estirpes MRSA em infecções cutâneas no cão (Morris *et al.*, 2006) e foi recentemente isolada uma estirpe de um cão com pele inflamada (Griffeth, Morris, Abraham, Shofer & Rankin, 2008). No primeiro estudo foi também determinado que as estirpes de MRSA eram resistentes a um grande número de classes antimicrobianas, o que é comum em MRSA's (Morris *et al.*, 2006; Leonard & Markey, 2008).

Através de PFGE (*Pulsed field gel electrophoresis*) vários estudos têm determinado que a mesma estirpe de MRSA com o mesmo padrão de resistência pode ser identificada em humanos e animais em convivência ou que as estirpes de MRSA isoladas de animais são muito semelhantes às que causam infecções em humanos. Este facto sugere transmissão entre espécies mas não indica qual a direcção da transmissão. Contudo, parece ser provável que haja colonização/infecção dos animais através do contacto com humanos colonizados ou infectados e que os animais possam tornar-se fontes de reinfecção ou recolonização para o homem (Duijkeren, Wolfhagen, Heck & Wannet, 2005; Loeffler *et al.*, 2005; Strommenger *et al.*, 2006; Weese *et al.*, 2006; Boost, O'Donoghue & Siu, 2007; Leonard & Markey, 2008).

Os ECNs (estafilococos coagulase negativos) eram habitualmente considerados como organismos residentes e não patogénicos nos animais de companhia e no homem, mas a emergência de infecções nosocomiais associadas aos ECNs encontrados entre a flora normal da pele e membranas mucosas veio alertar para o seu potencial patogénico. Sabe-se actualmente que os ECNs são capazes de causar doença no homem e nos animais, e assim devem ser identificados pelos laboratórios de microbiologia veterinária e humana, e os dados sobre a sua susceptibilidade devem ser reportados (May, 2006). De acordo com

descrições anteriores o ECN mais frequentemente isolado no cão é o *S. epidermidis*, mas ultimamente a subespécie coagulase negativa de *Staphylococcus schleiferi* foi também isolada de cães (May, 2006).

Uma vez que os ECNs têm muitas vezes resistências antimicrobianas múltiplas, a inclusão destes estafilococos aparentemente mais oportunistas no estudo da resistência à meticilina é necessária (Kania *et al.*, 2004).

Recentemente, o *S. schleiferi* subespécie *schleiferi* foi isolado de piodermites em cães e foi detectada a resistência à meticilina nesses isolados (Frank, Kania, Hnilica, Wilkes & Bemis, 2003; Kania *et al.*, 2004; Griffeth *et al.*, 2008). Esta bactéria pode também ser isolada como o organismo predominante em otites, podendo ser MS (meticilina-susceptível) ou MR (meticilina-resistente) (May, Hnilica, Frank, Jones & Bemis, 2004). Não foram documentados até à data casos de zoonoses e antropozoonoses; contudo, se o homem e o cão podem ser portadores desta bactéria oportunista, o seu potencial zoonótico não deve ser esquecido. Esta pode ser a única espécie de estafilococos multiresistente que coloniza normalmente tanto o homem como o cão (Hnilica).

Pelas razões descritas pode depreender-se a importância da epidemiologia do padrão de resistência do *S. intermedius*, e do aparecimento de MRSA, MRSA e ECNs meticilina-resistentes na espécie canina. Embora até ao momento a existência destas estirpes não tenha sido especificamente avaliada nos pacientes com DAC, é provável que alguns dos casos de infecções cutâneas em que foram implicadas tenham como causa primária a DAC como acontece num estudo já referido (Loeffler *et al.*, 2007). A vigilância do aparecimento dessas estirpes parece ser pertinente nestes animais pois os cães atópicos são afectados frequentemente por infecções estafilocócicas ao longo da sua vida.

Morris *et al.* (2006) coloca a hipótese que a proliferação de estirpes MR em *S. intermedius* e *S. schleiferi* tornou o tratamento empírico menos seguro e que este pode necessitar de uma revisão. Segundo os mesmos autores parece justificar-se a recomendação que se o tratamento empírico como primeira abordagem falhar, seja feita cultura em vez de tentar o tratamento com outros antibióticos; a mesma recomendação é feita por Griffeth *et al.* (2008), que acrescenta que a falha dos antibióticos de primeira linha deve levantar a suspeita de multiresistência.

Relativamente às medidas de controlo e tratamento necessárias para os estafilococos MR, foram estabelecidas linhas de orientação pela *British small animal veterinary association* (BSAVA) para lidar com o MRSA (BSAVA-Scientific-Committee, Nuttall, Cookson & Ridgeway, 2007). São descritas medidas para prevenir o estabelecimento e disseminação do MRSA nas clínicas e hospitais veterinários, mas parece lógico que estas medidas tenham a mesma acção sobre outros estafilococos MR.

Um dos pontos fundamentais nas medidas de prevenção dos MRSA é uma boa higiene, particularmente das mãos do pessoal veterinário, o que permite prevenir a disseminação do MRSA entre animais e entre animais e pessoas. A lavagem das mãos e desinfecção das diversas superfícies e equipamentos deve ser feita entre pacientes. Um uso racional dos antibióticos é também importante. Outras medidas incluem a utilização de uniformes que devem ser lavados na própria clínica ou hospital; protecção adequada (luvas, máscaras, etc.) quando se contacta com materiais potencialmente contaminados; padrões rigorosos de assépsia em procedimentos invasivos e medidas gerais que permitem a manutenção de uma boa higiene.

A identificação de animais colonizados ou infectados é importante, mas não é prático testar todos os animais antes da sua admissão. Contudo, é importante identificar infecções por MRSA em pacientes com risco conhecido. Devem ser recolhidas amostras microbiológicas de animais com feridas que não cicatrizam; com infecções não responsivas à antibioterapia e nos quais foi demonstrada a presença de estafilococos por citologia/cultura prévia; ou com infecções nosocomiais ou secundárias (especialmente nos pacientes imunocomprometidos, hospitalizados por longos períodos, com soluções de continuidade extensas a nível cutâneo ou das mucosas, ou submetidos a processos cirúrgicos invasivos). Também devem ser testados animais provenientes de círculos familiares em que foram detectados MRSA ou cujos donos trabalham em instituições de saúde. Pode também ser necessário testar animais hospitalizados se tiver sido demonstrada a transmissão de MRSA na clínica/hospital ou quando se sabe que os funcionários estão colonizados. Os animais identificados como MRSA positivos ou suspeitos devem ser admitidos na clínica com precauções para prevenir o seu contacto com outros animais e a contaminação da própria clínica; estes animais devem ser isolados e os funcionários que contactem com estes pacientes devem usar medidas de protecção adequadas, entre as quais métodos de barreira. O tratamento dos animais infectados com MRSA deve ser feito com base em testes de susceptibilidade. Antes de terem alta os pacientes MRSA positivos devem ser testados e se continuarem colonizados os riscos e precauções devem ser discutidos com o dono. Estes animais podem ser tratados com champôs antibacterianos e antimicrobianos nasais tais como clorhexidina, neomicina e mupirocina bid ou tid. É aceite que não é geralmente necessário fazer testes de rotina aos funcionários nem ao ambiente da clínica/hospital. Esta análise pode contudo ser necessária se se verificarem vários casos de infecção, o que sugere que o MRSA se pode ter tornado endémico.

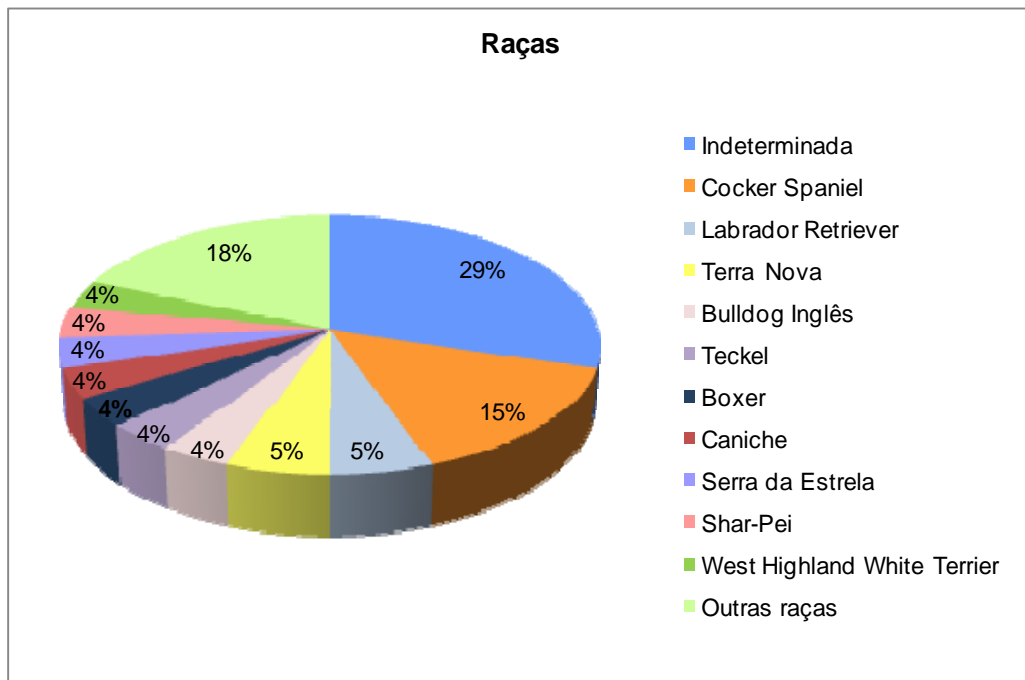
III. Estudo do doente atópico canino com infecção cutânea na área da Grande Lisboa

1. Epidemiologia clínica dos doentes atópicos caninos com infecção cutânea na área da Grande Lisboa

Os animais incluídos neste capítulo e seguinte foram estudados no âmbito do projecto CIISA Atopia 61, no qual participam a Dr.^a Ana Mafalda Lourenço Martins sob orientação do Professor Doutor José Henrique Duarte Correia e sob co-orientação da Professora Doutora Conceição Peleteiro. Foi feito um estudo retrospectivo de 55 animais com infecção cutânea incluídos nesse projecto, no que respeita aos resultados das citologias e dos antibiogramas. Neste subcapítulo é feito o estudo epidemiológico desses animais quanto ao sexo, raça e idade. Apesar de 6 animais se terem apresentado à consulta com sinais de infecção secundária em períodos distintos, o mesmo animal foi considerado apenas uma vez.

1.1 Distribuição rácica

Figura 2. Distribuição rácica dos doentes atópicos com infecção cutânea (n=55).



A prevalência das diferentes raças de cães varia de país para país e dentro do mesmo de acordo com factores como o estilo de vida dos donos, o nível económico e até as “modas”

da altura. Assim sendo, é de esperar que tal condicione a representatividade das várias raças numa determinada patologia.

Em relação à população de cães em estudo (figura 2) observou-se que a maior prevalência foi de cães de origem indeterminada (29%) seguida do Cocker Spaniel (15%), Labrador Retriever (5%) e Terra Nova (5%).

Relativamente à maior prevalência de cães de origem indeterminada, estes resultados estão em consonância com a realidade do nosso país e da nossa cidade.

Como já mencionado o Cocker Spaniel e o Labrador Retriever são consideradas raças predispostas para o desenvolvimento de DAC (Griffin & DeBoer, 2001; Mueller & Jackson, 2003). Num estudo em que uma amostra de cães atópicos foi comparada com a população hospitalar foram encontradas cinco raças mais frequentemente diagnosticadas com dermatite atópica, entre as quais figuraram o Cocker Spaniel e o Labrador Retriever (Zur, Ihrke, White & Kass, 2002). Noutro estudo realizado na Grécia também o Cocker Spaniel foi considerada uma raça predisposta (Saridomichelakis, Koutinas, Gioulekas & Leontidis, 1999).

Recentemente na Suíça foi feito um estudo que comparou uma amostragem de cães atópicos com a população canina daquele país, e determinou-se que as raças predispostas ao desenvolvimento de dermatite atópica *sensu stricto* são o West Highland White Terrier, Boxer, Bull Terrier, Bulldog Francês, Vizsla e o Basset (Picco *et al.*, 2008). Seria interessante fazer o mesmo no nosso país, embora a não existência da obrigatoriedade do registo dos canídeos num programa semelhante ao existente na Suíça torne esse tipo de estudo muito difícil.

A distribuição rácica no presente estudo foi também investigada separando os animais em dois grupos: pacientes com piodermite e pacientes com otite externa. Os resultados estão representados nas figuras 3 e 4.

Figura 3. Distribuição rácica dos doentes atópicos com piodermite (n=36).

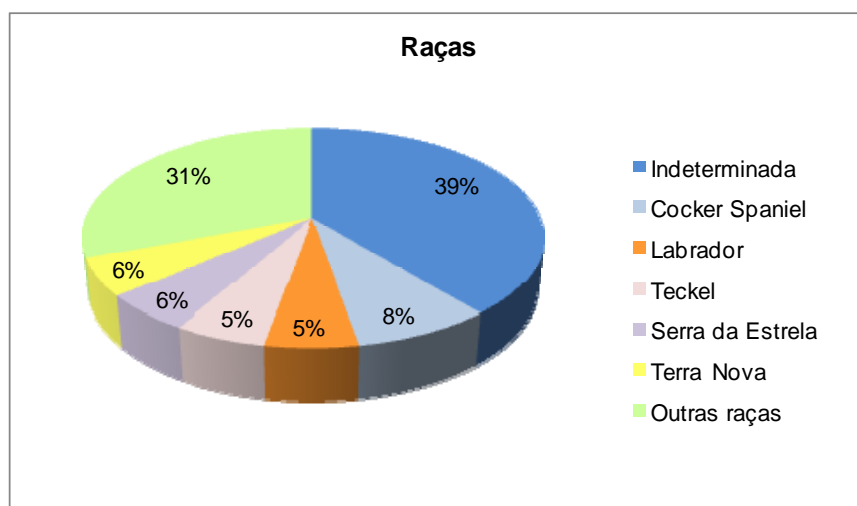
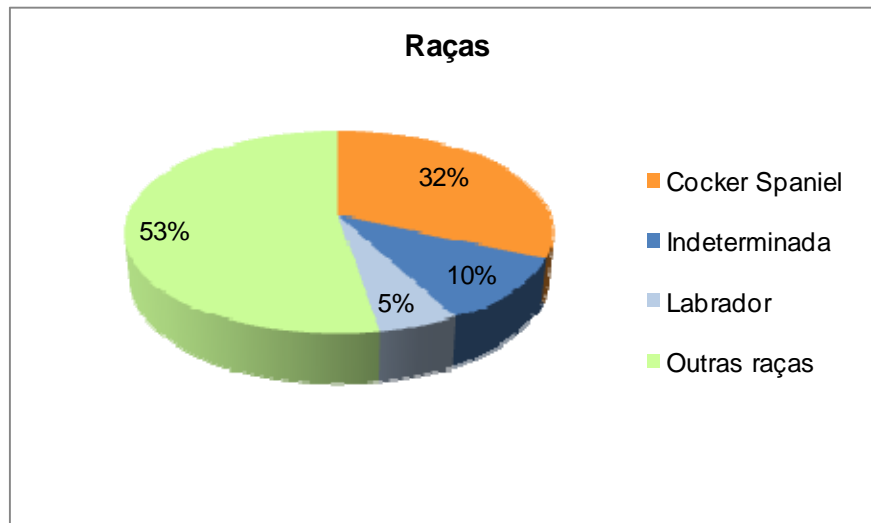


Figura 4. Distribuição rácica dos doentes atópicos com otite externa (n=19).



Como se pode ver a distribuição rácica nos pacientes com piodermite segue a tendência da totalidade da população em estudo.

Contudo, nos pacientes com otite externa a raça com maior representatividade foi o Cocker Spaniel, seguida dos cães de origem indeterminada.

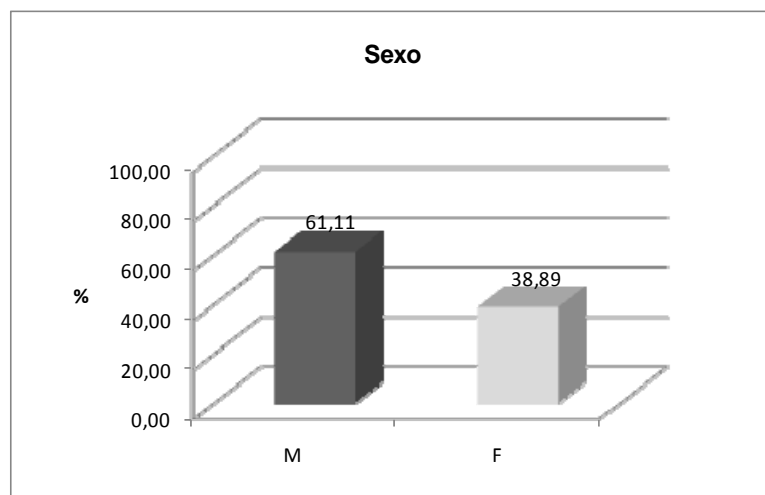
A maior proporção dos Cocker Spaniel provavelmente está relacionada com a predisposição desta raça para o desenvolvimento de otites externas. Os factores predisponentes são a conformação pendular e a presença de pêlos no pavilhão auricular, a par da grande densidade de folículos pilosos compostos no conducto auditivo e de uma tendência para a produção excessiva de cerúmen (Rosser, 2004; Saridomichelakis, Farmaki, Leontides & Koutinas, 2007). Como já referido esta raça é também predisposta para o desenvolvimento de dermatite atópica, que é uma causa primária comum de otites externas (Griffin & DeBoer, 2001; Rosser, 2004).

1.2 Distribuição sexual

Como se pode ver na figura 5, houve uma predominância do sexo masculino em relação ao feminino.

Tal como já referido os dados são inconsistentes no que diz respeito à existência de uma predisposição sexual na DAC, num estudo foi referida predisposição para os machos, noutros para fêmeas e em alguns estudos para nenhum dos sexos (Griffin & DeBoer, 2001). Os estudos mais recentes parecem indicar que não existe uma predisposição sexual na atopia (Saridomichelakis *et al.*, 1999; Zur *et al.*, 2002).

Figura 5. Distribuição sexual dos doentes atópicos com infecção cutânea (n=55).



Legenda: M, masculino; F, feminino.

Quando investigada a frequência relativa dos dois sexos nos pacientes caninos, durante o período de estágio efectuado no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa, verificou-se uma distribuição de sexos semelhante (tabela 6). Portanto, é provável que a distribuição sexual dos doentes atópicos com infecção cutânea siga a tendência geral da população hospitalar.

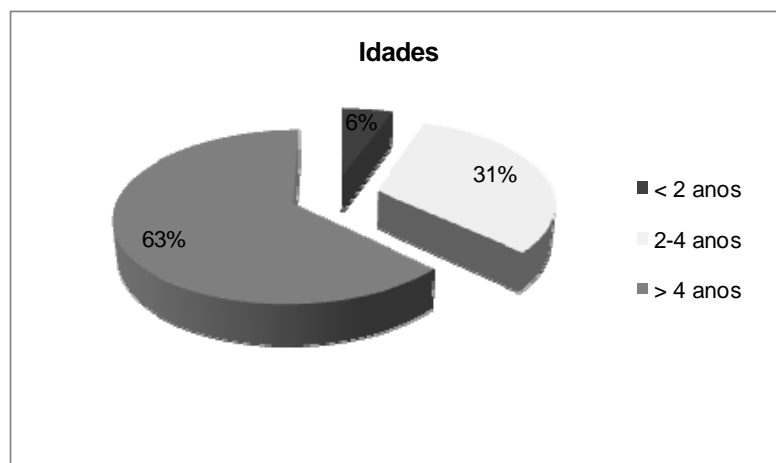
Tabela 6. Frequências relativas por sexo dos canídeos atendidos em consulta no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa durante o período de estágio (n=245).

Sexo	Canídeos FR (%)
Feminino	41,22
Masculino	58,78
Total	100,00

1.3 Distribuição etária

Na figura 6 está representada a distribuição das idades. A maioria dos doentes atópicos com infecção cutânea neste estudo possui mais de quatro anos e os resultados sugerem que o desenvolvimento deste tipo de infecção é relativamente raro em animais com menos de dois anos.

Figura 6. Distribuição etária dos doentes atópicos com infecção cutânea (n=55).



Como já referido a idade típica de aparecimento de DAC é entre os 6 meses e os 3 anos, sendo pouco comum o aparecimento de sinais clínicos em cães com menos de 6 meses e mais de 7 anos (Griffin & DeBoer, 2001; Marsella & Olivry, 2003). O facto de existir uma grande prevalência na amostra estudada de animais com idade superior a 4 anos, está provavelmente relacionado com a população ter sido obtida de uma consulta de segunda opinião. De facto, parece existir uma maior cronicidade e gravidade dos casos de DAC referenciados na consulta de dermatologia.

Outra explicação possível é que embora as infecções cutâneas sejam comuns ao longo da vida de um animal atópico, possam ter maior predisposição para se manifestarem mais tarde na vida do animal. Esta hipótese não pode ser confirmada uma vez que não foi possível a comparação com uma população geral de cães atópicos.

2. Diagnóstico citológico de infecção cutânea

2.1 Material e métodos

2.1.1 Amostra populacional

A amostragem compreendeu 55 cães atópicos que se apresentaram à consulta de dermatologia no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa caracterizada neste capítulo em 1. O diagnóstico de atopia foi feito com base nos critérios de Willemse (1986;1988) e após exclusão de outras doenças causadoras de prurido. Para excluir a existência de alergia alimentar todos os cães fizeram uma ração hipoalergénica durante oito semanas. Foram respeitados tempos de privação farmacológica em relação aos antihistamínicos e corticosteróides para a realização de provas serológicas ou testes intradérmicos.

A escolha dos animais para o presente estudo foi feita de forma retrospectiva consultando a base de dados do Laboratório de Análises Clínicas Dr. Braço Forte da FMV-UTL quanto à existência de análises bacteriológicas de cães atópicos. Os dados das citologias desses animais foram também recolhidos de forma retrospectiva e são relativos à data em que foi feita a colheita para análise bacteriológica.

Na altura a que se referem os resultados do presente estudo os animais tinham já sido diagnosticados com dermatite atópica e apresentavam lesões compatíveis com piodermite superficial (pápulas, pústulas, colaretes epidérmicos e crostas), otite bacteriana ou otite/dermatite a *Malassezia*.

2.1.2 Recolha das amostras e interpretação dos achados citológicos

Nos casos de piodermite superficial a recolha das amostras foi feita pelo método de impressão directa. Sucintamente uma pústula intacta foi aberta com uma agulha de 25 *gauge* (agulha intradérmica) e o material recolhido para uma lâmina de microscópio.

Nas otites foi usada uma zaragatoa estéril, introduzida no canal auricular vertical tendo o cuidado de não danificar a membrana timpânica. O exsudado foi transferido para uma lâmina de microscópio por rolamento.

Nos casos de dermatite a *Malassezia* foi usada a técnica da fita adesiva; a parte aderente de um pedaço de fita adesiva foi firmemente pressionada contra a área lesional várias vezes e a fita adesiva foi depois montada numa lâmina de microscópio.

As amostras assim recolhidas foram coradas pelo método de Giemsa e observadas ao microscópio.

A valorização dos achados citológicos foi feita da seguinte forma: a observação de polimorfonucleares neutrófilos com formas cocoides fagocitadas ou a visualização de pelo menos um bastonete por campo, foi considerada compatível com piodermite ou otite bacteriana; a observação de leveduras com forma oval ou de “amendoim/boneco-de-neve” em número ≥ 3 por campo na ampliação de (x 1000) em 20 campos, foi considerada compatível com dermatite ou otite a *Malassezia*.

2.2 Resultados e discussão

Os resultados das citologias são apresentados na figura 7 para as infecções cutâneas e na figura 8 para as otites.

Foi considerado que o animal possuía infecção bacteriana se na citologia foram observados apenas cocos intracelulares em polimorfonucleares neutrófilos ou bastonetes; a designação de infecção mista foi dada quando além desses achados foram simultaneamente encontradas leveduras.

Figura 7. Classificação do tipo de infecção cutânea de acordo com a avaliação citológica (n=36).

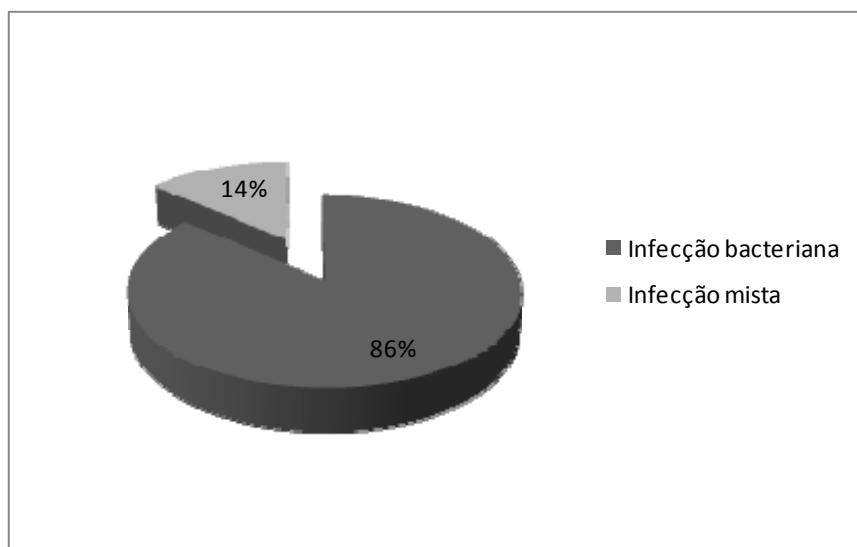
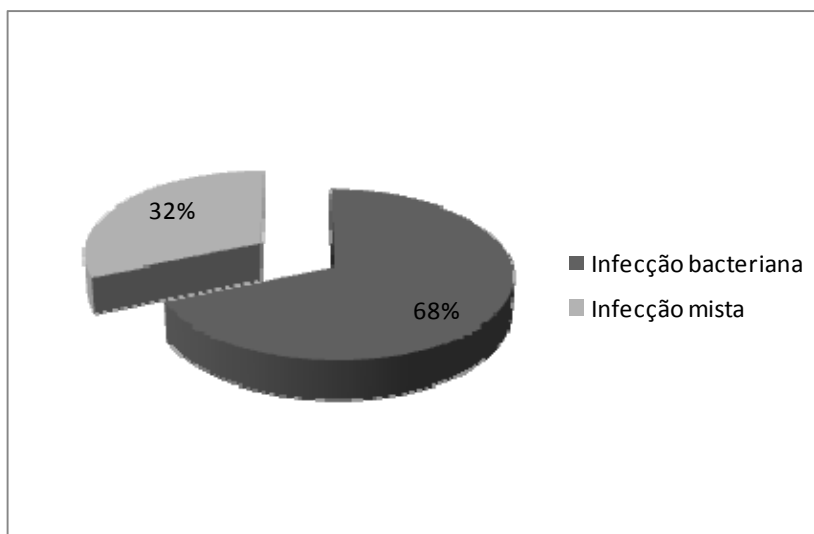


Figura 8. Classificação do tipo de infecção auricular de acordo com a avaliação citológica (n=19).



Da análise das figuras 7 e 8 pode concluir-se que 14% dos animais com infecção cutânea e 32% dos animais com infecção auricular possuíam uma infecção mista. Quando considerada a população total (n=55), 20% apresentava infecção mista.

Portanto, parte dos animais com infecção bacteriana eram concomitantemente afectados por infecção por leveduras (*Malassezia*). Tal facto está de acordo com a bibliografia que indica que os pacientes com DAC podem ser afectados por infecções mistas (Mueller & Jackson, 2003).

O facto de não existirem animais com diagnóstico citológico de otite/ dermatite a *Malassezia* está relacionado com a escolha dos animais, uma vez que o presente estudo foi feito de forma retrospectiva a partir de uma base de dados bacteriológica.

3. Etiologia da infecção cutânea bacteriana no doente atópico canino e estudo da susceptibilidade aos antibióticos

3.1 Material e métodos

3.1.1 Amostra populacional

A amostra populacional compreendeu os animais referidos anteriormente em 2.1.1, tendo por base os critérios já referidos.

Seis animais apresentaram-se à consulta com sinais de infecção secundária em períodos distintos e em quatro animais foram isoladas da mesma zangaratoa duas espécies bacterianas diferentes.

3.1.2 Cultura bacteriológica das zangaratoas de pele e conducto auditivo externo

Nos casos de piodermite superficial a colheita das amostras foi feita através de uma zangaratoa estéril que recolheu o conteúdo de uma pústula intacta, previamente aberta com uma agulha de 25 gauge (agulha intradérmica). Nas otites uma zangaratoa estéril foi introduzida no canal auricular vertical tendo o cuidado de não danificar a membrana timpânica.

Em todas as zangaratoas cutâneas e auriculares colhidas efectuou-se a cultura bacteriológica, segundo as normas padrão. Assim, as zangaratoas foram semeadas através de sementeira directa por estria na superfície de um meio não selectivo - agar Columbia com 5% de sangue de carneiro – e de um meio selectivo para bacilos Gram negativos – agar MacConkey (bioMérieux, Lisboa, Portugal). As placas de agar foram incubadas a 37°C, em aerobiose, durante 18 a 24 horas. Considerou-se um resultado positivo quando ocorreu crescimento em cultura predominante ou pura no primeiro ou segundo quadrantes da sementeira em placa e se os resultados se encontravam de acordo com a citologia.

O diagnóstico microbiológico dos agentes bacterianos responsáveis pela infecção bacteriana cutânea ou auricular, foi efectuado inicialmente pelo reconhecimento de colónias com base na morfologia, características de crescimento em meio selectivo ou não, morfologia microscópica, coloração Gram e provas da catalase e oxidase. Foram utilizados os sistemas de biotipia “API 20E” (bioMérieux), “BBL Crystal Gram positive kit” e “BBL Non fermenter kit” (Becton Dickinson, Quilaban, Lisboa, Portugal) para a identificação da espécie.

3.1.3 Testes de susceptibilidade aos antibióticos

3.1.3.1 Antibiograma

O antibiograma foi executado pela técnica de difusão em gelose (método dos discos ou de Kirby-Bauer), usando o meio de Muller-Hinton (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) e os seguintes discos de antibióticos (Oxoid, Basingstoke, United Kingdom): penicilina G (10 UI), amoxicilina (25µg), amoxicilina-clavulanato (20/10µg), ampicilina (10µg), ticarcilina (75µg), piperacilina (100µg), piperacilina-tazobactam (100/10µg), oxacilina (1µg), cefalotina (30µg), cefuroxima (30µg), ceftazidima (30µg), ceftriaxona (30µg), cefotaxima (30µg), cefixima (5µg), aztreoname (30µg), imipeneme (10µg), gentamicina (10µg), ampicacina (30µg), tobramicina (10µg), netilmicina (30µg), ácido nalidíxico (30µg), cloranfenicol (30µg), tetraciclina (30µg), levofloxacina (5µg), ciprofloxacina (5µg), enrofloxacina (5µg), marbofloxacina (5µg), trimetoprim-sulfametoxazol (1,25/23,75µg), clindamicina (2µg), vancomicina (30µg), ácido fusídico (10µg) (tabelas 7 a 10).

A inoculação do meio de Muller-Hinton foi feita por sementeira usando uma zaragatoa previamente mergulhada numa suspensão bacteriana com turvação equivalente à unidade 0,5 da escala de McFarland. De modo a ser obtida uma cultura confluenta, os discos de antibióticos foram aplicados e após pré-difusão durante 15 minutos à temperatura ambiente, as placas foram incubadas a 37°C durante 18 horas. O halo de inibição corresponde a uma zona em torno do disco de antibiótico em que o crescimento bacteriano é inibido se a estirpe bacteriana for susceptível ao antibiótico em causa, e o tamanho deste halo é proporcional a esse grau de susceptibilidade. A leitura e interpretação dos diâmetros críticos dos halos foram feitas como descrito em 3.1.3.4.

A detecção de β-lactamases de espectro alargado foi efectuada pelo teste de sinergia com disco duplo (Jarlier, Nicolas, Fournier & Philippon, 1988). Sucintamente, numa placa inoculada com suspensão bacteriana, como anteriormente descrito, foram aplicados discos de quatro antibióticos, ceftazidima, aztreoname, cefotaxima e ceftriaxona, a uma distância de 25 mm do disco central de amoxicilina-clavulanato. A existência de sinergia entre a associação amoxicilina-ácido clavulânico e qualquer dos quatro antibióticos em redor, foi considerado como resultado positivo.

A estirpe de referência *E. coli* ATCC 25922 e *S. aureus* ATCC 25923 foram utilizadas para o controlo de qualidade dos ensaios de susceptibilidade aos antibióticos efectuados pelo método de Kirby-Bauer (antibiograma).

3.1.3.2 Determinação de concentrações inibitórias mínimas

Foram determinadas as CIMs para duas estirpes de *S. intermedius* e uma de *S. simulans*, previamente estudadas usando antibiograma.

A susceptibilidade aos antibióticos foi determinada por determinação de concentrações inibitórias mínimas (CIMs) com os painéis DADE MicroScan[®], utilizando os sistemas Prompt[™] e RENOK[®] para a inoculação e rehidratação. Foram seguidas as instruções do fabricante. Os antibióticos testados por este kit foram os seguintes: penicilina, amoxicilina-ácido clavulânico, ampicilina, oxacilina, cefotaxima, gentamicina, netilmicina, cloranfenicol, tetraciclina, ciprofloxacina, levofloxacina, moxifloxacina, gatifloxacina, clindamicina, vancomicina, teicoplanina, trimetoprim-sulfametoxazol, quinopristina-dalfopristina, linezolide, azitromicina, ácido fusídico e mupirocina.

Sucintamente usando o sistema Prompt[™], três colónias bem individualizadas foram recolhidas de uma placa de cultura primária e suspensas por agitação no frasco que contém o diluente fornecido pelo fabricante. A suspensão bacteriana foi colocada no tabuleiro de sementeira e transferida para o painel DADE MicroScan[®], usando o sistema RENOK[®] para a sua inoculação e rehidratação.

Os painéis DADE MicroScan[®] assim preparados foram incubados a 37°C durante 18 a 24 horas, período após o qual os resultados das CIMs foram analisados como indicado pelo fabricante. A leitura e interpretação das CIMs foram feitas como descrito em 3.1.3.5.

A CIM (concentração inibitória mínima) é definida como a menor concentração de antibiótico que inibe completamente o crescimento bacteriano (NCCLS, 2002).

3.1.3.3 Categorias interpretativas

Os halos de inibição obtidos por métodos de difusão em disco correlacionam-se inversamente com as CIMs de testes de diluição.

Existem critérios interpretativos ou *breakpoints* para os diâmetros críticos dos halos e para as CIMs, classificando os organismos como susceptíveis, intermédios, flexíveis ou resistentes relativamente aos antibióticos testados. Os *breakpoints* dos halos de inibição e CIMs são correlacionados com base na regressão diâmetro do halo *versus* CIM, distribuições da população, farmacocinética e estudos de eficácia clínica (NCCLS, 2002).

3.1.3.3.1 Susceptível (S)

Existe uma alta probabilidade de um resultado clínico favorável quando o fármaco for administrado na dose prevista, devido aos parâmetros farmacodinâmicos adequados relativamente à CIM do organismo em causa (NCCLS, 2002).

3.1.3.3.2 Intermédio (I)

Esta categoria promove a existência de uma zona tampão, que previne que pequenos factores técnicos causem discrepâncias na interpretação (ex: um organismo resistente ser classificado como susceptível ou um organismo susceptível ser classificado como resistente), especialmente para fármacos com margens de segurança pequenas.

Esta categoria inclui estirpes com CIMs que se aproximam ou podem exceder as concentrações plasmáticas ou níveis tecidulares geralmente alcançáveis (mas que não têm doses flexíveis); e para as quais a resposta pode ser menor que para as estirpes classificadas como susceptíveis. Estas estirpes podem ser inibidas com concentrações atingíveis de certos fármacos:

- em locais do corpo, como o tracto urinário, em que os antibióticos são fisiologicamente acumulados (ex: quinolonas, β -lactâmicos); e
- desde que o fármaco tenha uma margem de farmacotoxicidade grande e seja administrada na dose máxima (β -lactâmicos).

Se o organismo não for susceptível a outros antibióticos, se o local de infecção não for um em que os antibióticos são concentrados ou se uma alta dose não pode ser usada, o teste deve ser repetido (NCCLS, 2002).

3.1.3.3.3 Flexível (F)

Estes organismos podem ser considerados susceptíveis se modificações apropriadas da dose forem aplicadas (NCCLS, 2002).

3.1.3.3.4 Resistente (R)

Não haverá um resultado clínico favorável, porque as concentrações sistémicas atingíveis são menores que a CIM do organismo com esquemas de dosagem normais ou porque existem resistências antimicrobianas específicas (NCCLS, 2002).

3.1.3.4 Categorias interpretativas usadas no antibiograma

A leitura e interpretação dos diâmetros críticos dos antibióticos com critérios interpretativos específicos para Medicina Veterinária foram efectuadas segundo as normas do documento M31-A2 (NCCLS, 2002) e do Comité do Antibiograma da Sociedade Francesa de Microbiologia para o antibiograma veterinário (Pascal *et al.*, 2007), dando preferência aos critérios listados no primeiro documento. Para os antibióticos sem critérios interpretativos específicos para Medicina Veterinária, foram usados critérios interpretativos de Medicina Humana segundo as normas do documento M100-S16 (CLSI, 2006) e do Comité do Antibiograma da Sociedade Francesa de Microbiologia (Cavallo *et al.*, 2007), dando igualmente preferência aos critérios listados no primeiro documento.

As tabelas 8, 9 e 10 listam estes critérios para o *Staphylococcus* spp, *P. aeruginosa* e família *Enterobacteriaceae*, respectivamente.

Relativamente à resistência à metilina as estirpes de *Staphylococcus* spp. foram estudadas usando o método de difusão em disco com discos de oxacilina (1 µg) e de cefoxitina (30 µg). As estirpes foram consideradas como sendo metilina-resistentes se mostrassem resistência simultaneamente à oxacilina e à cefoxitina. A leitura e interpretação dos diâmetros críticos da oxacilina foram feitas de acordo com as normas do documento M31-A2 (NCCLS, 2002) para os estafilococos coagulase positivos e do documento M100-S16 (CLSI, 2006) para os estafilococos coagulase negativos; para a cefoxitina foram usados os critérios do documento M100-S16 (CLSI, 2006), como se representa na tabela 7.

Tabela 7. Antibióticos usados, cargas dos discos e critérios interpretativos dos halos para detectar a resistência à metilina nas estirpes de *Staphylococcus* spp.

Tipo de estafilococos	NCCLS 2002 - Oxacilina			CLSI 2006 - Oxacilina				CLSI 2006 - Cefoxitina		
	Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)		Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)			Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)	
		S	R		S	I	R		S	R
Coagulase Positivos	1µg	≥13	≤10	1µg	≥13	11-12 ^a	≤10	30µg ^b	≥20 ^b	≤19 ^b
Coagulase Negativos	1µg	≥13	≤10	1µg	≥18	-	≤17	30µg ^c	≥25 ^c	≤24 ^c

^a Quando for obtido um resultado intermédio deve-se utilizar um teste alternativo para verificar a resistência à metilina e usar o resultado desse segundo teste.

^b Usado para o *S. aureus* e *S. lugdunensis*. É preferível usar a cefoxitina no caso do *S. aureus* para prever a resistência à metilina e este teste é o único que deve ser usado para o *S. lugdunensis*. Os *S. aureus* com halos de inibição ≤19 devem ser considerados resistentes à oxacilina; aqueles cujo halo de inibição seja ≥20 devem ser considerados sensíveis à oxacilina.

^c Usado para os estafilococos coagulase negativos à excepção do *S. lugdunensis*. É o método preferido para testar os estafilococos coagulase negativos. Os estafilococos com halos de inibição ≤24 devem ser considerados resistentes à oxacilina; aqueles cujo halo de inibição seja ≥25 devem ser considerados sensíveis à oxacilina.

Tabela 8. Antibióticos usados, cargas dos discos e critérios interpretativos para os halos usados nos TSA's do *Staphylococcus* spp. (critérios veterinários e humanos).

<i>Staphylococcus</i> spp.																
Antibióticos	Abreviaturas	NCCLS 2002				CASFM Vet 2007			CLSI 2006			CASFM 2007				
		Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)				Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)		Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)			Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)	
			S	I	F	R		S	R		S	I	R		S	R
Penicilina G	P	10 unidades	≥29	–	–	≤28	6 µg (10 UI) ^A	≥29 ^A	<29 ^A	10 unidades	≥29 ^a	–	≤28 ^a	6 µg (10 UI) ^b	≥29 ^b	<29 ^b
Amoxicilina-Ácido Clavulânico	AMC	20/10 µg	≥ 20	–	–	≤19	–	–	–	20/10 µg	≥ 20	–	≤ 19	–	–	–
Ampicilina	AMP	10 µg ^B	≥ 29 ^B	–	–	≤28 ^B	–	–	–	10 µg	≥29 ^c	–	≤28 ^c	–	–	–
Oxacilina	OX	1 µg ^C	≥13 ^C	11-12 ^C	–	≤10 ^C	5 µg ^D	≥20 ^D	<20 ^D	1 µg	≥13 ^d	11-12 ^d	≤10 ^d	5 µg ^f	≥20 ^f	<20 ^f
Cefalotina	KF	30 µg ^E	≥18 ^E	15-17 ^E	–	≤14 ^E	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Cefoxitina	FOX	–	–	–	–	–	–	–	–	30 µg	≥20 ^g	–	≤19 ^g	30 µg ^f	≥27 ^f	<25 ^f
Cefuroxima	CXM	–	–	–	–	–	–	–	–	30 µg ⁱ	≥23 ⁱ	15-22 ⁱ	≤14 ⁱ	–	–	–
Cefotaxima	CTX	–	–	–	–	–	–	–	–	30 µg	≥23	15-22	≤14	–	–	–
Gentamicina	CN	10 µg	≥15	13-14	–	≤12	15 µg (10 UI) ^F	≥20 ^F	<20 ^F	10 µg	≥ 15	13-14	≤ 12	15 µg (10 UI) ^j	≥20 ^j	<20 ^j
Amicacina	AK	30 µg	≥ 17	15-16	–	≤ 14	–	–	–	30 µg	≥ 17	15-16	≤ 14	–	–	–

Tabela 8. (continuação)

Antibióticos	Abreviaturas	NCCLS 2002				CASFM Vet 2007			CLSI 2006			CASFM 2007				
		Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)				Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)		Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)			Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)	
			S	I	F	R		S	R		S	I	R		S	R
Tobramicina	TOB	-	-	-	-	-	-	-	10 µg	≥ 15	13-14	≤ 12	10 µg	≥20	<20	
Netilmicina	NET	-	-	-	-	-	-	-	30 µg	≥ 15	13-14	≤ 12	-	-	-	
Cloranfenicol	C	30 µg	≥ 18	13-17	-	≤ 12	30 µg	≥ 22	<19	30 µg	≥18	13-17	≤12	30 µg	≥23	<19
Tetraciclina	TE	30 µg ^G	≥ ^G 19 ^G	15-18 ^G	-	≤ ^G 14 ^G	30 UI ^H	≥19 ^H	<17 ^H	30 µg	≥19 ^k	15-18 ^k	≤14 ^k	30 UI ^I	≥19 ^l	<17 ^l
Ciprofloxacina	CIP	-	-	-	-	-	-	-	5 µg ^m	≥21 ^m	16-20 ^m	≤15 ^m	5 µg ⁿ	≥22 ⁿ	<19 ⁿ	
Enrofloxacina	ENR	5 µg	≥23	-	17 - 22	≤16	5 µg	≥22	<17	-	-	-	-	-	-	
Marbofloxacina	MAR	-	-	-	-	-	5 µg	≥18	<13	-	-	-	-	-	-	
Trimetoprim/ Sulfametoxazol	SXT	1,25 /23,75 µg (25 µg) ^l	≥16 ^l	11-15 ^l	-	≤10 ^l	1,25 /23,75 µg (25 µg) ^j	≥16 ^j	<10 ^j	1,25 /23,75 µg (25 µg)	≥16	11-15	≤10	1,25+23,75 µg (25 µg) ^o	≥16 ^o	<10 ^o
Clindamicina	DA	2 µg ^k	≥21 ^k	15-20 ^k	-	≤14 ^k	-	-	-	2 µg	≥21	15-20	≤14	-	-	-
Vancomicina	VA	30 µg	≥ 12	10-11	-	≤ 9	-	-	-	30 µg	≥15	-	-	30 µg	≥17	-
Ácido Fusídico	FD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10 µg	≥22	<15

Legenda:

^A Interpretação válida para a fenoximetilpenicilina (penicilina v). As estirpes produtoras de penicilinas são resistentes à penicilina G e a outras penicilinas hidrolisáveis (amino-, carboxi- e ureido-penicilinas). Apenas a penicilina G deve ser testada.

^B Usada para testar a susceptibilidade à amoxicilina e hetacilina.

^C Usada para testar a susceptibilidade à meticilina, nafcilina e cloxacilina.

^D Para os estafilococos coagulase negativos a resistência à oxacilina indica resistência a todos os antibióticos β-lactâmicos.

^E Usada para testar todas as cefalosporinas de primeira geração, tal como a cefapirina e o cefadroxil.

^F A resistência à gentamicina significa resistência ao conjunto dos aminoglicosídeos (com excepção da estreptomina).

^G Usada para testar a susceptibilidade à clortetraciclina, oxitetraciclina, minociclina e doxiciclina.

^H Válido para oxitetraciclina, doxiciclina e clortetraciclina.

^I Usada para testar a susceptibilidade ao trimetoprim-sulfadiazina e ormetoprim-sulfadimetoxina.

^J Interpretação válida para outras associações trimetoprim-sulfamidas.

^K Usada para testar também a susceptibilidade à lincomicina. A clindamicina tende a ser mais activa que a lincomicina contra algumas estirpes de estafilococos.

^a Os estafilococos susceptíveis às penicilinas são também susceptíveis a outras penicilinas, combinações de β-lactâmicos/inibidores de β-lactamases, cefemes e carbapenemes aprovados pela FDA para infecções por estafilococos. As estirpes resistentes à penicilina mas susceptíveis à oxacilina, são resistentes às penicilinas penicilinase-lábeis, mas susceptíveis a outras penicilinas penicilinase-resistentes, combinações de β-lactâmicos/inibidores de β-lactamases, cefemes relevantes e carbapenemes. Os estafilococos resistentes à oxacilina são resistentes a todos os antibióticos β-lactâmicos. Por isso a susceptibilidade a um vasto grupo de antibióticos β-lactâmicos pode ser averiguada testando apenas a penicilina e a oxacilina.

A penicilina deve ser usada para testar a susceptibilidade a todas as penicilinas penicilinase-lábeis como a ampicilina, amoxicilina, azlocilina, carbenicilina, mezlocilina, piperacilina e ticarcilina. Um teste de resistência a β-lactamases positivo também prevê a resistência a estes agentes. Os estafilococos oxacilina resistentes são também resistentes a estes agentes.

^b Interpretação válida para a fenoximetilpenicilina (penicilina v). As estirpes produtoras de penicilinas são resistentes à penicilina G e a outras penicilinas hidrolisáveis (amino-, carboxi- e ureido-penicilinas). Apenas a penicilina G deve ser testada.

^c Representativo para a ampicilina e amoxicilina. As estirpes resistentes à oxacilina devem ser consideradas resistentes.

^d Valores para os estafilococos coagulase positivos.

^e Valores para os estafilococos coagulase negativos.

^f A resistência às isoxazolpenicilinas (oxacilina, cloxacilina) é pesquisada em conjunto com um disco de cefoxitina ou moxalactam. As estirpes resistentes à cefoxitina, ao moxalactam ou à oxacilina ou que possuam o gene *mecA* devem ser interpretadas como resistentes a todos os antibióticos β-lactâmicos: penicilinas (associadas ou não a um inibidor de β-lactamases), cefalosporinas e carbapenemes.

^g Valores para os estafilococos coagulase positivos.

^h Valores para os estafilococos coagulase negativos.

ⁱ Valores para a forma oral.

^j Interpretação válida para a netilmicina. A resistência à gentamicina significa resistência ao conjunto dos aminoglicosídeos (com excepção da estreptomina).

^k Os organismos susceptíveis à tetraciclina também são considerados susceptíveis à doxiciclina e minociclina. Contudo, os organismos intermédios ou resistentes à tetraciclina podem ser susceptíveis à doxiciclina ou minociclina ou ambas.

^l Válido para as outras tetraciclinas, com excepção da minociclina e da tigeciclina.

^m Os *Staphylococcus* spp. podem desenvolver resistência durante a terapia prolongada com quinolonas. Por isso, isolados inicialmente susceptíveis podem tornar-se resistentes em 3 a 4 dias após o início do tratamento.

Legenda da tabela 8 (continuação):

ⁿ A pefloxacina, ofloxacina, levofloxacina e ciprofloxacina possuem uma actividade semelhante sobre os estafilococos; a resistência é cruzada entre estas moléculas e os resultados obtidos testando apenas uma destas moléculas são válidos para as outras.

^o Interpretação válida para outras associações trimetoprim-sulfamida.

Tabela 9. Antibióticos usados, cargas dos discos e critérios interpretativos dos halos usados nos TSA's da *P. aeruginosa* (critérios veterinários e humanos).

<i>P. aeruginosa</i>													
Antibióticos	Abreviaturas	NCCLS 2002					CLSI 2006			CASFM 2007			
		Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)				Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)			Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)	
			S	I	F	R		S	I	R		S	R
Ticarcilina	TIC	75 µg	≥15	–	–	≤14	75 µg	≥15	–	≤14	75 µg	≥22	<18
Piperacilina	PRL	–	–	–	–	–	100 µg	≥18	–	≤17	75 µg	≥18	<12
Piperacilina + Tazobactam	TZP	–	–	–	–	–	100/10 µg	≥18	–	≤17	75/10 µg	≥19	<14
Cefotaxima	CTX	–	–	–	–	–	30 µg	≥ 23	15-22	≤ 14	–	–	–
Ceftazidima	CAZ	–	–	–	–	–	30 µg	≥18	15-17	≤14	30 µg	≥21	<15
Imipeneme	IPM	10 µg	≥16	14-15	–	≤13	10 µg	≥16	14-15	≤13	10 µg ^a	≥22 ^a	<17 ^a
Aztreoname	AZT	–	–	–	–	–	30 µg	≥22	16-21	≤15	30 µg	≥23	<17
Gentamicina	CN	10 µg	≥15	13-14	–	≤12	10 µg	≥15	13-14	≤12	15 µg (10 UI)	≥16	<14
Netilmicina	NET	–	–	–	–	–	30 µg	≥15	13-14	≤12	30 µg	≥19	<17
Amicacina	AK	30 µg	≥17	15-16	–	≤14	30 µg	≥17	15-16	≤14	30 µg	≥17	<15
Tobramicina	TOB	–	–	–	–	–	10 µg	≥15	13-14	≤12	10 µg	≥16	<14

Tabela 9. (continuação)

Antibióticos	Abreviaturas	NCCLS 2002					CLSI 2006			CASFM 2007			
		Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)				Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)			Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)	
			S	I	F	R		S	I	R		S	R
Ciprofloxacina	CIP	–	–	–	–	–	5 µg	≥21	16-20	≤15	5 µg	≥22	<19
Enrofloxacin	ENR	5 µg	≥23	–	17-22	≤16	–	–	–	–	–	–	–
Levofloxacina	LEV	–	–	–	–	–	5 µg	≥17	14-16	≤13	–	–	–
Trimetoprim/ Sulfametoxazol	SXT	1,25 /23,75 µg ^A	≥ 16 ^A	11-15 ^A	–	≤ 10 ^A	–	–	–	–	–	–	–

Legenda:

^A Usado para testar a susceptibilidade ao trimetoprim-sulfadiazina e ormetoprim-sulfadimetoxina

^a Uma resistência isolada ao imipeneme corresponde a uma impermeabilidade selectiva por modificação das porinas. Esta resistência não é cruzada com os outros antibióticos β-lactâmicos.

Nota: a *P. aeruginosa* pode desenvolver resistência a todos os antibióticos com terapias prolongadas. Por isso, isolados inicialmente susceptíveis podem tornar-se resistentes em 3 a 4 dias após o início do tratamento. Pode ser necessário testar repetidamente os isolados (CLSI, 2006).

Tabela 10. Antibióticos usados, cargas dos discos e critérios interpretativos para os halos usados nos TSA's do *P. mirabilis*, *E. coli* e *Enterobacter* spp (critérios veterinários e humanos).

<i>Enterobacteriaceae</i>															
Antibióticos	Abreviaturas	NCCLS 2002				CASFM Vet 2007			CLSI 2006				CASFM 2007		
		Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)			Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)		Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)			Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)	
			S	I	R		S	R		S	I	R		S	R
Amoxicilina	AML	–	–	–	–	25 µg	≥21	<14	–	–	–	–	25 µg	≥21	<14
Amoxicilina-Ácido Clavulânico	AMC	20-10 µg	≥18	14-17	≤13	20 /10 µg	≥21	<14	20 /10 µg	≥18	14-17	≤13	20 /10 µg	≥21	<14
Cefuroxima	CXM	–	–	–	–	–	–	–	30 µg ^a	≥23 ^a	15-22 ^a	≤14 ^a	30 µg	≥22	<15
Cefotaxima	CTX	–	–	–	–	–	–	–	30 µg	≥23	15-22	≤14	30 µg	≥21	<15
Cefixima	CFM	–	–	–	–	–	–	–	5 µg	≥19	16-18	≤15	–	–	–
Cefoxitina	FOX	–	–	–	–	–	–	–	30 µg	≥18	15-17	≤14	30 µg	≥22	<15
Cefalotina	KF	30 µg ^A	≥18 ^A	15-17 ^A	≤14 ^A	–	–	–	30 µg ^b	≥18 ^b	15-17 ^b	≤14 ^b	30 µg ^c	≥18 ^c	<12 ^c
Gentamicina	CN	10 µg	≥15	13-14	≤12	15 µg (10 UI)	≥18	<16	10 µg	≥15	13-14	≤12	15 µg (10 UI)	≥18	<16
Amicacina	AK	30 µg	≥17	15-16	≤14	–	–	–	30 µg	≥17	15-16	≤14	30 µg	≥17	<15

Tabela 10. (continuação)

Antibióticos	Abreviaturas	NCCLS 2002			CASFM Vet 2007			CLSI 2006			CASFM 2007				
		Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)			Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)		Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)			Carga do Disco	Diâmetro crítico do halo (mm)	
			S	I	R		S	R		S	I	R		S	R
Netilmicina	NET	-	-	-	-	-	-	30 µg	≥15	13-14	≤12	30 µg	≥21	<19	
Tobramicina	TOB	-	-	-	-	-	-	10 µg	≥15	13-14	≤12	10 µg	≥18	<16	
Ácido Nalidíxico	NA	-	-	-	30 µg ^B	≥20 ^B	<15 ^B	30 µg	≥19	14-18	≤13	30 µg ^d	≥20 ^d	<15 ^d	
Enrofloxacina	ENR	5 µg	≥23	≤16	5 µg ^B	≥22 ^B	<17 ^B	-	-	-	-	-	-	-	
Marbofloxacina	MAR	-	-	-	5 µg ^B	≥18 ^B	<15 ^B	-	-	-	-	-	-	-	
Ciprofloxacina	CIP	-	-	-	-	-	-	5 µg	≥21	16-20	≤15	5 µg ^d	≥25 ^d	<22 ^d	
Cloranfenicol	C	30 µg	≥18	13-17	≤12	30 µg	≥22	<19	30 µg	≥18	13-17	≤12	30 µg	≥23	<19
Tetraciclina	TE	30 µg ^C	≥19 ^C	15-18 ^C	≤14 ^C	30 UI ^D	≥19 ^D	<17 ^D	30 µg ^e	≥19 ^e	15-18 ^e	≤14 ^e	30 UI ^f	≥19 ^f	<17 ^f
Trimetoprim/Sulfametoxazol	SXT	1,25 /23,75 µg ^E	≥16 ^E	11-15 ^E	≤10 ^E	1,25 /23,75 µg ^F	≥16 ^F	<10 ^F	1,25/23,75 µg	≥16	11-15	≤10	1,25/23,75 µg ^g	≥16 ^g	<10 ^g

Legenda:

^A A cefalotina é usada para testar todas as cefalosporinas de primeira geração, tal como a cefapirina e o cefadroxil. A cefazolina deve ser testada separadamente para os organismos entéricos gram-negativos.

^B A resistência às fluoroquinolonas é cruzada entre as diferentes moléculas, mas os seus níveis de expressão podem variar para cada molécula. Para as estirpes resistentes ao ácido nalidíxico, ácido oxonílico ou à flumequina, a utilização de uma fluoroquinolona pode conduzir à selecção de estirpes resistentes às fluoroquinolonas.

^C A tetraciclina é usada para testar a susceptibilidade para oxitetraciclina, clortetraciclina, minociclina e doxiciclina.

Legenda da tabela 10 (continuação):

^D Válido para oxitetraciclina, doxiciclina e clortetraciclina.

^E Usado para testar a susceptibilidade ao trimetoprim-sulfadiazina e ormetoprim-sulfadimetoxina.

^F Interpretação válida para outras associações trimetoprim-sulfamida.

^a Valores para a forma oral.

- ^b A cefalotina pode ser usada para prever a actividade da cefalotina, cefapirina, cefradina, cefalexina, cefaclor e cefadroxil.
- ^c Interpretação válida para as cefalosporinas injectáveis de primeira geração (cefapirina, cefazolina).
- ^d A resistência às fluoroquinolonas é cruzada entre as diferentes moléculas, mas os seus níveis de expressão podem variar para cada molécula.
- ^e Os organismos susceptíveis à tetraciclina também são considerados susceptíveis à doxiciclina e minociclina. Contudo, os organismos intermédios ou resistentes à tetraciclina podem ser susceptíveis à doxiciclina ou minociclina ou ambas.
- ^f Válido para as outras tetraciclinas (com excepção da minociclina).
- ^g Interpretação válida para as outras associações trimetoprim-sulfamida.

Notas:

1. Estirpes de *E. coli* produtoras de β -lactamases espectro alargado (*extended spectrum β -lactamases* - ESBL) podem ser clinicamente resistentes à terapia com penicilinas, cefalosporinas ou aztreonam apesar da aparente susceptibilidade *in vitro* a alguns destes agentes. As estirpes confirmadas como ESBL devem ser consideradas resistentes a todas as penicilinas, cefalosporinas e aztreonam (CLSI, 2006).
2. O *Enterobacter* pode desenvolver resistência durante a terapia prolongada com cefalosporinas de terceira geração. Por isso, isolados inicialmente susceptíveis podem tornar-se resistentes em 3 a 4 dias após o início do tratamento. Pode ser necessário testar de forma repetida os isolados (CLSI, 2006).

3.1.3.5 Categorias interpretativas usadas na determinação de concentrações inibitórias mínimas

A leitura e interpretação das CIMs dos antibióticos com critérios interpretativos específicos para Medicina Veterinária foram efectuadas segundo as normas do documento M31-A2 (NCCLS, 2002). Para os antibióticos sem critérios interpretativos específicos para Medicina Veterinária, foram usados critérios interpretativos de Medicina Humana segundo as normas do documento M100-S16 (CLSI, 2006). A tabela 11 lista estes critérios para o *Staphylococcus* spp.

Para o Ácido Fusídico os critérios usados ($S \leq 2 \mu\text{g/mL}$; $R > 16 \mu\text{g/mL}$) foram os do Comité do Antibiograma da Sociedade Francesa de Microbiologia (Cavallo *et al.*, 2007) e para a Mupirocina foram usados os critérios indicados pelo fabricante ($S \leq 4 \mu\text{g/mL}$; $R > 8 \mu\text{g/mL}$), pois estes dois compostos não se encontram listados nos documentos de referência anteriores.

Tabela 11. Antibióticos e critérios interpretativos usados na determinação das CIMs de *Staphylococcus* spp.

<i>Staphylococcus</i> spp.							
Antibióticos	Abreviaturas	NCCLS 2002				CLSI 2006	
		CIM ($\mu\text{g/mL}$)				CIM ($\mu\text{g/mL}$)	
		S	I	F	R	S	R
Penicilina	P	≤ 0.12	-	-	≥ 0.25	≤ 0.12	≥ 0.25
Amoxicilina- Ácido Clavulânico	AMC	$\leq 4/2$	-	-	$\geq 8/4$	$\leq 4/2^a$	$\geq 8/4^a$
Ampicilina	AMP	$\leq 0.25^A$	-	-	$\geq 0.5^A$	≤ 0.25	≥ 0.5
Oxacilina	OX	$\leq 2^B$	-	-	$\geq 4^B$	$\leq 2^b$	$\geq 4^b$
Cefotaxima	CTX	-	-	-	-	≤ 8	≥ 64
Gentamicina	CN	≤ 4	8	-	≥ 16	≤ 4	≥ 16
Netilmicina	NET	-	-	-	-	≤ 12	≥ 32
Cloranfenicol	C	≤ 8	16	-	≥ 32	≤ 8	≥ 32
Tetraciclina	TE	$\leq 4^C$	8^C	-	$\geq 16^C$	$\leq 4^d$	$\geq 16^d$
Ciprofloxacina	CIP	-	-	-	-	≤ 1	≥ 4
Levofloxacina	LEV	-	-	-	-	≤ 1	≥ 4
Moxifloxacina	MXF	-	-	-	-	≤ 0.5	≥ 2
Gatifloxacina	GAT	-	-	-	-	≤ 0.5	≥ 2

Tabela 11. (continuação)

<i>Staphylococcus spp.</i>							
Antibióticos	Abreviaturas	NCCLS 2002				CLSI 2006	
		CIM (µg/mL)				CIM (µg/mL)	
		S	I	F	R	S	R
Clindamicina	DA	≤ 0.5 ^D	1-2 ^D	-	≥ 4 ^D	≤ 0.5	≥ 4
Vancomicina	VA	≤ 4	8-16	-	≥ 32	≤ 2 ^e	≥ 16 ^e
Teicoplanina	TEI					≤ 8	≥ 32
Trimetoprim/ Sulfametoxazol	SXT	≤ 2/38 ^E	-	-	≥ 4/76 ^E	≤ 2/38	≥ 4/76
Quinopristina- Dalfopristina	SYN	-	-	-	-	≤ 1	≥ 4
Linezolid	LZD	-	-	-	-	≤ 4	-
Azitromicina	AZI	-	-	-	-	≤ 2	≥ 8

Legenda:

^A Usada para testar a susceptibilidade à amoxicilina e hetacilina.

^B Usada para testar a susceptibilidade à meticilina, nafcilina e cloxacilina.

^C Usada para testar a susceptibilidade à clortetraciclina, oxitetraciclina, minociclina e doxiciclina.

^D Usada para testar também a susceptibilidade à lincomicina. A clindamicina tende a ser mais activa que a lincomicina contra algumas estirpes de estafilococos.

^E Usada para testar a susceptibilidade ao trimetoprim-sulfadiazina e ormetoprim-sulfadimetoxina. O valor ≤ 2/38 deve ser usado para isolados do tracto urinário. Para doenças sistémicas isolados com CIMs ≤ 0.5/9.5 devem ser considerados susceptíveis.

^a Representativo para a ampicilina e amoxicilina. As estirpes resistentes à oxacilina devem ser consideradas resistentes.

^b Valores para o *S. aureus*.

^c Valores para os estafilococos coagulase negativos, excepto o *S. lugdunensis*.

^d Os organismos susceptíveis à tetraciclina também são considerados susceptíveis à doxiciclina e minociclina. Contudo, os organismos intermédios ou resistentes à tetraciclina podem ser susceptíveis à doxiciclina ou minociclina ou ambas.

^e Para *S. aureus*.

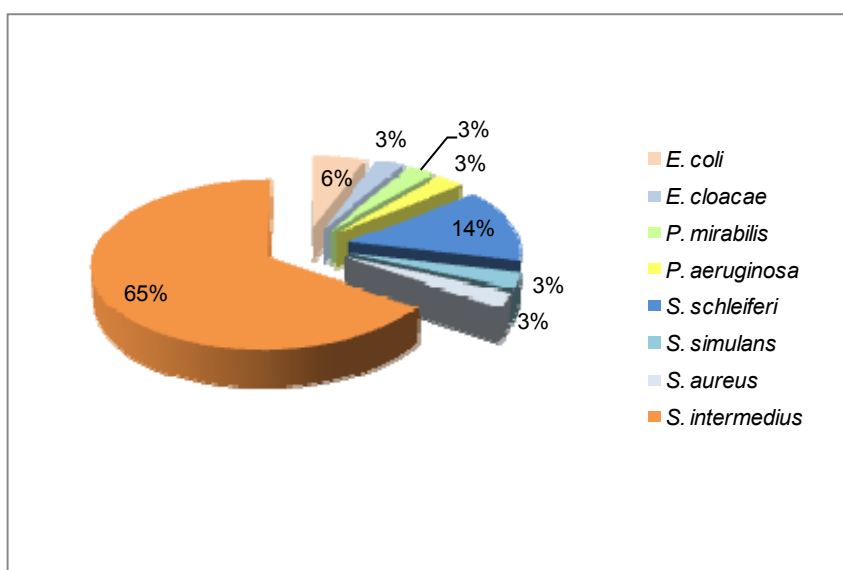
^f Para estafilococos coagulase negativos.

3.2 Resultados e discussão

3.2.1 Etiologia da infecção cutânea no doente atópico canino

De um total de 43 zaragoas cutâneas recolhidas, não foi isolada nenhuma bactéria em 7 dessas zaragoas. A figura 9 mostra a frequência das diferentes espécies bacterianas isoladas.

Figura 9. Frequência das espécies bacterianas isoladas de zaragoas cutâneas (n=35).



Da análise da figura 9 pode concluir-se que da totalidade de isolados (n=35) a espécie bacteriana mais frequentemente isolada foi o *S. intermedius* (65%), seguido de outros *Staphylococcus* spp. (20%). As outras espécies bacterianas foram apenas ocasionalmente isoladas (*P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e *E. cloacae*).

Os resultados relativos aos *Staphylococcus* spp. são semelhantes aos já descritos em Portugal por Delgado, Costa, Baptista, Correia e Pomba (2006) que descreveram os *Staphylococcus* spp. como representando 62.3% do total de isolados em infecções cutâneas, dentro dos quais 72.1% eram *S. intermedius*. Neste estudo foram contudo estudados isolados de cães e gatos mas, dada a menor representatividade dos gatos e a frequência relativamente baixa com que esta espécie é afectada por infecções cutâneas, este estudo foi considerado uma boa referência.

Os resultados apresentados estão também de acordo com os de outros autores e com a bibliografia, que referem o *S. intermedius* como a estirpe mais frequentemente isolada em

casos de piodermite e que as outras espécies de estafilococos são isoladas apenas ocasionalmente (Noli, 2003; Hauschild & Wójcik, 2007). Quanto ao *S. schleiferi* (14%) este é um organismo reconhecido recentemente e que tem sido também implicado na etiologia das piodermites (Frank *et al.*, 2002; Frank *et al.*, 2003; Intorre *et al.*, 2007).

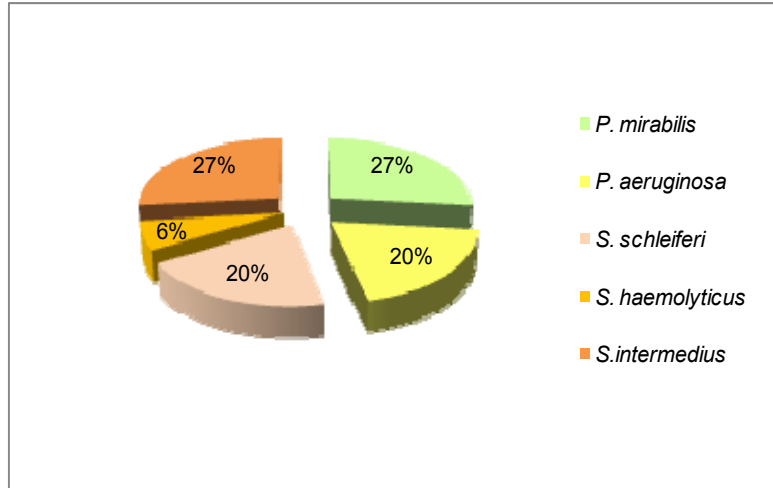
Delgado *et al.* (2006) descreveu igualmente frequências de isolamento semelhantes para *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* e *E. coli*.

As frequências de isolamento das diferentes espécies bacterianas diferem entre estudos, mas tal pode dever-se a diferenças no delineamento dos estudos, na realidade do país em causa ou até a diferenças temporais.

3.2.2 Etiologia da infecção auricular no doente atópico canino

Em 24 zaragatoas auriculares, não foi isolada nenhuma bactéria em 8 dessas amostras. A figura 10 mostra a frequência das diferentes espécies bacterianas isoladas.

Figura 10. Frequência das espécies bacterianas isoladas de zaragatoas auriculares (n=15).



A espécie bacteriana mais frequentemente isolada da totalidade de isolados (n=15) foi o *S. intermedius* (27%), seguido de outras espécies de *Staphylococcus* spp. (26%), *P. mirabilis* (27%) e *P. aeruginosa* (20%).

Em Portugal foram anteriormente descritas frequências de isolamento semelhantes por Delgado *et al.* (2006) para os *Staphylococcus* spp. (44.1%, dos quais 61.8% eram *S. intermedius*) e para *Pseudomonas* spp (21.1%). Contudo, no presente estudo foi descrita uma frequência de 27% para o *P. mirabilis* que difere dos 13.2% descritos por Delgado *et al.* (2006), o que se pode

dever ao pequeno número de amostras aqui estudadas e ao facto do estudo referido incluir também isolados de felídeos.

Na literatura vem descrito que o *S. intermedius* é a bactéria patogénica mais frequentemente isolada nas otites externas dos animais de companhia (Scott, 2001b; Bensignor, 2003). Bensignor e Legeay (2000) apontam o *S. intermedius*, a *P. aeruginosa* e o *P. mirabilis* como os isolados mais comuns em cães com otite externa num estudo realizado em França e outros autores apontam as mesmas bactérias como estando frequentemente implicadas, mas acrescentam a *E. coli* e relembram que estas espécies bacterianas podem ser ocasionalmente isoladas em animais saudáveis (Hariharan, Coles, Poole, Lund & Page, 2006).

Tal como já foi referido as frequências de isolamento diferem entre estudos, mas essas diferenças podem dever-se a divergências no delineamento dos estudos, na realidade do país em causa ou até a diferenças temporais. A título de exemplo, um estudo descreveu frequências de isolamento de *S. intermedius* na ordem dos 58.8%, mas essa diferença pode resultar de terem sido estudadas amostras do conducto auditivo externo de animais saudáveis e com otite externa, em conjunto (Lyskova, Vydrzalova & Mazurova, 2007).

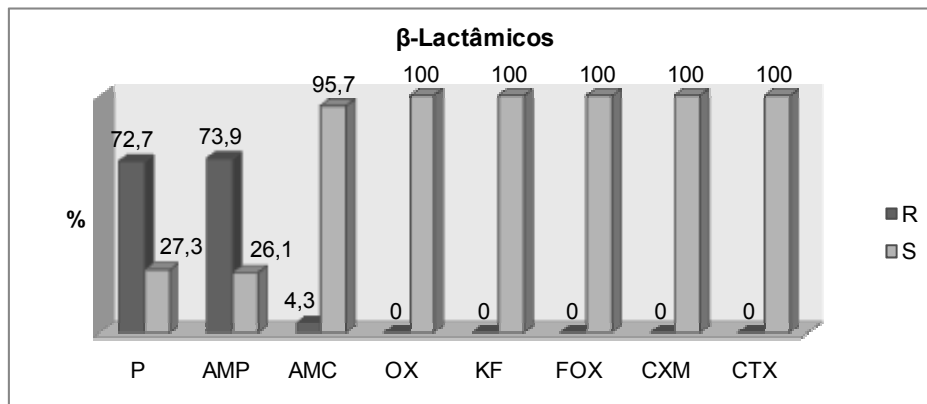
3.2.3 Susceptibilidade aos antibióticos das estirpes de *Staphylococcus intermedius*

3.2.3.1 Isolados cutâneos

Os resultados dos antibiogramas são apresentados nas figuras 11, 12, 13 e 14 para o conjunto das estirpes de *S. intermedius* (n=23).

Como se pode ver na figura 11, verificou-se uma resistência de alto nível para a penicilina G e ampicilina com 72.7% e 73.9% de estirpes resistentes, respectivamente. Contrariamente foi encontrada uma susceptibilidade de alto nível para a associação amoxicilina-ácido clavulânico, com 95.7% de estirpes susceptíveis. Resultados semelhantes foram anteriormente obtidos em Portugal e na França, Itália e Polónia referindo uma resistência de alto nível às penicilinas hidrolisáveis ou descrevendo essa resistência como comum, e apontando a associação amoxicilina-ácido clavulânico como extremamente eficaz (Correia *et al.*, 2003; Ganière *et al.*, 2005; Vanni *et al.*, 2006; Hauschild & Wójcik, 2007). De facto nos isolados clínicos de *S. intermedius* é comum a resistência às penicilinas hidrolisáveis (penicilina, amoxicilina e ampicilina) através da produção de β -lactamases e esta resistência tem vindo a aumentar nos últimos anos; no entanto, estes isolados são geralmente sensíveis às penicilinas resistentes às β -lactamases (Harvey & Hunter, 1999; Ganière *et al.*, 2005).

Figura 11. Susceptibilidade dos isolados cutâneos de *S. intermedius* aos β -lactâmicos.



Legenda: P, penicilina G; AMP, ampicilina; AMC, amoxicilina-ácido clavulânico; OX, oxacilina; KF, cefalotina; FOX, cefoxitina; CXM, cefuroxima; CTX, cefotaxima; R, resistente; S, susceptível.

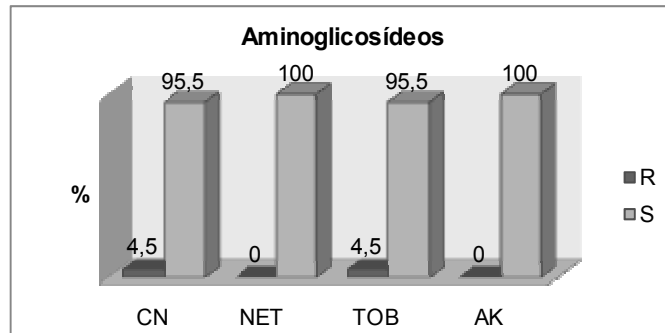
Da análise da figura 11 conclui-se que 100% das estirpes mostraram ser susceptíveis à oxacilina e cefoxitina, ou seja, não foi detectada nenhuma estirpe meticilina-resistente (MR). Também Ganière *et al.* (2005) num estudo que compreendeu 50 estirpes de *S. intermedius* isoladas de piodermite, não observou nenhuma estirpe meticilina-resistente, nem resistência adquirida à oxacilina ou às cefalosporinas. O mesmo foi verificado em Portugal por Correia *et al.* (2003). Estes resultados diferem dos apresentados por outros autores para os Estados Unidos da América (Morris *et al.*, 2006; Jones *et al.*, 2007) e Europa (Loeffler *et al.*, 2007).

A susceptibilidade também foi total para a cefalotina (cefalosporina de 1ª geração), cefuroxima (cefalosporina de 2ª geração) e cefotaxima (cefalosporina de 3ª geração). A justificação para esta grande susceptibilidade às cefalosporinas pode advir do facto dos estafilococos, em dermatologia veterinária, não terem ainda adquirido mecanismos de resistência às cefalosporinas (Mason & Kietzmann, 1999). De forma semelhante ao que acontece no nosso estudo para a cefalotina, outros autores encontraram uma susceptibilidade total à cefalexina (Futagawa-Saito *et al.*, 2007) e também Pederson *et al.* (2007) descreve uma baixa resistência às cefalosporinas por parte de isolados de *S. intermedius*, entre outras bactérias.

Relativamente aos aminoglicosídeos, concluiu-se haver uma grande eficácia por parte deste grupo antimicrobiano, com apenas uma estirpe (4.5%) a mostrar resistência à gentamicina e tobramicina. Outros autores têm concluído que a gentamicina é dos antibióticos mais eficazes contra o *S. intermedius* na Europa, e que esta espécie bacteriana mostra pouca resistência a este antibiótico (Ganière *et al.*, 2005; Vanni *et al.*, 2006; Hauschild & Wójcik, 2007). Apesar da eficácia deste grupo antimicrobiano, é aconselhável que os aminoglicosídeos sejam reservados

para situações que envolvam bactérias mais patogênicas em que as opções terapêuticas são mais limitadas (DeBoer, 2006; May, 2006).

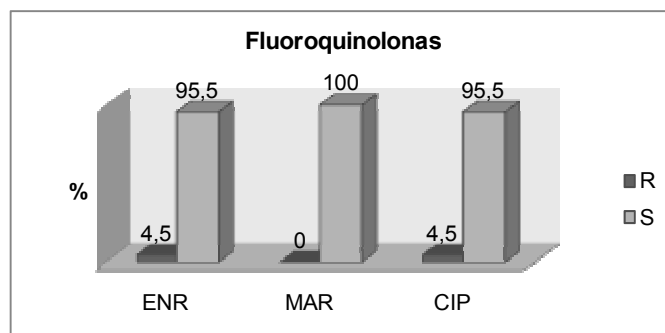
Figura 12. Susceptibilidade dos isolados cutâneos de *S. intermedius* aos aminoglicosídeos.



Legenda: CN, gentamicina; NET, netilmicina; TOB, tobramicina; AK, amicacina; R, resistente; S, susceptível.

No que diz respeito às fluoroquinolonas, apenas uma estirpe mostrou resistência à enrofloxacina e ciprofloxacina (4.5%). As restantes estirpes mostraram-se susceptíveis às três fluoroquinolonas testadas. Estas frequências são semelhantes às obtidas por outros estudos e parecem demonstrar que apesar do uso generalizado das fluoroquinolonas, a resistência do *S. intermedius* permanece baixa para este grupo de antibióticos (Lloyd, Lamport, Noble & Howell, 1999; Ganière, Médaille, Limet, Ruvoen & André-Fontaine, 2001; Ganière *et al.*, 2005; Intorre *et al.*, 2007). Embora exista uma grande susceptibilidade às fluoroquinolonas, o seu uso é recomendando apenas em circunstâncias em que a piodermite se revelou refractária ao tratamento com antibióticos de primeira linha, em piodermites recorrentes e em piodermites profundas e crônicas com tecido cicatricial extenso (Ihrke, Papich & Demanuelle, 1999).

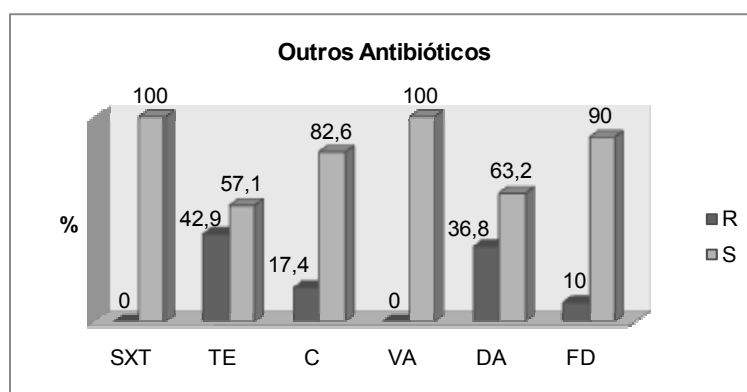
Figura 13. Susceptibilidade dos isolados cutâneos de *S. intermedius* às fluoroquinolonas.



Legenda: ENR, enrofloxacina; MAR, marbofloxacina; CIP, ciprofloxacina; R, resistente; S, susceptível.

Os isolados demonstraram 100% de susceptibilidade à associação trimetoprim-sulfametoxazol e à vancomicina. Relativamente à associação trimetoprim-sulfametoxazol resultados semelhantes foram obtidos por Ganière *et al.* (2005) e parecem apoiar o uso comum desta associação na primeira ocorrência de piodermite. Mas, de acordo com Hauschild e Wójcik (2007), a resistência a esta associação é observada frequentemente. Quanto à vancomicina outros autores também descrevem uma susceptibilidade total do *S. intermedius* a este antibiótico (Futagawa-Saito *et al.*, 2007).

Figura 14. Susceptibilidade dos isolados cutâneos de *S. intermedius* a outros antibióticos.



Legenda: SXT, trimetoprim-sulfametoxazol; TE, tetraciclina; C, cloranfenicol; VA, vancomicina; DA, clindamicina; FD, ácido fusídico; R, resistente; S, susceptível.

No que respeita ao ácido fusídico, para o qual foi encontrada uma susceptibilidade de 90%, um estudo realizado na Itália obteve anteriormente susceptibilidade total a este antibiótico (Vanni *et al.*, 2006).

Foi detectada uma resistência de 42.9% à tetraciclina. Foram detectadas anteriormente percentagens de resistência na ordem dos 46% à oxitetraciclina por Ganière *et al.* (2005); 40% à tetraciclina por Vanni *et al.* (2006) e 45.5% à tetraciclina por Futagawa-Saito *et al.* (2007). Os genes *tet K*, *L*, *M* e *O* são os responsáveis pela resistência à tetraciclina nos estafilococos de origem animal (Malik, Peng & Barton, 2005). Foi determinado recentemente em estirpes de *S. intermedius* isoladas de piodermite, que nenhuma continha o gene *tet O* e que todos os isolados possuíam dois dos seguintes genes: *tet K*, *L*, *M* (estando o gene *tet M* presente em 97% dos casos) (Kim, Na & Lee, 2005).

Cerca de 17.4% das estirpes revelaram resistência ao cloranfenicol. Ganière *et al.* (2005) verificou uma resistência mais elevada (30%) a este antibiótico, apesar do mesmo raramente ser usado para o tratamento das piodermite. Kim *et al.* (2005) obteve uma resistência mais

semelhante à do presente estudo, tendo determinado a presença do gene *cat* (que codifica para a acetiltransferase, enzima responsável pela inativação deste antibiótico) em 59% dos isolados resistentes.

O nível de resistência à clindamicina foi de 36.8%. Ganière *et al.* (2005) verificou uma resistência de 22%, e Hauschild e Wójcik (2007) descrevem 35% de resistência a este antibiótico. De acordo com o primeiro autor, a resistência às lincosamidas tem aumentado nos últimos 10 anos o que parece estar relacionado com o aumento do seu uso.

Como já referido uma estirpe de *S. intermedius* mostrou resistência à gentamicina e tobramicina e uma outra estirpe exibiu resistência à enrofloxacina e ciprofloxacina. Uma vez que estas resistências são pouco comuns nesta espécie bacteriana, a susceptibilidade aos antibióticos destas estirpes foi analisada também através de CIMs (tabela 12).

Tabela 12. Interpretação combinada das CIMs e halos de inibição de duas estirpes de *S. intermedius*.

Antibióticos	Halo (mm)		Diâmetro crítico do halo (mm)				CIM (µg/mL)		CIM (µg/mL)			Interpretação combinada CIM / Halo *	
	a	b	S	I	F	R	a	b	S	I	R	a	b
Penicilina G	15	17	≥29	–	–	≤28	>8	>8	≤0.12	–	≥0.25	R	R
Amoxicilina-Ácido Clavulânico	40	38	≥20	–	–	≤19	<2/1	<2/1	≤ 4/2	–	≥8/4	S	S
Ampicilina	17	21	≥29	–	–	≤28	>8	>8	≤0.25	–	≥0.5	R	R
Oxacilina	20	22	≥13	11-12	–	≤10	≤0.25	≤0.25	≤2	–	≥4	S	S
Cefalotina	27	33	≥18	15-17	–	≤14	–	–	–	–	–	S	S
Cefoxitina	34	35	≥20	–	–	≤19	–	–	–	–	–	S	S
Cefuroxima	35	35	≥23	15-22	–	≤14	–	–	–	–	–	S	S
Cefotaxima	33	33	≥23	15-22	–	≤14	≤0.5	≤0.5	≤8	–	≥64	S	S
Gentamicina	0	24	≥15	13-14	–	≤12	>8	≤2	≤4	8	≥16	R	S
Amicacina	18	22	≥17	15-16	–	≤14	–	–	–	–	–	S	S
Tobramicina	10	23	≥15	13-14	–	≤12	–	–	–	–	–	R	S
Netilmicina	21	27	≥15	13-14	–	≤12	≤4	≤4	≤8	–	≥32	S	S
Cloranfenicol	9	25	≥18	13-17	–	≤12	>16	≤4	≤8	16	≥32	R	S

Tabela 12 (continuação)

Antibióticos	Halo (mm)		Diâmetro crítico do halo (mm)				CIM (µg/mL)		CIM (µg/mL)			Interpretação combinada CIM / Halo *	
	a	b	S	I	F	R	a	b	S	I	R	a	b
Tetraciclina	0	30	≥19	15-18	–	≤14	>8	≤2	≤4	8	≥16	R	S
Ciprofloxacina	ND	15	≥21	16-20	–	≤15	≤0.5	>2	≤1	-	≥4	S	R
Enrofloxacina	25	15	≥23	–	17-22	≤16	–	–	–	–	–	S	R
Marbofloxacina	ND	14	≥18	–	–	<13	–	–	–	–	–	ND	I
Levofloxacina	–	–	–	–	–	–	≤0.5	>4	≤1	-	≥4	S	R
Moxifloxacina	–	–	–	–	–	–	≤0.12	≥2	≤0.5	-	≥2	S	R
Gatifloxacina	–	–	–	–	–	–	≤1	≤1	≤0.5	-	≥2	I	I
Trimetoprim/ Sulfametoxazol	18	23	≥16	11-15	–	≤10	≤2/38	≤2/38	≤2/38	-	≥4/76	S	S
Clindamicina	ND	ND	≥21	15-20	–	≤14	>2	≤0.25	≤0.5	1-2	≥4	R	S
Vancomicina	17	18	≥12	10-11	–	≤9	≤1	≤1	≤4	8-16	≥32	S	S
Ácido Fusídico	30	11	≥22	–	–	<15	≤2	≤2	≤2	-	>16	S	S
Mupirocina	–	–	–	–	–	–	≤4	≤4	≤4	-	>8	S	S
Teicoplanina	–	–	–	–	–	–	≤1	≤1	≤8	–	≥32	S	S
Quinopristina- Dalfopristina	–	–	–	–	–	–	≤0.5	≤0.5	≤1	-	≥4	S	S
Linezolide	–	–	–	–	–	–	≤1	≤1	≤4	-	-	S	S
Azitromicina	–	–	–	–	–	–	>4	≤0.5	≤2	-	≥8	R	S

Legenda:

a. Estirpe de *S. intermedius* resistente à gentamicina e tobramicina no antibiograma.

b. Estirpe de *S. intermedius* resistente enrofloxacina e ciprofloxacina no antibiograma.

* Em caso de resultados discordantes os valores de CIMs foram tidos como *gold standard*.

A estirpe que apresentava resistência à gentamicina e tobramicina (estirpe a) mostrou ser susceptível à amicacina e netilmicina. Era também resistente à penicilina G, ampicilina, cloranfenicol, tetraciclina, clindamicina e azitromicina.

Como já referido os estudos descrevem a gentamicina como sendo muito eficaz contra os *S. intermedius*, contudo têm sido isoladas algumas estirpes resistentes a este antibiótico ainda que em pequeno número (Ganière *et al.*, 2005; Hauschild & Wójcik, 2007). De lembrar que o uso dos aminoglicosídeos no tratamento das piodermites é limitado, devido à necessidade de

administração parenteral e porque estes antibióticos estão associados a nefrotoxicidade e ototoxicidade se usados de forma prolongada (May, 2006).

A resistência dos estafilococos aos aminoglicosídeos deve-se principalmente à inactivação enzimática por acetil-, adenil- ou fosfotransferases (Ganière *et al.*, 2005). O facto de esta estirpe ser resistente à gentamicina e tobramicina, mas susceptível à amicacina e netilmicina pode ser explicado pelo facto dos aminoglicosídeos serem afectados de forma diferente por estas enzimas, o que resulta em algumas diferenças no seu espectro de acção (NCCLS, 2002). Os genes *aaDE*, *sat4* e *aphA-3* foram identificados em *S. intermedius* e são responsáveis pela resistência à estreptomina, estreptotricina e neomicina. (Boerlin, Burnens, Frey, Kuhnert & Nicolet, 2001; Malik *et al.*, 2005). Não foi contudo encontrada na bibliografia consultada referência à existência de genes que determinem especificamente a resistência à gentamicina e tobramicina. Antes de se apresentar à consulta, o animal em causa tinha feito tratamento combinado com penicilina, estreptomina e dexametasona mais do que uma vez, o que poderá justificar o desencadeamento de resistência à classe dos aminoglicosídeos.

A estirpe que apresentava resistência à enrofloxacina e ciprofloxacina (estirpe b) mostrou ser também resistente à levofloxacina e moxifloxacina, sendo intermédia para a marbofloxacina e gatifloxacina. Além das fluoroquinolonas, esta estirpe era também resistente à penicilina G e ampicilina.

Foi descrita anteriormente em Portugal uma estirpe com resistência de baixo nível à enrofloxacina (CIM= 0.125 µg/mL) entre isolados de *S. intermedius* (n=75) de piodermite e otite externa (Correia *et al.*, 2003). Resultados semelhantes foram obtidos em *S. intermedius* de isolados cutâneos por Ganière *et al.* (2001; 2005), Lloyd *et al.* (1999) e Intorre *et al.* (2007).

Como já descrito a estirpe isolada apresentava resistência à enrofloxacina, ciprofloxacina, levofloxacina e moxifloxacina e era intermédia para a marbofloxacina e gatifloxacina. Lloyd *et al.* (1999) descreveu que no *S. intermedius* a resistência às fluoroquinolonas, detectada como resistência à enrofloxacina, se estende a outras fluoroquinolonas comumente usadas. Nesse estudo foram isoladas 4 estirpes resistentes à enrofloxacina (n=429), duas das quais também possuíam resistência à marbofloxacina e ciprofloxacina.

O mecanismo de resistência nesta estirpe não foi averiguado, mas sabe-se que a resistência às fluoroquinolonas se desenvolve por mutações cromossómicas na DNA-girase ou topoisomerase IV (que são as enzimas alvo das fluoroquinolonas) e/ou por diminuição da sua acumulação intracelular (Lloyd *et al.*, 1999; Ganière *et al.*, 2001; Malik *et al.*, 2005; Intorre *et al.*, 2007). Os mecanismos de resistência do *S. intermedius* ainda não são completamente conhecidos, apesar

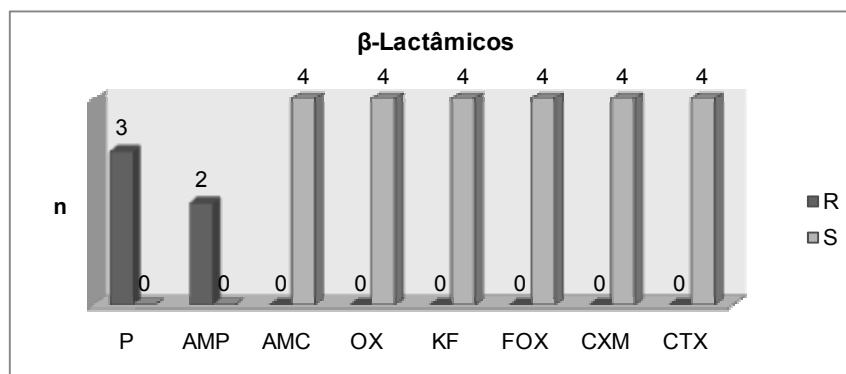
de Intorre *et al.* (2007) ter descrito alterações nos genes *gyrA* (DNA-girase) e *griA* (topoisomerase IV) em duas estirpes.

O animal em causa tinha feito anteriormente antibioterapia com amoxicilina-ácido clavulânico durante um período de três semanas devido a uma piodermite superficial e o tratamento foi eficaz. Não foi possível confirmar se o animal tinha realizado anteriormente tratamento com fluoroquinolonas. De acordo com Ganière *et al.* (2005) o isolamento de estirpes de *S. intermedius* com resistência às fluoroquinolonas tem sido descrito apenas em animais tratados anteriormente com diversos antibióticos, incluindo fluoroquinolonas. Mas Intorre *et al.* (2007) descreve no seu estudo que nenhum dos cães de onde foram isoladas estirpes resistentes, tinham sido sujeitos a terapêutica anterior com fluoroquinolonas. Por isso, parece que o papel da antibioterapia anterior com fluoroquinolonas no aparecimento de estirpes resistentes de *S. intermedius* não está bem definido.

3.2.3.2 Isolados auriculares

Os resultados dos antibiogramas são apresentados nas figuras 15, 16, 17 e 18 para o conjunto das estirpes de *S. intermedius* (n=4).

Figura 15. Susceptibilidade dos isolados auriculares de *S. intermedius* aos antibióticos β -lactâmicos.



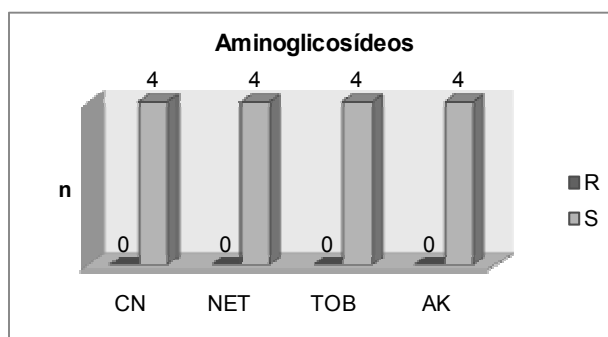
Legenda: P, penicilina G; AMP, ampicilina; AMC, amoxicilina-ácido clavulânico; OX, oxacilina; KF, cefalotina; FOX, cefoxitina; CXM, cefuroxima; CTX, cefotaxima; R, resistente; S, susceptível; n, nº de estirpes testadas.

As estirpes testadas demonstraram uma resistência total face à penicilina G e ampicilina. Contrariamente, todas as estirpes mostraram susceptibilidade face à associação amoxicilina-

ácido clavulânico. Foram obtidas anteriormente resistências de 64% para a ampicilina e de 65% para a penicilina em isolados de otite externa (Hariharan *et al.*, 2006). Contudo, Futagawa-Saito *et al.* (2007) descreveu 95.5% de resistência à ampicilina por parte de isolados de animais saudáveis e animais com piodermite ou otite externa. Já no que diz respeito à associação amoxicilina-ácido clavulânico, Hariharan *et al.* (2006) obteve de forma idêntica uma susceptibilidade total. Conclui-se que todas as estirpes mostraram susceptibilidade à oxacilina e cefoxitina, ou seja, não foi detectada nenhuma estirpe meticilina-resistente. A susceptibilidade também foi total para a cefalotina (cefalosporina de 1ª geração), cefuroxima (cefalosporina de 2ª geração) e cefotaxima (cefalosporina de 3ª geração). Em Portugal, Delgado *et al.* (2006) descreveu uma alta susceptibilidade do *S. intermedius* (de isolados cutâneos e auriculares) à oxacilina e também Pomba *et al.* (2006) não encontrou anteriormente nenhuma estirpe de *S. intermedius* meticilina-resistente entre isolados clínicos de otite externa, no entanto foram encontrados três isolados de ECNs resistentes à meticilina.

Futagawa-Saito *et al.* (2007), não observou igualmente nenhuma estirpe resistente à oxacilina nem à cefalexina (cefalosporina de 1ª geração) e Hariharan *et al.* (2006) descreve apenas 1% de estirpes resistentes à cefalexina. Portanto, parece existir uma boa susceptibilidade às cefalosporinas de 1ª geração. Tal como nos isolados cutâneos, a justificação para esta grande susceptibilidade às cefalosporinas pode estar relacionada com o facto de os estafilococos não terem ainda adquirido mecanismos de resistência às cefalosporinas (Mason & Kietzmann, 1999).

Figura 16. Susceptibilidade dos isolados auriculares de *S. intermedius* aos aminoglicosídeos.

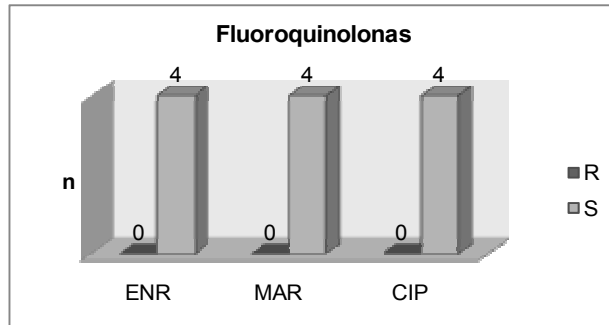


Legenda: CN, gentamicina; NET, netilmicina; TOB, tobramicina; AK, amicacina. R, resistente; S, susceptível n, nº de estirpes testadas.

Todas as estirpes se mostraram sensíveis aos aminoglicosídeos testados (gentamicina, netilmicina, tobramicina e amicacina). Hariharan *et al.* (2006) descreve apenas 2% de estirpes isoladas de otites como resistentes à gentamicina e à amicacina. Também Lyskova *et al.* (2007)

descreve a maioria dos isolados bacterianos do conducto auditivo externo (não apenas o *S. intermedius*) como sendo susceptíveis à gentamicina. Já Futagawa-Saito *et al.* (2007) indica uma resistência de 9.1% à gentamicina, para a totalidade de estirpes isoladas de animais saudáveis e animais com piodermite ou otite externa.

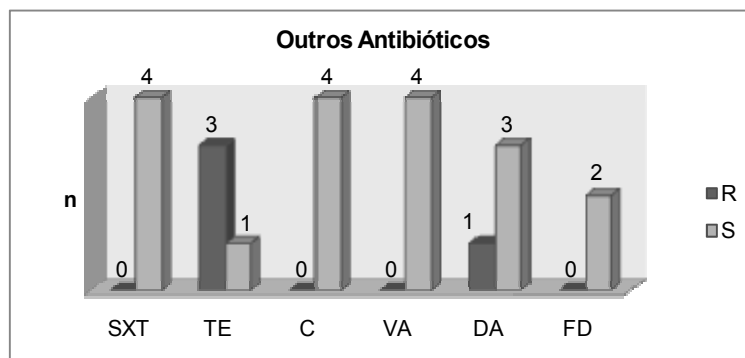
Figura 17. Susceptibilidade dos isolados auriculares de *S. intermedius* às fluoroquinolonas.



Legenda: ENR, enrofloxacin; MAR, marbofloxacin; CIP, ciprofloxacin R, resistente; S, susceptível; n, nº de estirpes testadas.

Ao contrário dos *S. intermedius* isolados de piodermites, nas otites externas nenhuma estirpe se mostrou resistente às fluoroquinolonas (enrofloxacin, ciprofloxacin e marbofloxacin). Delgado *et al.* (2006) descreveu no nosso país uma alta susceptibilidade do *S. intermedius* (de isolados cutâneos e auriculares) às fluoroquinolonas, o que está em concordância com os nossos resultados. Outro estudo demonstrou uma alta susceptibilidade dos *S. intermedius* isolados de otites à marbofloxacin, com 99% das estirpes mostrando susceptibilidade a esta fluoroquinolona (Meunier, Acar, Martel, Kroemer & Valle, 2004). De forma semelhante Hariharan *et al.* (2006) obteve apenas 1% de estirpes isoladas de otites como resistentes à enrofloxacin (n=651).

Figura 18. Susceptibilidade dos isolados auriculares de *S. intermedius* a outros antibióticos.



Legenda: SXT, trimetoprim-sulfametoxazol; TE, tetraciclina; C, cloranfenicol; VA, vancomicina; DA, clindamicina; FD, ácido fusídico R, resistente; S, susceptível; n, nº de estirpes testadas.

Os isolados demonstraram total susceptibilidade à associação trimetoprim-sulfametoxazol, cloranfenicol, vancomicina e ao ácido fusídico.

Relativamente à associação trimetoprim-sulfametoxazol os resultados diferem dos obtidos por Hariharan *et al.* (2006), que obteve 18% de estirpes resistentes a uma associação trimetoprim-sulfa. O mesmo autor obteve resultados idênticos no que concerne à susceptibilidade ao cloranfenicol. Quanto à vancomicina outros autores também descrevem uma susceptibilidade total do *S. intermedius* a este antibiótico (Futagawa-Saito *et al.*, 2007). No que diz respeito ao ácido fusídico, Hariharan *et al.* (2006) registou apenas 3% de estirpes isoladas de otites resistentes a este agente.

Três estirpes mostraram ser resistentes à tetraciclina e uma à clindamicina. Hariharan *et al.* (2006) observou apenas 4% de resistência a este último agente; esta discrepância pode dever-se a uma maior resistência à clindamicina por parte das estirpes estudadas, ao pequeno número da amostra (n=4), a diferenças na população em estudo ou ao acaso.

3.2.4 Susceptibilidade aos antibióticos das estirpes de *Staphylococcus* spp.

3.2.4.1 Isolados cutâneos

Os resultados obtidos para as estirpes de outros *Staphylococcus* spp. isoladas de piodermites estão descritos na tabela 13.

A estirpe de *S. aureus* isolada mostrou resistência apenas à penicilina G e à ampicilina, o que é um resultado esperado para a maioria dos *Staphylococcus* spp.

O *S. schleiferi* é um organismo reconhecido recentemente, que parece ser isolado com maior frequência de cães com piodermite recorrente e associado ao uso prévio de antibióticos, o que sugere um papel oportunista. A resistência à meticilina tem sido frequentemente associada a este organismo (Frank *et al.*, 2002; Frank *et al.*, 2003). Contudo, as estirpes de *S. schleiferi* portadoras do gene *mecA* ao contrário do que se passa com outras espécies de estafilococos meticilina resistentes, não parecem ser tão predispostas ao desenvolvimento de multiresistência (Morris *et al.*, 2006). As estirpes isoladas no presente estudo não demonstraram no entanto resistência à meticilina. Foi detectada resistência apenas à penicilina G, à ampicilina e à

tetraciclina, que são resultados esperados para o género *Staphylococcus* (Harvey & Hunter, 1999).

Tabela 13. Resultados do TSA das estirpes de *Staphylococcus* spp. isoladas de piодermites.

Antibióticos	<i>S. schleiferi</i>	<i>S. schleiferi</i>	<i>S. schleiferi</i>	<i>S. schleiferi</i>	<i>S. schleiferi</i>	<i>S. simulans</i>	<i>S. aureus</i>
P	R	S	S	R	R	R	R
AMP	ND	S	S	R	R	R	R
AMC	S	S	S	S	S	R	S
OX	S	S	S	S	S	R	S
KF	S	S	S	S	S	R	S
FOX	S	S	S	S	S	S	S
CXM	S	S	ND	S	S	R	S
CTX	S	S	S	S	S	R	S
ENR	F	S	S	F	F	R	S
MAR	S	S	S	S	ND	R	S
CIP	S	S	S	S	S	R	S
SXT	S	S	S	S	S	R	S
TE	S	R	S	S	S	R	S
C	S	S	S	S	S	R	S
CN	S	S	S	S	S	R	S
NET	ND	S	S	S	S	S	S
TOB	S	S	S	S	S	S	S
AK	S	S	S	S	S	S	S
VA	S	S	S	S	S	S	S
DA	S	S	S	S	ND	R	S
FD	ND	S	S	S	S	S	S

Legenda: P, penicilina G; AMP, ampicilina; AMC, amoxicilina-ácido clavulânico; OX, oxacilina; KF, cefalotina; FOX, cefoxitina; CXM, cefuroxima; CTX, cefotaxima; ENR, enrofloxacina; MAR, marbofloxacina; CIP, ciprofloxacina; SXT, trimetoprim-sulfametoxazol; TE, tetraciclina; C, cloranfenicol; CN, gentamicina; NET, netilmicina; TOB, tobramicina; AK, amicacina; VA, vancomicina; DA, clindamicina; FD, ácido fusídico; I, intermédico; ND, não testado; R, resistente; S, susceptível; F, flexível.

Já a estirpe de *S. simulans* mostrou ser multiresistente (resistência ≥ 3 classes de antibióticos), sendo susceptível apenas à netilmicina, tobramicina, amicacina, vancomicina e ácido fusídico. Os testes em disco para a oxacilina e cefoxitina que detectam a resistência mediada pelo gene *mecA* foram duvidosos, uma vez que a estirpe se mostrou susceptível à cefoxitina. Num estudo que comparou diferentes métodos para a detecção da resistência à metilina, concluiu-se que os discos de cefoxitina resultam num nível inaceitável de erro para o *S. intermedius* e *S. schleiferi*, ou seja, isolados resistentes são classificados como susceptíveis (Bemis *et al.*, 2006). Os resultados obtidos para esta estirpe sugerem que o mesmo aconteça para o *S. simulans*. Dado o seu padrão de resistência, a susceptibilidade aos antibióticos desta estirpe foi analisada também através de CIMs (tabela 14).

Infecção cutânea no doente atópico canino

A estirpe de *S. simulans* era resistente à oxacilina com uma CIM > 4 µg/ml e por isso foi considerada como resistente a todos os β-lactâmicos, independentemente do resultado *in vitro*. Este isolado era também resistente às fluoroquinolonas de 2^a, 3^a e 4^a geração, gentamicina, cotrimoxazol, tetraciclina, cloranfenicol, clindamicina e azitromicina.

Tabela 14. Interpretação combinada das CIMs e halos de inibição da estirpe de *S. simulans*.

Antibióticos	Halo (mm)	Diâmetro crítico do halo (mm)				CIM (µg/mL)	CIM (µg/mL)			Interpretação combinada CIM / Halo *
		S	I	F	R		S	I	R	
Penicilina G	0	≥29	–	–	≤28	>8	≤0.12	-	≥0.25	R
Amoxicilina-Ácido Clavulânico	17	≥20	–	–	≤19	>4/2	≤4/2	-	≥8/4	R
Ampicilina	8	≥29	–	–	≤28	>8	≤0.25	-	≥0.5	R
Oxacilina	0	≥18	–	–	≤17	>4	≤2	-	≥4	R
Cefalotina	0	≥18	15-17	–	≤14	–	–	–	–	R
Cefoxitina	28	≥25	–	–	≤24	–	–	–	–	S
Cefuroxima	0	≥23	15-22	–	≤14	–	–	–	–	R
Cefotaxima	0	≥23	15-22	–	≤14	>32	≤8	-	≥64	R
Gentamicina	10	≥15	13-14	–	≤12	>8	≤4	8	≥16	R
Amicacina	23	≥17	15-16	–	≤14	–	–	–	–	S
Tobramicina	16	≥15	13-14	–	≤12	–	–	–	–	S
Netilmicina	28	≥15	13-14	–	≤12	≤4	≤8	-	≥32	S
Cloranfenicol	9	≥18	13-17	–	≤12	>16	≤8	16	≥32	R
Tetraciclina	0	≥19	15-18	–	≤14	>8	≤4	8	≥16	R
Ciprofloxacina	0	≥21	16-20	–	≤15	>2	≤1	-	≥4	R
Enrofloxacin	0	≥23	–	17-22	≤16	–	–	–	–	R
Marbofloxacina	0	≥18	–	–	<13	–	–	–	–	R
Levofloxacina	–	–	–	–	–	>4	≤1	-	≥4	R
Moxifloxacina	–	–	–	–	–	≥2	≤0.5	-	≥2	R
Gatifloxacina	–	–	–	–	–	4	≤0.5	-	≥2	R

Tabela 14 (continuação)

Antibióticos	Halo (mm)	Diâmetro crítico do halo (mm)				CIM (µg/mL)	CIM (µg/mL)			Interpretação combinada CIM / Halo *
		S	I	F	R		S	I	R	
Trimetoprim/ Sulfametoxazol	0	≥16	11-15	–	≤10	>2/38	≤2/38	-	≥4/76	R
Clindamicina	0	≥21	15-20	–	≤14	>2	≤0.5	1-2	≥4	R
Vancomicina	17	≥12	10-11	–	≤9	≤1	≤4	8-16	≥32	S
Ácido Fusídico	30	≥22	–	–	<15	≤2	≤2	-	>16	S
Teicoplanina	–	–	–	–	–	≤1	≤8	–	≥32	S
Quinopristina- Dalfopristina	–	–	–	–	–	≤0.5	≤1	-	≥4	S
Linezolide	–	–	–	–	–	≥2	≤4	-	-	S
Azitromicina	–	–	–	–	–	>4	≤2	-	≥8	R

Legenda:

* Em caso de resultados discordantes os valores de CIMs foram tidos como *gold standard*.

3.2.4.2 Isolados auriculares

Os resultados obtidos para as estirpes de outros *Staphylococcus* spp. isoladas de otites externas estão descritos na tabela 15.

Tabela 15. Resultados do TSA das estirpes de *Staphylococcus* spp. isoladas de otites externas.

Antibióticos	<i>S. schleiferi</i>	<i>S. schleiferi</i>	<i>S. schleiferi</i>	<i>S. haemolyticus</i>
P	S	R	S	S
AMP	S	R	S	S
AMC	R	S	S	S
OX	S	S	S	S
KF	S	S	ND	S
FOX	S	S	S	S
CXM	S	ND	S	S
CTX	S	S	S	S
ENR	S	S	S	S
MAR	S	S	ND	S
CIP	S	S	S	S
SXT	S	S	S	S
TE	S	R	S	S
C	S	S	S	S
CN	S	S	S	S
NET	S	S	S	S
TOB	S	S	S	S
AK	S	S	S	S
VA	S	S	S	S
DA	S	S	S	S
FD	R	ND	S	R

Legenda: P, penicilina G; AMP, ampicilina; AMC, amoxicilina-ácido clavulânico; OX, oxacilina; KF, cefalotina; FOX, cefoxitina; CXM, cefuroxima; CTX, cefotaxima; ENR, enrofloxacina; MAR, marbofloxacina; CIP, ciprofloxacina; SXT, trimetoprim-sulfametoxazol; TE, tetraciclina; C, cloranfenicol; CN, gentamicina; NET, netilmicina; TOB, tobramicina; AK, ampicilina; VA, vancomicina; DA, clindamicina; FD, ácido fusídico; I, intermédio; ND, não testado; R, resistente; S, susceptível.

A estirpe de *S. haemolyticus* testada mostrou-se susceptível a todos os antibióticos testados, com excepção do ácido fusídico. Quanto ao *S. schleiferi*, este pode ser isolado do conducto

auditivo externo de animais normais ou com otite externa, e tem sido identificada resistência à meticilina nesta espécie (May *et al.*, 2004). Nas estirpes isoladas não foi identificada nenhuma meticilina-resistente o que coincide com os resultados obtidos por outro estudo em Portugal (Pomba *et al.*, 2006). Apenas uma estirpe demonstrou resistência à associação amoxicilina-ácido clavulânico e ácido fusídico e outra estirpe demonstrou simultaneamente resistência à penicilina G, ampicilina e à tetraciclina.

3.2.5 Susceptibilidade aos antibióticos das estirpes de *Proteus mirabilis*

Não se detectaram estirpes produtoras de ESBLs (β -lactamases de espectro alargado). A tabela 16 mostra os resultados obtidos para as estirpes de *P. mirabilis* isoladas de zaragatoas cutâneas (n=1) e de zaragatoas auriculares (n=4).

Da análise da tabela pode concluir-se haver uma grande susceptibilidade aos β -lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas), às fluoroquinolonas, aos aminoglicosídeos, trimetoprim-sulfametoxazol e ao cloranfenicol e parece haver uma forte resistência à tetraciclina.

Devido ao pequeno número de estirpes de *P. mirabilis* isoladas é difícil tirar conclusões quanto ao padrão de resistência desta espécie bacteriana, contudo os resultados obtidos seguem a tendência descrita por outros estudos. Delgado *et al.* (2006) descreve as estirpes de *Proteus* spp. (isolados cutâneos e auriculares) como sensíveis à amoxicilina e fluoroquinolonas e Hariharan *et al.* (2006) descreve alguma resistência à associação amoxicilina-ácido clavulânico (3%), à cefalotina (19%), à gentamicina (13%), à associação trimetoprim-sulfametoxazol (17%) e ao cloranfenicol (15%) por parte de estirpes isoladas de otite externa. Relativamente à resistência à tetraciclina, Grobbel *et al.* (2007) obteve 90 e 92% de resistência, em isolados de *Proteus* spp. do tracto urogenital e da pele de pequenos animais, respectivamente. Num trabalho que comparou a susceptibilidade de vários isolados bacterianos em períodos distintos, verificou-se uma redução significativa da susceptibilidade do *Proteus* spp. à ampicilina (não testada no presente estudo), mas de uma forma geral os resultados para os outros antibióticos são semelhantes aos mostrados (Authier, Paquette, Labrecque & Messier, 2006).

Tabela 16. Resultados do TSA das estirpes isoladas de *P. mirabilis*.

Antibióticos	Zaragatoa cutânea	Zaragatoa auricular	Zaragatoa auricular	Zaragatoa auricular	Zaragatoa auricular
AML	S	S	S	S	S
AMC	S	S	S	S	S
KF	S	S	S	S	S
FOX	S	S	S	S	S
CXM	S	S	S	S	S
CTX	S	S	S	ND	S
CFM	S	S	S	S	S
NA	S	I	S	S	S
ENR	S	S	S	S	S
MAR	S	S	S	S	S
CIP	S	S	S	S	S
CN	R	S	S	S	S
NET	S	S	S	S	S
TOB	R	S	S	S	S
AK	I	S	S	S	S
SXT	R	S	S	S	S
TE	R	R	R	R	ND
C	S	S	R	S	S

Legenda: AML, amoxicilina; AMC, amoxicilina-ácido clavulânico; KF, cefalotina; FOX, cefoxitina; CXM, cefuroxima; CTX, cefotaxima; CFM, cefixima; NA, ácido nalidíxico; ENR, enrofloxacina; MAR, marbofloxacina; CIP, ciprofloxacina; CN, gentamicina; NET, netilmicina; TOB, tobramicina; AK, amicacina; SXT, trimetoprim-sulfametoxazol; TE, tetraciclina; C, cloranfenicol; I, intermédio; ND, não testado; R, resistente; S, susceptível.

3.2.6 Susceptibilidade aos antibióticos das estirpes de *Pseudomonas aeruginosa*

A tabela 17 mostra os resultados obtidos para as estirpes de *P. aeruginosa* isoladas de zaragatoas cutâneas (n=1) e de zaragatoas auriculares (n=3).

Tabela 17. Resultados do TSA das estirpes isoladas de *P. aeruginosa*.

Antibióticos	Zaragatoa cutânea	Zaragatoa auricular	Zaragatoa auricular	Zaragatoa auricular
TIC	S	ND	R	R
PRL	S	S	S	S
TZP	S	ND	S	S
CTX	I	I	R	R
CAZ	S	S	S	S
IPM	S	S	S	S
CN	S	R	I	R
NET	S	S	S	R
TOB	S	S	S	S
AK	S	S	S	R
ENR	S	R	I	R
CIP	S	R	S	S
LEV	S	R	S	R
SXT	R	R	ND	R

Legenda: TIC, ticarcilina; PRL, piperacilina; TZP, piperacilina-tazobactam; CTX, cefotaxima; CAZ, ceftazidima; IPM, imipeneme; CN, gentamicina; NET, netilmicina; TOB, tobramicina; AK, amicacina; ENR, enrofloxacina; CIP, ciprofloxacina; LEV, levofloxacina; SXT, trimetoprim-sulfametoxazol; I, intermédio; ND, não testado; R, resistente; S, susceptível.

As estirpes isoladas mostram grande susceptibilidade à piperacilina, piperacilina-tazobactam, ceftazidima (cefalosporina de 3ª geração), imipeneme; uma boa susceptibilidade face aos aminoglicosídeos (com excepção da gentamicina); mas resistência à ticarcilina (n=2) e intermédias ou resistentes para a cefotaxima (cefalosporina de 3ª geração); alguma resistência às fluoroquinolonas (isolados auriculares) e parece haver grande resistência à associação trimetoprim-sulfametoxazol.

Está descrito que a *P. aeruginosa* é naturalmente resistente à ampicilina, cefalosporinas de 1ª e 2ª geração, eritromicina e é também comum a resistência à estreptomicina, tetraciclina,

cloranfenicol, sulfonamidas, co-trimoxazol, nitrofurantoina e fluoroquinolonas. De entre os antibióticos β -lactâmicos, as novas penicilinas, incluindo a azlocilina, são mais activas que a carbenicilina e algumas cefalosporinas de 3ª geração, nomeadamente a cefoperazona, ceftazidima e cefsulodina, também têm actividade contra esta bactéria (Šeol, Naglič, Madić & Bedekovic, 2002).

Devido ao pequeno número de estirpes de *P. aeruginosa* isoladas é difícil tirar conclusões quanto ao padrão de resistência desta espécie bacteriana, contudo os resultados obtidos seguem a tendência descrita por outros estudos. De referir que no presente estudo a estirpe isolada de uma piodermite estava associada a *S. intermedius*.

Quanto aos β -lactâmicos, Delgado *et al.* (2006) descreve um óptimo espectro de acção para a ceftazidima e o imipeneme, com mais de 90% dos isolados de *P. aeruginosa* a mostrarem susceptibilidade. Outro estudo aponta o imipeneme como o antibiótico mais activo com 96.7% de susceptibilidade, a cefoperazona (cefalosporina de 3ª geração) com 86.9% e a ceftazidima com 77.0% (Šeol *et al.*, 2002).

Relativamente aos aminoglicosídeos, Hariharan *et al.* (2006) descreve uma resistência de 15% à gentamicina e Turkyilmaz (2008) descreve mesmo a gentamicina como o antibiótico mais eficaz.

De acordo com Wildermuth, Griffin, Rosenkrantz e Boord (2007) os isolados auriculares parecem ser menos susceptíveis à enrofloxacina do que à ciprofloxacina e menos susceptíveis à enrofloxacina quando comparados com isolados cutâneos. Noutro estudo, apenas 57.5% e 18.6% dos isolados mostraram resposta usando a dose máxima de ciprofloxacina e de enrofloxacina, respectivamente; portanto as fluoroquinolonas, nas doses recomendadas, podem não ser úteis no tratamento das otites causadas por *P. aeruginosa* (Hall, Dick, Waisglass & Lam, 2005). Relativamente às estirpes isoladas de piodermite, Hillier *et al.* (2006) concluiu que apesar da resistência a algumas das fluoroquinolonas, a maioria dos cães tratados com fluoroquinolonas orais tiveram resolução das lesões. Por isso, a piodermite causada por *P. aeruginosa* não parece apresentar o mesmo dilema que as otites causadas por este agente, em que são comuns as estirpes multiresistentes.

Também Turkyilmaz (2008) e Hariharan *et al.* (2006) descrevem uma grande resistência à associação trimetoprim-sulfametoxazol.

Devido aos padrões de multiresistência da *P. aeruginosa*, especialmente de isolados auriculares, o seu tratamento empírico não é aconselhável e os antibióticos devem ser seleccionados com base nos resultados dos testes de susceptibilidade (Petersen, Walker, Bowman, Schott & Rosser, 2002; Hillier *et al.*, 2006; Turkyilmaz, 2008).

3.2.7 Padrões de resistência

Dada a maior representatividade do *S. intermedius* quer nos isolados cutâneos quer nos isolados auriculares, o padrão de resistência desta espécie bacteriana foi investigado.

Foram observados 12 padrões de resistência para os *S. intermedius* isolados de piodermites (tabela 18) e 3 padrões para os *S. intermedius* isolados de otites externas (tabela 19).

Tabela 18. Padrões de resistência antimicrobiana das estirpes de *S. intermedius* isoladas de piodermites.

Padrões de resistência	Nº estirpes	%
Sem resistência	4	17,4
Resistente a		
TE	2	8,7
AMP	1	4,35
P, AMP	4	17,4
P, AMP, DA	1	4,35
P, AMP, AMC	1	4,35
P, AMP, TE	2	8,7
P, AMP, DA, FD	1	4,35
P, AMP, TE, DA	2	8,7
P, AMP, C, DA	1	4,35
P, AMP, TE, C, DA	2	8,7
P, AMP, ENR, CIP, FD	1	4,35
P, AMP, TE, C, CN, TOB	1	4,35
Total	23	100

Legenda: P, penicilina G; AMP, ampicilina; AMC, amoxicilina-ácido clavulânico; CN, gentamicina; TOB, tobramicina; ENR, enrofloxacina; MAR, marbofloxacina; CIP, ciprofloxacina; TE, tetraciclina; C, cloranfenicol; DA, clindamicina; FD, ácido fusídico.

Tabela 19. Padrões de resistência antimicrobiana das estirpes de *S. intermedius* isoladas de otites externas.

Padrões de resistência	Nº estirpes	%
Sem resistência	1	25
Resistente a		
P, TE	1	25
P, AMP, TE	1	25
P, AMP, TE, DA	1	25
Total	4	100

Legenda: P, penicilina G; AMP, ampicilina; TE, tetraciclina; DA, clindamicina.

Nos isolados de piodermites o padrão mais frequente foi a resistência à penicilina G e à ampicilina, o que vem novamente confirmar a elevada resistência desta espécie bacteriana às penicilinas hidrolisáveis. Aliás, a resistência a estas duas penicilinas (de forma isolada e em conjunto com outros antibióticos) verificou-se em 69.6% das estirpes. Contudo, 7 classes de antibióticos foram afectadas por resistência (β -lactâmicos, aminoglicosídeos, fluoroquinolonas, tetraciclina, clindamicina, fenicóis e ácido fusídico).

Nos isolados de otites externa não houve um padrão mais frequente. Dois dos padrões encontrados para os isolados auriculares foram igualmente encontrados para as estirpes cutâneas.

As estirpes foram ainda classificadas quanto ao tipo de resistência encontrada. Foram consideradas como tendo resistência única se mostraram resistência a apenas uma classe de antibióticos; como tendo resistência múltipla se apresentaram resistência a duas classes de antibióticos e como sendo multiresistentes se possuíam resistência a três ou mais classes de antibióticos. Os resultados são apresentados nas tabelas 20 e 21.

Tabela 20. Tipo de resistência apresentada pelas estirpes de *S. intermedius* isoladas de piodermites.

Tipo de resistência	Nº estirpes	%
Sem resistência	4	17,4
Resistência única	8	34,8
Resistência múltipla	3	13
Multiresistente	8	34,8
Total	23	100

Legenda: resistência única = resistência a 1 classe de antibióticos; resistência múltipla = resistência a 2 classes de antibióticos; multiresistente = resistência \geq 3 classes de antibióticos.

Tabela 21. Tipo de resistência apresentada pelas estirpes de *S. intermedius* isoladas de otites externas.

Tipo de Resistência	Nº estirpes	%
Sem Resistência	1	25
Resistência Única	0	0
Resistência Múltipla	2	50
Multiresistente	1	25
Total	4	100

Legenda: resistência única = resistência a 1 classe de antibióticos; resistência múltipla = resistência a 2 classes de antibióticos; multiresistente = resistência \geq 3 classes de antibióticos.

A resistência a um ou mais antibióticos verificou-se para 82.61% das estirpes cutâneas e 75% das estirpes auriculares. Da análise das tabelas 20 e 21 ressalta que a multiresistência (resistência \geq 3 classes de antibióticos) foi um achado comum quer nos isolados cutâneos (34.8%) quer nos isolados auriculares (25%). Contudo, o pequeno número de isolados auriculares não permite fazer generalizações. Estes resultados podem estar relacionados com os vários ciclos de antibioterapia a que os animais atópicos com infecção cutânea são sujeitos. Uma alta ocorrência de estirpes de *S. intermedius* multiresistentes tem sido descrita por outros autores (Ganière *et al.*, 2005; Futagawa-Saito *et al.*, 2007).

Este facto é preocupante se tivermos em conta o potencial zoonótico das estirpes de *S. intermedius* multiresistentes (Harvey *et al.*, 1994; Guardabassi *et al.*, 2004a; Guardabassi *et al.*,

2004b). Uma vez que o *S. intermedius* é um comensal da pele canina e é normalmente raro no homem tem sido sugerido que a transmissão é feita a partir do cão.

Como já referido o *S. intermedius* raramente causa doença no homem, mas existe um risco potencial de transmissão de genes para resistência entre os *S. intermedius* e os estafilococos patogénicos no homem (Duquette & Nuttall, 2004; Guardabassi *et al.*, 2004a).

4. Caracterização genotípica da resistência à meticilina

A resistência à meticilina (oxacilina) é geralmente mediada pelo gene *mecA*. Este gene codifica uma PBP (*penicillin binding protein*) modificada, referida como PBP2A ou PBP2. Esta proteína é uma proteína ligante de baixa afinidade para todos os antibióticos β -lactâmicos, e por isso as bactérias que a produzem não são afectadas por estes antibióticos (Duquette & Nuttall, 2004; Malik *et al.*, 2005). A resistência está associada com a aquisição de um elemento de ADN com um tamanho de 20 a 100 kb, cuja denominação é *SSCmec* (*staphylococcal cassette chromosome mec*) e que é integrado no cromossoma do *S. aureus* (Malik *et al.*, 2005). Existem evidências que estirpes de *S. aureus* susceptíveis à meticilina (MS) se tornam resistentes pela aquisição do elemento *SSCmec* de estirpes de estafilococos coagulase negativos (Leonard & Markey, 2008).

O gene *mecA* tem sido detectado tanto em estafilococos coagulase negativos, como em estafilococos coagulase positivos, por isso a resistência à meticilina não está limitada ao *S. aureus* (Duquette & Nuttall, 2004).

A resistência à meticilina tem sido detectada em várias espécies de estafilococos de isolados cutâneos em cães, que na sua maioria demonstraram a presença do gene *mecA* por PCR (Kania *et al.*, 2004; Jones *et al.*, 2007; Loeffler *et al.*, 2007; Griffeth *et al.*, 2008). Entre essas espécies de estafilococos figuram o *S. aureus*, o *S. intermedius* e o *S. schleiferi*.

4.1 Material e métodos

O ADN das estirpes bacterianas de *Staphylococcus* spp. foi extraído usando um método de fervura. Para a amplificação de um módulo de 336 pares de bases (pb) do gene *mecA* foram utilizados os primers MecA1 e MecAC3. Para controlo da amplificação utilizaram-se primers para o ADN do RNA 16 S ribossomal de *Staphylococcus* spp. A reacção de *polimerase chain reaction* (PCR) foi efectuada usando o kit 5 Prime[®] HotMasterMix[™].

A análise de 10 μ L de cada reacção de PCR, após adição de tampão de amostra (0.25% azul de bromofenol, 15% ficol) na proporção de 1/6 do volume final, foi realizada após electroforese em gel de agarose (Appligene, Bioportugal) 2% (p/v) em tampão Tris-acetato-EDTA, TAE (0.04 Tris acetato, pH 8.0, 1mM EDTA), contendo 0.2 μ g/mL de brometo de etídeo (Sigma), durante 3 horas, a 4.5V/cm.

Os produtos de PCR foram visualizados utilizando um transiluminador ultravioleta (Hofer Macrovue UV-25, Amersham Pharmacia Biotech) e o gel fotografado com camera Polaroid

(Photoman Polaroid, Amersham Pharmacia Biotech) e filme Polaroid 667. A determinação dos pesos moleculares dos fragmentos amplificados foi realizada atendendo à distância migrada utilizando como padrão o marcador de pesos moleculares do fragmento amplificador da estirpe FMV 37/05 (Pomba *et al.*, 2006), uma vez que a migração em cm é função linear do logaritmo da massa molecular.

4.1.1 Estirpes bacterianas

Devido ao padrão de resistência determinado pelo antibiograma foram testadas as estirpes descritas na tabela 22. De acordo com van Duijkeren (Duijkeren, Boxb, Heckc, Wannetc & Fluit, 2004) deve suspeitar-se da resistência à metilina em estafilococos multiresistentes, assim como nos estafilococos que mostrem resistência à gentamicina, enrofloxacina, combinações trimetoprim-sulfonamidas ou a antibióticos β -lactâmicos (além da ampicilina). Estas estirpes devem ser testadas quanto à sua susceptibilidade à oxacilina e deve ser pesquisada a presença do gene *mecA*. Todas as estirpes testadas foram isoladas de piodermites e a sua escolha teve por base esse fundamento.

Tabela 22. Padrão de resistência das estirpes testadas por PCR.

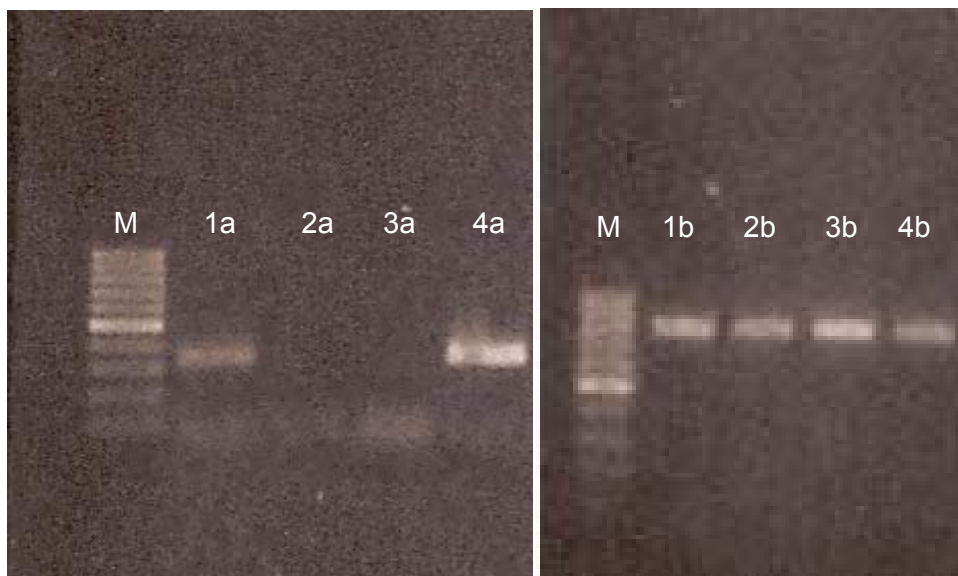
Padrões de resistência	Estirpe nº	Espécie
P, AMP, TE, C, CN, TOB	FMV D 636	<i>S. intermedius</i>
P, AMP, ENR, CIP, FD	FMV D 001	<i>S. intermedius</i>
P, AMP, AMC, KF, CXM, CTX, OX, ENR, MAR, CIP, SXT, TE, C, CN, DA	FMV D 371	<i>S. simulans</i>
P, AMP, TE, C, DA	FMV D 002	<i>S. intermedius</i>
P, AMP, TE, C, DA	FMV D 003	<i>S. intermedius</i>
P, AMP, TE, DA	FMV D 200	<i>S. intermedius</i>
P, AMP, TE, DA	FMV 3310	<i>S. intermedius</i>
P, AMP, C, DA	FMV D 004	<i>S. intermedius</i>
P, AMP, DA	FMV D 005	<i>S. intermedius</i>
P, AMP, DA, FD	FMV D 376	<i>S. intermedius</i>

Legenda: P, penicilina G; AMP, ampicilina; AMC, amoxicilina-ácido clavulânico; OX, oxacilina; KF, cefalotina; FOX, cefoxitina; CXM, cefuroxima; CTX, cefotaxima; ENR, enrofloxacina; MAR, marbofloxacina; CIP, ciprofloxacina; SXT, trimetoprim-sulfametoxazol; TE, tetraciclina; C, cloranfenicol; CN, gentamicina; NET, netilmicina; TOB, tobramicina; AK, ampicacina; VA, vancomicina; DA, clindamicina; FD, ácido fusídico.

4.2 Resultados e discussão

Os resultados estão parcialmente representados na figura 19.

Figura 19. Gel de agarose após migração dos produtos de amplificação por PCR dos genes *mecA* e *16S rRNA*.



Linha M – marcador de pesos moleculares 3000, 2000, 1500, 1200, 1031, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200 e 100 pb.

Linha 1a – gene *mecA* da estirpe de *S. haemolyticus* FMV 37/05 com 336 pb.

Linha 2a – ausência de amplificação do gene *mecA* da estirpe de *S. intermedius* FMV D636.

Linha 3a – ausência de amplificação do gene *mecA* da estirpe de *S. intermedius* FMV D001.

Linha 4a – gene *mecA* da estirpe de *S. simulans* FMV D371 com 336 pb.

Linha 1b – gene de *16S rRNA* da estirpe de *S. haemolyticus* FMV 37/05 com 798 pb.

Linha 2b – gene de *16S rRNA* da estirpe de *S. intermedius* FMV D636 com 798 pb.

Linha 3b – gene de *16S rRNA* da estirpe de *S. intermedius* FMV D001 com 798 pb.

Linha 4b – gene de *16S rRNA* da estirpe de *S. simulans* FMV D371 com 798 pb.

Nenhuma das estirpes de *S. intermedius* testadas demonstrou a presença do gene *mecA*, tendo sido detectada a sua existência apenas na estirpe de *S. simulans* (FMV D371).

A detecção do gene *mecA* por PCR é considerada um teste definitivo para a detecção de resistência à meticilina em *Staphylococcus* spp. (Bemis *et al.*, 2006). Estes resultados vêm assim confirmar a não existência de resistência à meticilina detectada pelo antibiograma nestes 9 isolados de *S. intermedius*. Sabe-se que algumas estirpes de *S. intermedius* embora fenotipicamente sensíveis à meticilina possuem o gene *mecA* (Kania *et al.*, 2004) e por isso têm o potencial para vir a produzir a PBP 2A (Jones *et al.*, 2007).

A frequência de isolamento de estirpes de MRSI é considerada de uma forma geral baixa (Pellerin *et al.*, 1998; Petersen *et al.*, 2002) e vários estudos não encontraram estirpes de MRSI

(Ganière *et al.*, 2005; Hartmann, White, West, Walker & DeBoer, 2005). Contudo, e como referido anteriormente, esta resistência tem sido descrita nos Estados Unidos, onde por exemplo Jones *et al.* (2007) refere que entre as estirpes de *S. intermedius* isoladas de pele e de outros locais, a resistência à oxacilina aumentou entre 2001 e 2005 e que esse aumento está associado com a existência de multiresistência. Também na Europa foram actualmente descritas 11 estirpes de *S. intermedius* MR isoladas de infecções cutâneas em cães, possuindo o gene *mecA* e sendo multiresistentes (Loeffler *et al.*, 2007). Foi ainda recentemente descrita a transmissão de MRSI multiresistentes entre humanos e animais de companhia (Duijkeren *et al.*, 2008), o que vem realçar a importância da vigilância dos MRSI.

O gene *mecA* foi detectado na estirpe de *S. simulans* (FMV D371) testada. Esta espécie bacteriana é um estafilococo coagulase negativo (ECN), e foi previamente implicada em piodermites (Medleau *et al.*, 1986) e otites (Lilenbaum *et al.*, 2000) em cães.

Como referido anteriormente os ECNs eram habitualmente considerados organismos residentes e não patogénicos nos animais de companhia e no homem, mas actualmente sabe-se que estas bactérias são capazes de causar doença em ambas as espécies (May, 2006). A título de exemplo, o *S. simulans* tem sido implicado em pacientes humanos com septicémia e infecções urinárias (Barberis, Pájaro, Godino, Pascual & Daniele, 2001; Koksai, Yasar & Samasti, 2007).

A detecção de resistência à meticilina nesta estirpe difere de dados anteriores quanto à existência deste mecanismo de resistência em *S. simulans* isolados de cães (Lilenbaum *et al.*, 2000; Kania *et al.*, 2004), mas a resistência à meticilina nesta espécie bacteriana foi anteriormente descrita em isolados de gatos saudáveis (Lilenbaum *et al.*, 1998).

Não foi encontrada qualquer referência na bibliografia quanto à detecção do gene *mecA* em estirpes de *S. simulans* isoladas em animais. Contudo, em isolados humanos de origem não especificada está descrita a detecção deste gene em estirpes de *S. simulans* MR (Weller, 1999), e num estudo mais antigo foi demonstrada a homologia entre o gene *mecA* de uma estirpe de *S. simulans* MR e o gene *mecA* de uma estirpe de MRSA (Ubukata, Nonoguchi, Song, Matsushashi & Konno, 1990).

É de lembrar que apesar dos testes em disco para a oxacilina e cefoxitina terem sido duvidosos, determinou-se que a estirpe de *S. simulans* era resistente à oxacilina com uma CIM > 4 µg/ml. Este isolado era também resistente às fluoroquinolonas de 2^a, 3^a e 4^a geração, gentamicina, cotrimoxazol, tetraciclina, cloranfenicol, clindamicina, eritromicina e azitromicina, tendo sido a estirpe de entre os isolados cutâneos que mostrou resistência a um maior número de classes de antimicrobianos.

É reconhecido o potencial zoonótico de estirpes de *S. intermedius* e é aceite que os cães podem ser reservatórios de MRSA importantes nos humanos (Duquette & Nuttall, 2004; Guardabassi *et al.*, 2004a). A transmissão de bactérias resistentes dos animais para o homem representa um risco particular quando as estirpes possuem genes que conferem resistências com importância clínica em medicina humana, como acontece com o gene *mecA*. Por isso, o facto de os cães serem portadores de *Staphylococcus* spp. MR ou estarem clinicamente doentes, representa um risco potencial para as pessoas com as quais contactam. A existência desta estirpe de *S. simulans* no dono do animal não foi averiguada, mas o facto de ser portadora do gene *mecA* e de ser multiresistente vem alertar para a importância da epidemiovigilância da resistência à metilina em medicina veterinária, não só nos *S. intermedius* e *S. aureus* mas também nos ECNs.

5. Conclusões

Neste trabalho foi feito o estudo de 55 doentes atópicos caninos com infecção cutânea na área da Grande Lisboa. Em relação à população de cães estudada observou-se que a maior prevalência foi de cães de origem indeterminada (29%) seguida do Cocker Spaniel (15%), Labrador Retriever (5%) e Terra Nova (5%). A distribuição sexual dos doentes atópicos com infecção cutânea parece seguir a tendência geral da população hospitalar, em que há uma predominância do sexo masculino em relação ao feminino. A maioria dos cães neste estudo (63%) possuía mais de quatro anos, o que está provavelmente relacionado com a população ter sido obtida de uma consulta de segunda opinião.

No diagnóstico citológico de infecção cutânea determinou-se que parte da população em estudo (20%) apresentava uma infecção mista, ou seja, além de infecção bacteriana eram concomitantemente afectados por infecção por *Malassezia*.

Foram estudados isolados bacterianos cutâneos e auriculares de 55 cães atópicos com infecção clínica quanto à sua susceptibilidade antimicrobiana. A espécie bacteriana mais frequentemente isolada tanto nas piodermites como nas otites externas nos pacientes atópicos caninos foi o *S. intermedius*, seguida de outros *Staphylococcus* spp. Na otite externa o *P. mirabilis* e a *P. aeruginosa* parecem ser também importantes.

Não se observaram diferenças significativas nas susceptibilidades das estirpes de *S. intermedius* isoladas de piodermites e otites. Apesar de se ter verificado resistência a um ou mais antibióticos para 82.61% das estirpes cutâneas e 75% das estirpes auriculares, a grande maioria dos isolados demonstrou susceptibilidade a antibióticos de primeira linha, tal como a associação amoxicilina-ácido clavulânico, oxacilina, cefalosporinas, associação trimetoprim-sulfametoxazol e fluoroquinolonas. O presente estudo confirma a grande prevalência da resistência à penicilina, ampicilina, tetraciclina e clindamicina observada anteriormente por outros autores para esta espécie bacteriana.

Parece haver um alto nível de susceptibilidade dos *S. intermedius* isolados de cães atópicos às fluoroquinolonas (enrofloxacina, marbofloxacina e ciprofloxacina), contudo a existência de uma estirpe resistente à enrofloxacina, ciprofloxacina, levofloxacina e moxifloxacina e intermédia para a marbofloxacina e gatifloxacina, alerta para o facto de o uso indiscriminado das fluoroquinolonas poder levar à selecção de estirpes resistentes.

Devido ao pequeno número de estirpes estudadas de *P. mirabilis* e de *P. aeruginosa* é difícil tirar conclusões quanto ao padrão de resistência destas espécies, contudo os resultados obtidos seguem a tendência descrita por outros estudos.

A multiresistência foi um achado comum quer nos isolados cutâneos quer nos isolados auriculares de *S. intermedius*, o que pode estar relacionado com os vários ciclos de antibioterapia a que os animais atópicos são sujeitos e com o uso indiscriminado de antibióticos. Este facto é preocupante se tivermos em conta o potencial zoonótico das estirpes de *S. intermedius* multiresistentes.

Tanto para as estirpes de *S. intermedius* como para os outros *Staphylococcus* spp. não foi detectada resistência fenotípica à meticilina. O MRSI tem uma frequência de isolamento considerada baixa, mas tem sido descrito nos Estados Unidos da América e começa a emergir na Europa; de igual forma tem sido descrita resistência à meticilina no *S. schleiferi* e *S. aureus*. A importância de testar os estafilococos quanto à resistência à meticilina está em grande parte relacionada com o seu potencial zoonótico, além das potenciais dificuldades terapêuticas que estas estirpes podem representar.

Devido ao padrão de resistência de nove isolados de *S. intermedius* e um de *S. simulans* foi feita a pesquisa do gene *mecA* por PCR nessas estirpes. Nenhuma das estirpes de *S. intermedius* testadas demonstrou a presença do gene *mecA*, mas foi detectada a sua existência na estirpe de *S. simulans*. Esta estirpe era resistente à oxacilina e demonstrou resistência a sete classes antimicrobianas, além dos β -lactâmicos. Não foram documentados até à data casos de transmissão de *S. simulans* meticilina-resistentes entre o cão e o homem, contudo se ambas as espécies podem ser infectadas por esta bactéria, o seu potencial zoonótico não deve ser esquecido. Obviamente a transmissão de bactérias resistentes representa um risco particular quando as estirpes possuem genes que conferem resistências com importância clínica em medicina humana, como acontece com o gene *mecA*. Portanto, o facto de esta estirpe ser portadora do gene *mecA* e multiresistente vem alertar para a importância da epidemiovigilância da antibioresistência em medicina veterinária, particularmente da resistência à meticilina.

IV. Caso clínico: primeiro caso de infecção cutânea por *Staphylococcus simulans* meticilina resistente num cão com dermatite atópica em Portugal

O canídeo de nome “Toch”, um Teckel, macho, com 8 anos de idade apresentou-se à consulta de referência de dermatologia no Hospital Escolar da FMV-UTL no início de 2005, devido à existência de problemas dermatológicos crónicos com início ao ano e meio de idade.

O paciente tinha já realizado os seguintes exames:

- Análise de T4 livre: negativa.
- Cultura de pêlos para pesquisa de fungos dermatófitos: negativa.
- Pesquisa de *Leishmania* spp. por serologia: negativa.
- Biópsia de pele: lesões observadas compatíveis com processo de natureza alérgica de evolução crónica, possível dermatite atópica.
- Dieta hipoalergénica durante 2 meses: sem melhoria do quadro clínico.

O animal tinha também realizado anteriormente vários cursos de antibioterapia com cefalosporinas, e também corticosteróides orais e itraconazol.

As lesões apresentadas na altura da consulta eram de hipotricose periocular com eritema (grau I), hipotricose do mento, eritema das comissuras labiais (grau II), liquenificação nos membros anteriores e posteriores e região perianal e o animal manifestava prurido severo.

Na consulta realizou-se raspagem cutânea que não revelou a presença de ácaros e citologia cutânea compatível com infecção cutânea bacteriana (observação de polimorfonucleares neutrófilos com cocos fagocitados).

Com base na anamnese e exame dermatológico foi feito o diagnóstico clínico de dermatite atópica complicada por uma piodermite secundária grave. Foi determinado o CADESI (*Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index*) – 02, tendo-se obtido um valor de 187 compatível com um quadro severo, tendo em conta que a pontuação máxima neste índice é de 360 (Germain, Prelaud & Bensignor, 2005; Olivry, Marsella, Iwasaki & Mueller, 2006).

Após o controlo da piodermite superficial e a exclusão de outras doenças causadoras de prurido (dermatite alérgica à picada da pulga e alergia alimentar), foram realizados testes intradérmicos respeitando os tempos de privação farmacológica.

Tabela 23. Sensibilização do canídeo “Toch” determinada por testes intradérmicos.

Grupo de alérgenos	Positivo	Negativo
Epitélios		x
Fungos	x	
Insectos		x
Penas	x	
Pólen de ervas		x
Pólen de gramíneas		x
Pólen de árvores		x
Ácaros	x	

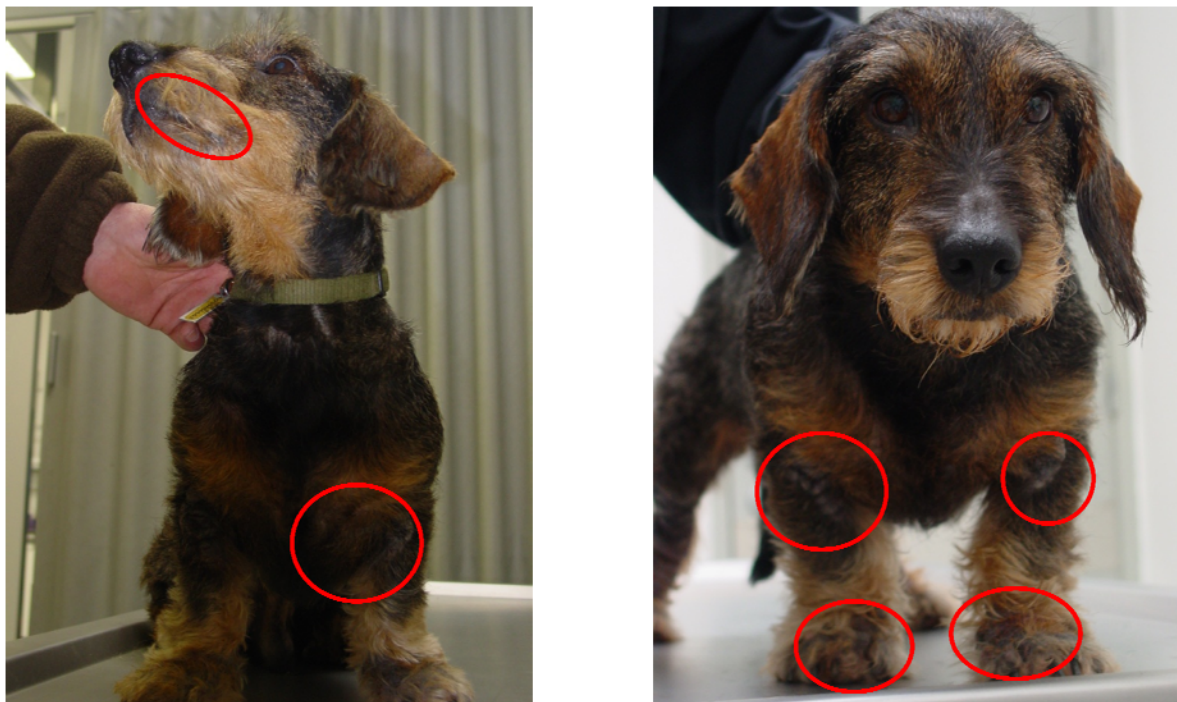
O perfil de sensibilização do “Toch” incluía os grupos de fungos (*Malassezia pachydermatis*), penas (psitacídeos) e ácaros do pó (*Dermatophagoides farinae* e *Dermatophagoides pteronyssinus*) e de armazenamento (*Acarus siro* e *Tyrophagus putrescentiae*). Após a determinação da sensibilização foram propostas medidas de evicção alérgica e a imunoterapia.

Durante o período de um ano o animal apresentou piodermites recorrentes devido à atopia em curso e foram realizados três ciclos de antibioterapia com cefadroxil, tendo cada ciclo uma duração mínima de três semanas. O animal foi reavaliado periodicamente, apresentando-se sempre francamente melhor após os tratamentos instituídos.

Um ano após o diagnóstico de atopia o animal apresentava um quadro de piodermite superficial (figura 20). De referir, que no mês anterior o animal exibia igualmente uma piodermite superficial para a qual foi tratado com cefadroxil; pouco tempo após o término deste tratamento o animal apresentava então novamente infecção cutânea.

Na consulta foi feita citologia cutânea e colheita para exame bacteriológico. A citologia confirmou o quadro de piodermite, com presença de polimorfonucleares neutrófilos com formas cocoides fagocitadas e alguns bastonetes, bem como abundantes queratinócitos. Com base na citologia foi instituído tratamento *per os* com cefadroxil e tópico com peróxido de benzoílo 2% (champô), antes do resultado da análise bacteriológica.

Figura 20. O canídeo “Toch” um ano após o diagnóstico de atopia.



Legenda: os círculos vermelhos indicam as lesões.

Na cultura bacteriológica foi isolado *S. simulans* (ECN) em cultura predominante, em associação com *E. coli*. A susceptibilidade aos antibióticos de ambas as bactérias foi determinada pelo método de difusão em disco (exame pedido na altura da consulta) e por determinação de concentrações inibitórias mínimas para o *S. simulans* (exame realizado à posteriori), pelos métodos descritos anteriormente.

Relativamente ao isolado de *E. coli*, este não apresentava resistência a nenhum dos antibióticos testados. Quanto à estirpe de *S. simulans* os testes em disco para a oxacilina e cefoxitina que detectam a resistência mediada pelo gene *mecA* foram duvidosos. No entanto, a estirpe de *S. simulans* era resistente à oxacilina com uma CIM > 4 µg/ml e por PCR possuía o gene *mecA*. Este isolado era também resistente às fluoroquinolonas de 2ª, 3ª e 4ª geração, gentamicina, cotrimoxazol, tetraciclina, cloranfenicol, clindamicina, eritromicina e azitromicina (tabela 24).

Houve uma resposta positiva à terapêutica combinada, embora não exista indicação para o tratamento das infecções por ECNs metilina resistentes por qualquer antibiótico do grupo dos β-lactâmicos (NCCLS, 2002). A resposta foi positiva provavelmente pelo componente tópico: peróxido de benzoílo 2% (champô). O peróxido de benzoílo tem uma acção antibacteriana excelente que advém em grande parte da redução do pH da pele, o que destrói as células

Tabela 24. Resultados do antibiograma e do teste de microdiluição do canídeo “Toch”.

Antibiótico	Antibiograma	CIM	Interpretação combinada*	Antibiótico	Antibiograma	CIM	Interpretação combinada*
P	R	R	R	ENR	R	-	R
AMC	R	R	R	MAR	R	-	R
AMP	R	R	R	LEV	-	R	R
OX	R	R	R	MXF	-	R	R
KF	R	-	R	GAT	-	R	R
FOX	S	-	S	SXT	R	R	R
CXM	R	-	R	DA	R	R	R
CTX	R	R	R	VA	S	S	S
CN	R	R	R	FD	S	S	S
AK	S	-	S	MUP	-	S	S
TOB	S	-	S	TEI	-	S	S
NET	S	S	S	SYN	-	S	S
C	R	R	R	LZD	-	S	S
TE	R	R	R	AZI	-	R	R
CIP	R	R	R				

Legenda: P, penicilina G; AMP, ampicilina; AMC, amoxicilina-ácido clavulânico; OX, oxacilina; KF, cefalotina; FOX, cefoxitina; CXM, cefuroxima; CTX, cefotaxima; CN, gentamicina; AK, amicacina; TOB, tobramicina; NET, netilmicina C, cloranfenicol; TE, tetraciclina; CIP, ciprofloxacina; ENR, enrofloxacina; MAR, marbofloxacina; LEV, levofloxacina; MXF – Moxifloxacina; GAT – Gatifloxacina; SXT, trimetoprim-sulfametoxazol; DA, clindamicina; VA, vancomicina; FD, ácido fusídico; MUP – mupirocina; TEI – teicoplanina; SYN – quinopristina-dalfopristina; LZD – linezolide; AZI – azitromicina; R, resistente; S, susceptível; CIM, concentração inibitória mínima.

* Em caso de resultados discordantes os valores de CIMs foram tidos como *gold standard*.

microbianas; além disso este composto é um agente oxidante, que liberta oxigénio na pele e produz uma série de reacções químicas que resultam em alterações de permeabilidade e na ruptura das células bacterianas (Carlotti; Hnilica; Horvath & Neuber, 2007). Por outro lado, os banhos com este composto ajudam a remover mecanicamente os microrganismos, o que contribui para a eficácia do tratamento tópico (Hnilica).

Como se salientou em II – 5.2, uma das medidas descritas nas linhas de orientação da BSAVA para o MRSA na terapêutica de animais colonizados é a utilização de champôs antibacterianos

e parece lógico que esta medida tenha o mesmo efeito sobre outros estafilococos MR (BSAVA-Scientific-Committee, 2007).

Apesar da eficácia do tratamento tópico neste caso convém não esquecer que os estafilococos meticilina-resistentes por serem comumente multiresistentes (NCCLS, 2002; Morris *et al.*, 2006; Griffeth *et al.*, 2008), podem ser potencialmente mais difíceis de tratar já que as opções terapêuticas ficam por vezes muito limitadas.

Como se pode ver na tabela 24 a estirpe era susceptível à amicacina, tobramicina, netilmicina, ácido fusídico e mupirocina, por isso estes antibióticos poderiam ter sido opções terapêuticas. Apesar da susceptibilidade da estirpe à vancomicina este antibiótico não está aprovado para uso em medicina veterinária mas é usado em medicina humana para o tratamento de infecções por MRSA. O mesmo se aplica para a teicoplanina, quinopristina-dalfopristina e ao linezolide, além destes antibióticos só terem sido testados *a posteriori*.

Relativamente aos aminoglicosídeos é de lembrar que estes antibióticos devem ser reservados para agentes patogénicos em que não existem outras opções terapêuticas e que o seu uso no tratamento das piодermites é limitado, devido à necessidade de administração parenteral e porque estes antibióticos estão associados a nefrotoxicidade e ototoxicidade se usados de forma prolongada (DeBoer, 2006; May, 2006).

O ácido fusídico e a mupirocina estão disponíveis em preparações tópicas (cremes e géis) e como tal o seu uso é limitado a pequenas áreas infectadas. Os antibióticos tópicos são úteis no tratamento das piодermites superficiais porque conseguem atingir altas concentrações de forma local. Os dois antibióticos têm um espectro de acção estreito e a frequência de resistência nos estafilococos é considerada baixa (Werner & Russel, 1999; Horvath & Neuber, 2007).

Como já foi mencionado o *S. intermedius* é o agente patogénico mais frequentemente isolado na piодermite canina. Mas os ECNs, nomeadamente o *S. simulans*, têm também sido associados a infecção cutânea e otites no cão (Medleau *et al.*, 1986; Lilenbaum *et al.*, 2000).

O caso descrito difere de dados anteriores quanto à existência de resistência à meticilina em *S. simulans* isolados de cães (Lilenbaum *et al.*, 2000; Kania *et al.*, 2004). Contudo, a resistência à meticilina nesta espécie bacteriana foi anteriormente descrita em isolados de gatos saudáveis (Lilenbaum *et al.*, 1998) e no homem (Weller, 1999).

Ao contrário do que foi descrito para o *S. aureus* e *S. intermedius*, não foram documentados até à data casos de transmissão de *S. simulans* entre o homem e o cão. Mas, tendo em conta que esta bactéria é capaz de causar infecções em ambas as espécies, o seu potencial zoonótico não deve ser esquecido. A existência desta estirpe de *S. simulans* no dono do animal não foi averiguada, contudo o facto de a estirpe de *S. simulans* isolada do “Toch” ser portadora do

gene *mecA* representa um risco particular devido à importância da resistência à meticilina em medicina humana.

Este é o primeiro caso descrito de infecção cutânea por *S. simulans* meticilina resistente num cão com dermatite atópica em Portugal. Uma vez que a epidemiologia da resistência à meticilina em medicina veterinária é uma preocupação mundial pelo seu potencial zoonótico, este caso vem alertar para a importância da inclusão dos ECNs nessa vigilância, em consonância com o que tem sido sugerido por outros autores (Kania *et al.*, 2004).

V. Bibliografia

- Authier, S., Paquette, D., Labrecque, O. & Messier, S. (2006). Comparison of susceptibility to antimicrobials of bacterial isolates from companion animals in a veterinary diagnostic laboratory in Canada between 2 time points 10 years apart. *Can Vet J*, 47, 774-778.
- Bannoehr, J., Zakour, N. L. B., Waller, A. S., Guardabassi, L., Thoday, K. L., Broek, A. H. M. v. d. & Fitzgerald, J. R. (2007). Population genetic structure of the *Staphylococcus intermedius* group: insights into agr diversification and the emergence of methicillin-resistant strains. *Journal of Bacteriology*, 189(23), 8685–8692.
- Baker, B. S. (2006). The role of microorganisms in atopic dermatitis. *Clinical and Experimental Immunology*, 144, 1-9.
- Barberis, I. L., Pájaro, M. C., Godino, S. D., Pascual, L. & Daniele, M. D. (2001). Antimicrobial sensitivity and adherence study in strains of coagulase-negative *Staphylococcus* spp. *Revista latinoamericana de microbiología*, 43(3), 109 -113.
- Bemis, D. A., Jones, R. D., Hiatt, L. E., Ofori, E. D., Rohrbach, B. W., Frank, L. A. & Kania, S. A. (2006). Comparison of tests to detect oxacillin resistance in *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus schleiferi*, and *Staphylococcus aureus* isolates from canine hosts. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(9), 3374–3376.
- Bensignor, E. (2003). An approach to otitis externa and otitis media. In A. Foster & C. Foil (Eds.), *BSAVA manual of small animal dermatology*, (2nd ed). (104-111). Gloucester, UK: British small animal veterinary association.
- Bensignor, E. & Legeay, D. (2000). A multicentre prospective study of otitis externa in France: 802 cases. *Veterinary Dermatology*, 11 (Suppl.1), 22.
- Boerlin, P., Burnens, A. P., Frey, J., Kuhnert, P. & Nicolet, J. (2001). Molecular epidemiology and genetic linkage of macrolide and aminoglycoside resistance in *Staphylococcus intermedius* of canine origin. *Veterinary Microbiology*, 79 (2001), 155-169.
- Boost, M. V., O'Donoghue, M. M. & Siu, K. H. G. (2007). Characterisation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from dogs and their owners. *Clinical Microbiology and Infection*, 13(7), 731-733.
- BSAVA-Scientific-Committee, Nuttall, T., Cookson, B. & Ridgeway, G. (2007). MRSA – Practice Guidelines. Acedido em Maio 12, 2008, disponível em: <http://www.bsava.com/>.
- Carlotti, D. N. The art of shampoos in veterinary dermatology: treatment and prevention strategies. Acedido em Maio 15, 2008, disponível em: <http://www.vetcontact.com/presentations/carlotti1/abstracts/carlotti.pdf>.

- Cavallo, J. D., Chardon, H., Chidiac, C., Choutet, P., Courvalin, P., Dabernat, H., Drugeon, H., Dubreuil, L., F. Goldstein, Guery, B., Jarlier, V., Lambert, T., Leclercq, R., M.H. Nicolas-Chanoine, Quentin, C., Rouveix, B., Soussy, C. J. & Varon., E. (2007). Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie – recommandations 2007. Société Française de Microbiologie.
- Chen, T.-A., Halliwell, R. E. W., Pemberton, A. D. & Hill, P. B. (2002). Identification of major allergens of *Malassezia pachydermatis* in dogs with atopic dermatitis and *Malassezia* overgrowth. *Veterinary Dermatology*, 13, 141–150.
- Chen, T.-A. & Hill, P. B. (2005). The biology of *Malassezia* organisms and their ability to induce immune responses and skin disease. *Veterinary Dermatology*, 16, 4–26.
- CLSI (2006). M100-S16 - Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement. CLSI.
- Colombo, S., Hill, P. B., Shaw, D. J. & Thoday, K. L. (2007). Requirement for additional treatment for dogs with atopic dermatitis undergoing allergen-specific immunotherapy. *The Veterinary Record*, 160(25), 861-864.
- Correia, J. H. D., Baptista, B. C., Costa, M. T. & Pomba, M. C. (2003). Infecção bacteriana da pele. *Comunicações científicas do 12º Congresso Nacional APMVEAC: Estoril, Portugal, 22-25 de Maio*, (23-25). Estoril, Portugal.
- DeBoer, D. J. (2006). Canine staphylococcal pyoderma. *US companion animal health*, 26-28.
- DeBoer, D. J. & Griffin, C. E. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXI):antihistamine pharmacotherapy. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81(2001), 323-329.
- DeBoer, D. J. & Hillier, A. (2001a). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XV): fundamental concepts in clinical diagnosis. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81(2001), 271-276.
- DeBoer, D. J. & Hillier, A. (2001b). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVI): laboratory evaluation of dogs with atopic dermatitis with serum-based "allergy" tests. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81(2001), 277-287.
- DeBoer, D. J. & Marsella, R. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XII):the relationship of cutaneous infections to the pathogenesis and clinical course of canine atopic dermatitis. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81(2001), 239-249.
- Delgado, M., M.Costa, Baptista, B., Correia, J. H. D. & Pomba, C. (2006). Occurrence and antimicrobial susceptibility patterns of small animal pathogens isolated from skin and ear infections in Portugal (2001-05). *Selected abstracts from the 21st ESVD conference: Lisbon, Portugal 7-9 September 2006*, [17], (353). Lisbon, Portugal Blackwell.

- Duijkeren, E. v., Boxb, A. T. A., Heckc, M. E. O. C., Wannetc, W. J. B. & Fluit, A. C. (2004). Methicillin-resistant staphylococci isolated from animals. *Veterinary Microbiology*, 103(2004), 91-97.
- Duijkeren, E. v., Ikawaty, R. & Wagenaar, J. A. (2008). Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus intermedius* between humans and animals. *Veterinary Microbiology*, 128 213–215.
- Duijkeren, E. v., Wolfhagen, M. J. H. M., Heck, M. E. O. C. & Wannet, W. J. B. (2005). Transmission of a panton-valentine leucocidin-positive, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain between humans and a dog. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(12), 6209-6211.
- Duquette, R. A. & Nuttall, T. J. (2004). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dogs and cats: an emerging problem? *Journal of Small Animal Practice*, 45, 591-597.
- Frank, L. A., Kania, S. A., Hnilica, K. A., Wilkes, R. P. & Bemis, D. A. (2003). Isolation of *Staphylococcus schleiferi* from dogs with pyoderma. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 222(4), 451-454.
- Frank, L. A., Williamson, N. L., Wilkes, R. P., Kania, S. A., Hnilica, K. A. & Bemis, D. A. (2002). The association of *Staphylococcus schleiferi* with canine pyoderma. In K. Moriello (Eds.) *Abstracts from the American Academy of Veterinary Dermatology and American College of Veterinary Dermatology annual meeting. New Orleans, LA, 10–14 April 2002*, [13], (217). Blackwell.
- Futagawa-Saito, K., Ba-Thein, W. & Fukuyasu, T. (2007). High occurrence of multi-antimicrobial resistance in *Staphylococcus intermedius* isolates from healthy and diseased dogs and domesticated pigeons. *Research in Veterinary Science*, 83(2007), 336-339.
- Ganière, J. P., Médaille, C., Limet, A., Ruvoen, N. & André-Fontaine, G. (2001). Antimicrobial activity of enrofloxacin against *Staphylococcus intermedius* strains isolated from canine pyodermas. *Veterinary Dermatology*, 12, 171-175.
- Ganière, J. P., Medaille, C. & Mangion, C. (2005). Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus intermedius* clinical isolates from canine pyoderma. *Journal of veterinary medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health*, 52(1), 25-31.
- Germain, P. A., Prelaud, P. & Bensignor, E. (2005). CADESI (Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index) reproducibility. *Revue Méd. Vét.*, 156(7), 382-385.
- Griffeth, G. C., Morris, D. O., Abraham, J. L., Shofer, F. S. & Rankin, S. C. (2008). Screening for skin carriage of methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* in dogs with healthy and inflamed skin. *Veterinary Dermatology*, 19(3), 142-9.

- Griffin, C. (2006). New approaches to the treatment of canine atopy. *31st World Small Animal Veterinary Congress: Prague, Czech Republic, October 11-14 2006*, Prague, Czech Republic: WSAVA/FECAVA/CSAVA.
- Griffin, C. E. & DeBoer, D. J. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81, 255-269.
- Griffin, C. E. & Hillier, A. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIV): allergen-specific immunotherapy. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81(2001), 363-383.
- Grobbel, M., Lübke-Becker, A., Alesík, E., Schwarz, S., Wallmann, J., Werckenthin, C. & Wieler, L. H. (2007). Antimicrobial susceptibility of *Klebsiella* spp. and *Proteus* spp. from various organ systems of horses, dogs and cats as determined in the BfT-GermVet monitoring program 2004-2006. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 120(9-10), 402-11.
- Guardabassi, L., Loeber, M. E. & Jacobson, A. (2004a). Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. *Veterinary Microbiology*, 98, 23–27.
- Guardabassi, L., Schwarz, S. & Lloyd, D. H. (2004b). Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54, 321–332.
- Hall, J. A., Dick, H., Waisglass, S. E. & Lam, A. T. H. (2005). Minimum inhibitory concentrations in the selection of appropriate oral fluoroquinolones for the treatment of *Pseudomonas* otitis externa in dogs. *Joint meeting of the American College of Veterinary Dermatology and the American Academy of Veterinary Dermatology. Florida, USA, 6–10 April 2005*, [16], (199). *Veterinary Dermatology*.
- Halliwell, R. (2006). Revised nomenclature for veterinary allergy. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 114 (2006), 207–208.
- Hariharan, H., Coles, M., Poole, D., Lund, L. & Page, R. (2006). Update on antimicrobial susceptibilities of bacterial isolates from canine and feline otitis externa. *Can Vet J*, 47, 253-255.
- Hartmann, F. A., White, D. G., West, S. E. H., Walker, R. D. & DeBoer, D. J. (2005). Molecular characterization of *Staphylococcus intermedius* carriage by healthy dogs and comparison of antimicrobial susceptibility patterns to isolates from dogs with pyoderma. *Veterinary Microbiology*, 108, 119–131.
- Harvey, R. G. & Hunter, P. A. (1999). The properties and use of penicillins in the veterinary field, with special reference to skin infections in dogs and cats. *Veterinary Dermatology*, 10, 177-186.

- Harvey, R. G., Marples, R. R. & Noble, W. C. (1994). Nasal carriage of *Staphylococcus intermedius* in humans in contact with dogs. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 7, 225-227.
- Hauschild, T. & Wójcik, A. (2007). Species distribution and properties of staphylococci from canine dermatitis. *Research in veterinary science*, 82(2007), 1-6.
- Hendricks, A., Schuberth, H.-J., Schueler, K. & Lloyd, D. H. (2002). Frequency of superantigen-producing *Staphylococcus intermedius* isolates from canine pyoderma and proliferation-inducing potential of superantigens in dogs. *Research in veterinary science*, 73, 273-277.
- Hillier, A., Alcorn, J. R., Cole, L. K. & Kowalski, J. J. (2006). Pyoderma caused by *Pseudomonas aeruginosa* infection in dogs: 20 cases. *Veterinary Dermatology*, 17, 432-439.
- Hillier, A. & Deboer, D. J. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVII): intradermal testing. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81(2001), 289-304.
- Hillier, A. & Griffin, C. E. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I): incidence and prevalence. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81(2001), 147-151.
- Hnilica, K. A. Staphylococcus pyoderma: an emerging crisis. Acedido a Abril 8, 2008, disponível em: www.utskinvet.org/pdf/staphylococcus_an_emerging_crisis.pdf.
- Horvath, C. & Neuber, A. (2007). Management of canine pyoderma. *UK Vet*, 12(1), 1-7.
- Ihrke, P. J., Papich, M. G. & Demanuelle, T. C. (1999). The use of fluoroquinolones in veterinary dermatology. *Veterinary Dermatology*, 10, 193-204.
- Intorre, L., Vanni, M., Bello, D. D., Pretti, C., Meucci, V., Tognetti, R., Soldani, G., Cardini, G. & Jousson, O. (2007). Antimicrobial susceptibility and mechanism of resistance to fluoroquinolones in *Staphylococcus intermedius* and *Staphylococcus schleiferi*. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 30(5), 464-469.
- Jarlier, V., Nicolas, M. H., Fournier, G. & Philippon, A. (1988). Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Reviews of infectious diseases*, 10(4), 867-878.
- Jones, R. D., Kania, S. A., Rohrbach, B. W., Frank, L. A. & Bemis, D. A. (2007). Prevalence of oxacillin- and multidrug-resistant staphylococci in clinical samples from dogs: 1,772 samples (2001-2005). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 230(2), 221-7.
- Kania, S. A., Williamson, N. L., Frank, L. A., Wilkes, R. P., Jones, R. D. & Bemis, D. A. (2004). Methicillin resistance of staphylococci isolated from the skin of dogs with pyoderma. *American Journal of Veterinary Research*, 65(9), 1265-1268.

- Kim, T., Na, Y. & Lee, J. (2005). Investigations into the basis of chloramphenicol and tetracycline resistance in *Staphylococcus intermedius* isolates from cases of pyoderma in dogs. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, 52(3), 119-124.
- Koksal, F., Yasar, H. & Samasti, M. (2007). Antibiotic resistance patterns of coagulase negative staphylococcus strains isolated from blood cultures of septicemic patients in Turkey. Acedido em Maio 12, 2008, disponível em: www.sciencedirect.com.
- Leonard, F. C. & Markey, B. K. (2008). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals: a review. *The Veterinary Journal*, 175(2008), 27–36.
- Lilenbaum, W., Veras, M., Blum, E. & Souza, G. N. (2000). Antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from otitis externa in dogs. *Letters in Applied Microbiology*, 31, 42 - 45.
- Littlewood, J. D. (2003). Investigative and laboratory techniques. In A. Foster & C. Foil (Eds.), *BSAVA manual of small animal dermatology*, (2nd ed). (20-30). Gloucester, UK: British small animal veterinary association.
- Lloyd, D. H., Lamport, A. I., Noble, W. C. & Howell, S. A. (1999). Fluoroquinolone resistance in *Staphylococcus intermedius*. *Veterinary Dermatology*, 10, 249-251.
- Loeffler, A., Boag, A. K., Sung, J., Lindsay, J. A., Guardabassi, L., Dalsgaard, A., Smith, H., Stevens, K. B. & Lloyd, D. H. (2005). Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56, 692-697.
- Loeffler, A., Linek, M., Moodley, A., Guardabassi, L., Sung, J. M. L., Winkler, M., Weiss, R. & Lloyd, D. H. (2007). First report of multiresistant, *mecA*-positive *Staphylococcus intermedius* in Europe: 12 cases from a veterinary dermatology referral clinic in Germany. *Veterinary Dermatology*, 18(6), 412–421.
- Lourenço, A. M., Peleteiro, M. C. & Correia, J. H. D. (2005). Relevance of intradermal reactivity towards *Malassezia pachydermatis* in 40 atopic dogs from Lisbon, Portugal [póster]. *Selected communications from the 20st ESVD-ECDV conference: Chalkidiki, Greece 8-10 September 2005*.
- Lyskova, P., Vydrzalova, M. & Mazurova, J. (2007). Identification and antimicrobial susceptibility of bacteria and yeasts isolated from healthy dogs and dogs with otitis externa. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 54(10), 559-63.
- Malik, S., Peng, H. & Barton, M. D. (2005). Antibiotic resistance in staphylococci associated with cats and dogs. *Journal of applied microbiology*, 99, 1283–1293.
- Marsella, R. (2005). Calcineurin inhibitors: a novel approach to canine atopic dermatitis. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 41, 92-97.

- Marsella, R. (2006). Atopy: new targets and new therapies. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 36(1), 161-174.
- Marsella, R., Nicklin, C. & Lopez, J. (2006). Studies on the role of the various routes of allergen exposure in atopic dermatitis using a colony of high IgE producing Beagle dogs sensitized to house dust mites. *Veterinary Dermatology*, 17(5), 306-312.
- Marsella, R. & Olivry, T. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXII): nonsteroidal anti-inflammatory pharmacotherapy. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81(2001), 331-345.
- Marsella, R. & Olivry, T. (2003). Animal Models of Atopic Dermatitis. *Clinics in Dermatology*, 21, 122–133.
- Marsella, R. & Sousa, C. A. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIII): threshold phenomenon and summation of effects. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81(2001), 251-253.
- Mason, I. S. & Kietzmann, M. (1999). Cephalosporins – pharmacological basis of clinical use in veterinary dermatology. *Veterinary Dermatology*, 10, 187-192.
- May, E. R. (2006). Bacterial skin diseases: current thoughts on pathogenesis and management. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 36(1), 185-202.
- May, E. R., Hnilica, K. A., Frank, L. A., Jones, R. D. & Bemis, D. A. (2004). Evaluation of the frequency and significance of *Staphylococcus schleiferi* in canine ear disease. *Abstracts from the American Academy of Veterinary Dermatology and the American College of Veterinary Dermatology annual meeting: Kansas City, MO, 21–25 April 2004*, [15], (201). Blackwell.
- McEwan, N. A., Mellor, D. & Kalna, G. (2006). Adherence by *Staphylococcus intermedius* to canine corneocytes: a preliminary study comparing noninflamed and inflamed atopic canine skin. *Veterinary Dermatology*, 17, 151-154.
- Medleau, L., Long, R. E., Brown, J. & Miller, W. H. (1986). Frequency and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* species isolated from canine pyodermas. *American Journal of Veterinary Research*, 47(2), 229-31.
- Meunier, D., Acar, J.-F., Martel, J.-L., Kroemer, S. & Valle, M. (2004). A seven-year survey of susceptibility to marbofloxacin of pathogenic strains isolated from pets. *International journal of antimicrobial agents*, 24(2004), 592-598.
- Morris, D. O. & DeBoer, D. J. (2003). Evaluation of serum obtained from atopic dogs with dermatitis attributable to *Malassezia pachydermatis* for passive transfer of immediate hypersensitivity to that organism. *American Journal of Veterinary Research*, 64, 262–266.

- Morris, D. O., Olivier, N. B. & Rosser, E. J. (1998). Type-1 hypersensitivity reactions to *Malassezia pachydermatis* extracts in atopic dogs. . *American Journal of Veterinary Research*, 59, 836–41.
- Morris, D. O., Rook, K. A., Shofer, F. S. & Rankin, S. C. (2006). Screening of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, and *Staphylococcus schleiferi* isolates obtained from small companion animals for antimicrobial resistance: a retrospective review of 749 isolates (2003–04). *Veterinary Dermatology*, 17(5), 332–337.
- Mueller, R. S. & Jackson, H. (2003). Atopy and adverse food reaction. In A. Foster & C. Foil (Eds.), *BSAVA manual of small animal dermatology*, (2nd ed). (125-136). Gloucester, UK: British small animal veterinary association.
- NCCLS (2002). Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard - second ed., NCCLS document M31-A2. NCCLS.
- Noli, C. (2003). Staphylococcal pyoderma. In A. Foster & C. Foil (Eds.) *BSAVA manual of small animal dermatology*, (2nd ed). (159-168). Gloucester, UK: British small animal veterinary association.
- Nuttall, T. (2003). *Malassezia* dermatitis. In A. Foster & C. Foil (Eds.) *BSAVA manual of small animal dermatology*, (2nd ed). (175-180). Gloucester, UK: British small animal veterinary association.
- Nuttall, T. J. & Halliwell, R. E. W. (2001). Serum antibodies to *Malassezia* yeasts in canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 12, 327–332.
- Olivry, T., DeBoer, D. J., Griffin, C. E., Halliwell, R. E. W., Hillier, A., Marsella, R. & Sousa, C. A. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis: forewords and lexicon. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81(2001), 143–146.
- Olivry, T., Dunston, S. M., Pluchino, K., Porter, K. & Hammerberg, B. (2008). Lack of detection of circulating skin-specific IgE autoantibodies in dogs with moderate or severe atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 122(2008), 182-187.
- Olivry, T., Marsella, R., Iwasaki, T. & Mueller, R. (2006). Validation of CADESI-03, a severity scale for clinical trials enrolling dogs with atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 18, 78-86
- Olivry, T. & Mueller, R. S. (2003). Evidence-based veterinary dermatology: a systematic review of the pharmacotherapy of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 14, 121-146.

- Olivry, T. & Sousa, C. A. (2001a). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIX): general principles of therapy. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81(2001), 311-316.
- Olivry, T. & Sousa, C. A. (2001b). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XX): glucocorticoid pharmacotherapy. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81(2001), 317-322.
- Pascal, S., Henri, D., Henri, D., Eric, J., Marylène, K., Michel, L., Arlette, L., Roland, L., Danièle, M., Hervé, M., Sophie, P.-L., Alain, P. & Pierre-Louis, T. (2007). Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie; Groupe de travail: antibiogramme vétérinaire - recommandations 2007. Société Française de Microbiologie.
- Pedersen, K., Pedersen, K., Jensen, H., Finster, K., Jensen, V. F. & Heuer, O. E. (2007). Occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from diagnostic samples from dogs. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60(4), 775-781.
- Pellerin, J. L., Bourdeau, P., Sebbag, H. & Person, J. M. (1998). Epidemiosurveillance of antimicrobial compound resistance of *Staphylococcus intermedius* clinical isolates from canine pyodermas. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 21, 115-133.
- Petersen, A. D., Walker, R. D., Bowman, M. M., Schott, H. C. & Rosser, E. J. (2002). Frequency of isolation and antimicrobial susceptibility patterns of *Staphylococcus intermedius* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates from canine skin and ear samples over a 6-year period (1992–1997). *Journal of the American Animal Hospital Association* 38, 407-413.
- Picco, F., Zini, E., Nett, C., Naegeli, C., Bigler, B., Rüfenacht, S., Roosje, P., Gutzwiller, M. E. R., Wilhelm, S., Pfister, J., Meng, E. & Favrot, C. (2008). A prospective study on canine atopic dermatitis and food-induced allergic dermatitis in Switzerland. *Veterinary Dermatology*, 19(3), 150-155.
- Pomba, C., Couto, I., Costa, M., Vilela, C. L., H. de Lencastre & Correia, J. H. D. (2006). Surveillance of methicillin-resistant staphylococci among small animal isolates from otitis externa in Portugal. *Clinical microbiology and infection*, 12(Supplement 4), 19.
- Prélaud, P. (2005). Dermatite atopique canine. *EMC-Vétérinaire*, 2(2005), 14–29.
- Prélaud, P., Guagére, E., Alhaidari, Z., Faive, N., Heripret, D. & Gayerie, A. (1998). Reevaluation of diagnostic criteria on canine atopic of canine atopic dermatitis. *Rev. Med. Vet.*, 149, 1057-1064.
- Réme, C.-A. (2007). Introduction to cortavance: a topical diester glucocorticoid developed for veterinary dermatology. *Advances in topical glucocorticoid therapy - Virbac international dermsymposium: Nice, France, 11th May 2007*, (15-28). Virbac.

- Rosser, E. J. J. (2004). Causes of otitis externa. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 34(2), 459-468.
- Saridomichelakis, M. N., Farmaki, R., Leontides, L. S. & Koutinas, A. F. (2007). Aetiology of canine otitis externa: a retrospective study of 100 cases. *Veterinary Dermatology*, 18, 341–347.
- Saridomichelakis, M. N., Koutinas, A. F., Gioulekas, D. & Leontidis, L. (1999). Canine atopic dermatitis in Greece: clinical observations and the prevalence of positive intradermal test reactions in 91 spontaneous cases. *Veterinary immunology and immunopathology*, 69, 61-73.
- Sasaki, T., Kikuchi, K., Tanaka, Y., Takahashi, N., Kamata, S. & Hiramatsu, K. (2007). Reclassification of phenotypically identified *Staphylococcus intermedius* strains. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(9), 2770–2778.
- Scott, D. W. (2001a). Bacterial skin diseases. In D. W. Scott, W. H. Miller & C. E. Griffin (Eds.) *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*, (6th ed.). (274-335). Philadelphia: W.B. Saunders.
- Scott, D. W. (2001b). Diseases of eyelids, claws, anal sacs, and ears. In D. W. Scott, W. H. Miller & C. E. Griffin (Eds.) *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*, (6th ed.). (1185–235). Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Scott, D. W., Miller, W. H. & Griffin, C. E. (2001). Skin immune system and allergic skin diseases. In D. W. Scott, W. H. Miller & C. E. Griffin (Eds.) *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*, (6th ed.). (574-601). Philadelphia: W.B. Saunders.
- Šeol, B., Naglič, T., Madić, J. & Bedekovic, M. (2002). In vitro antimicrobial susceptibility of 183 *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from dogs to selected antipseudomonal agents. *journal of veterinary medicine*, 49, 188–192.
- Simou, C., Thoday, K. L., Forsythe, P. J. & Hill, P. B. (2005). Adherence of *Staphylococcus intermedius* to corneocytes of healthy and atopic dogs: effect of pyoderma, pruritus score, treatment and gender. *Veterinary Dermatology*, 16, 385–391.
- Sousa, C. A. & Halliwell, R. E. W. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XI): the relationship between hypersensitivity and atopic dermatitis in the dog. *Veterinary immunology and immunopathology*, 2001(81), 233-237.
- Stedman, K., Lee, K., Hunter, S., Rivoire, B., McCall, C. & Wassom, D. (2001). Measurement of canine IgE using the alpha chain of the human high affinity IgE receptor. *Veterinary immunology and immunopathology*, 78, 349-355.
- Strommenger, B., Kehrenberg, C., Kettlitz, C., Cuny, C., Verspohl, J., Witte, W. & Schwarz, S. (2006). Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains

- from pet animals and their relationship to human isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57(3), 461-465.
- Turkyilmaz, S. (2008). Antibiotic susceptibility patterns of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from dogs with otitis externa. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 32(1), 37-42.
- Ubukata, K., Nonoguchi, R., Song, M. D., Matsushashi, M. & Konno, M. (1990). Homology of *mecA* gene in methicillin-resistant *Staphylococcus haemolyticus* and *Staphylococcus simulans* to that of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 34(1), 170-172.
- Vanni, M., Intorre, L., Cardini, G., Pasquini, A., Tognetti, R. & Soldani, G. (2006). In vitro antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus intermedius*. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 29(Suppl 1), 84-85.
- Weese, J. S., Dick, H., Willey, B. M., McGeer, A., Kreiswirth, B. N., Innis, B. & Low, D. E. (2006). Suspected transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and in the household. *Veterinary Microbiology*, 115 (2006), 148-155.
- Weller, T. M. A. (1999). The distribution of *mecA*, *mecR1* and *mecI* and sequence analysis of *mecI* and the *mec* promoter region in staphylococci expressing resistance to methicillin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 43, 15-22
- Werner, A. H. & Russel, A. D. (1999). Mupirocin, fusidic acid and bacitracin: activity, action and clinical uses of three topical antibiotics. *Veterinary Dermatology*, 10, 225-240.
- Wildermuth, B. E., Griffin, C. E., Rosenkrantz, W. S. & Boord, M. J. (2007). Susceptibility of *Pseudomonas* isolates from the ears and skin of dogs to enrofloxacin, marbofloxacin, and ciprofloxacin. *Journal of the American Animal Hospital Association* 43(6), 337-41.
- Willemse, T. (1986). Atopic skin disease: a review and reconsideration of diagnostic criteria. *Journal of Small Animal Practice*, 27, 771-778.
- Willemse, T. (1988). Atopic dermatitis in the dog: new diagnostic criteria. *Tijdschr. Diergeneesk.*, 133, 74-79.
- Zur, G., Ihrke, P. J., White, S. D. & Kass, P. H. (2002). Canine atopic dermatitis: a retrospective study of 266 cases examined at the University of California, Davis, 1992-1998. Part I. Clinical features and allergy testing results. *Veterinary Dermatology*, 13, 89-102.

Identificação da sensibilização de 50 cães atópicos da área de Lisboa

Teixeira, J; Vieira, D; Lourenço, A.M.



CISA, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, Portugal

Resumo

A dermatite atópica canina (DAC) é uma patologia inflamatória crónica da pele, causada por uma hipersensibilidade do tipo I face a alergénios ambientais, muito pruriginosa, com uma prevalência estimada em cerca de 10% (1). A maior parte dos animais apresentam sinais nos primeiros três anos de vida e são raros os casos que não se agudizam com o passar do tempo. O tratamento etiológico da DAC implica o conhecimento das sensibilizações dos pacientes e baseia-se na evicção alergénica e/ou imunoterapia específica. Esta última apresenta o potencial de provocar uma melhoria da sintomatologia e alterar a evolução natural da doença, reduzindo o risco de sensibilizações posteriores. A importância relativa dos vários alergénios varia de acordo com as regiões geográficas. Neste estudo pretendemos conhecer quais os alergénios epidemiologicamente mais relevantes na região de Lisboa para o cão atópico, através de uma técnica serológica que utiliza a cadeia do receptor FCεRI dos mastócitos para determinar a IgE específica. Esta técnica é inovadora sendo desenvolvida pelos laboratórios Heska®. Verificou-se que a maioria dos cães atópicos se sensibilizaram aos ácaros domésticos e de armazenamento. A sensibilização a fungos e pólenes parece ser reduzida na população em estudo.

Introdução

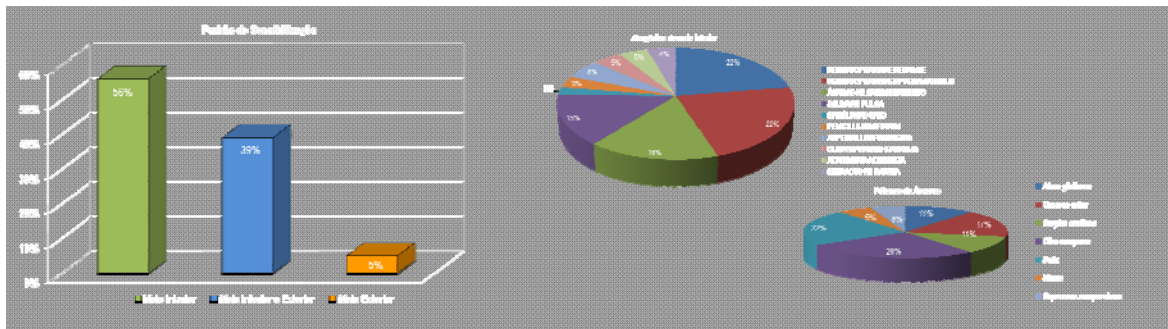
Verificou-se nos últimos anos um aumento na incidência das doenças atópicas em humanos principalmente nos países desenvolvidos (2). O ambiente interno, ou seja, das habitações e espaços fechados tem sido apontado como uma das causas determinantes para este aumento (3). A incidência da DAC parece estar a aumentar, paralelamente ao que acontece em Medicina Humana. Este facto não é surpreendente se tivermos em conta que ambos coabitam no mesmo ambiente. A importância relativa dos diferentes alergénios varia de acordo com a região geográfica, tornando-se assim essencial identificar quais os mais prevalentes em cada área. O objectivo do presente trabalho consiste em estudar a sensibilização de pacientes atópicos na área de Lisboa, recorrendo a uma técnica serológica desenvolvida pelos laboratórios Heska® que utiliza a cadeia do receptor FCεRI dos mastócitos para determinar a IgE específica. Inicialmente efectuou-se a caracterização da população em estudo e posteriormente foram efectuados os testes serológicos.

Materiais e métodos

Seleção dos cães atópicos: com base nos critérios de Willemsse e após exclusão de outras doenças causadoras de prurido, foi feito o diagnóstico clínico de dermatite atópica em 50 cães na consulta de referência de dermatologia no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária. Para excluir a existência de Alergia Alimentar todos os cães que possuíam prurido não sazonal fizeram uma ração hiperalérgica durante oito semanas. Foram respeitados tempos de privação farmacológica em relação aos antihistamínicos e corticosteróides. Realização de provas serológicas (Screening, Allercept e Allercept indoor): o Screening constitui a primeira etapa a realizar consistindo na determinação de sensibilização do paciente face a um grupo de alergénios referentes ao meio interior (10 extractos de alergénios) e exterior (19 extractos de alergénios). O Allercept consta na identificação discriminada dos alergénios que se encontram nas duas baterias (meio interior e meio exterior), no entanto se o Screening for positivo apenas para alergénios do meio interior utiliza-se o Allercept indoor. Estes testes utilizam uma técnica desenvolvida pela Heska® em que a cadeia do receptor FCεRI dos mastócitos é usada para determinar a IgE específica e desta forma é detectada apenas IgE alergénio-específica. A identificação da IgE é feita através de ELISA.

Resultados

Em relação à população de cães em estudo observou-se que a maior prevalência foi de cães de raça indeterminada seguida do Cocker Spaniel, Labrador e Golden Retriever. Cerca de 16% dos cães apresentaram um resultado negativo ao teste Screening. No gráfico 1 observamos que cerca de 39% dos cães apresentam uma sensibilização tanto para o meio interior como para o exterior; 5% dos animais possuem hipersensibilidade somente aos alergénios do meio exterior; e finalmente, 95% (56%+39%) dos animais com Screening positivo possuem sensibilidade aos alergénios do meio interior. Relativamente aos alergénios do meio interior (gráfico 2) verifica-se que os que possuem maior prevalência são o *Dermatophagoides farinae* e o *Dermatophagoides pteronyssinus* com cerca de 44%, sendo que os ácaros de armazenamento também apresentam uma sensibilização elevada (16%). Os alergénios de fungos (*Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium herbarum*, *Alternaria alternata* e *Penicillium notatum*) apresentam prevalências reduzidas. No que respeita aos alergénios do meio exterior foram testados pólenes de gramíneas, árvores e ervas daninhas. Avaliaram-se cinco tipos de pólenes de gramíneas (*Phleum pratense*, *Dactylis glomerata*, *Lolium perenne*, *Poa pratensis* e *Cynodon dactylon*) e observou-se que os alergénios com maior prevalência correspondem a Grama comum (*Cynodon dactylon*) e *Poa* comum (*Poa pratensis*), não existindo no entanto uma sensibilização significativamente maior a nenhuma gramínea em particular. Das sete espécies de ervas daninhas testadas (*Artemisia vulgaris*, *Urtica dioica*, *Rumex acetos*, *Plantago lanceolata*, *Chenopodium album*, *Parietaria sp.*, *Ambrosia*) a Azeda-miúda (*Rumex acetosa*) obteve a maior prevalência (27%), seguida do *Plantago* (*Plantago lanceolata*) (17%) e da Ambrósia (13%). Os resultados respeitantes à sensibilização por pólenes de árvores (gráfico 3) revelam na sua maioria alergia à Oliveira (*Olea europaea*) e em segundo lugar ao Salgueiro (*Salix*).



Discussão

Este estudo baseia-se numa amostra de 50 cães e como tal as conclusões não podem ser generalizadas. No entanto, os resultados sugerem uma forte tendência quanto ao tipo de sensibilização apresentado pelos cães atópicos na área de Lisboa. Os testes serológicos mencionados neste estudo utilizam baterias que, mesmo contendo limitações, incluem os alergénios mais frequentes no nosso país. O facto dos extractos dos ácaros de armazenamento se encontrarem misturados impossibilita a sua identificação isolada. Em relação aos resultados obtidos na área de Lisboa, um número elevado (60%) de cães atópicos encontram-se sensibilizados para os alergénios do meio interior, nomeadamente para o grupo dos ácaros. Os cães de Lisboa permanecem nas suas habitações muitas horas por dia (4) e a maioria das habitações europeias apresenta níveis elevados de ácaros, favorecendo o contacto e sensibilização (4). No nosso estudo, os ácaros que apresentam maior prevalência são os *Dermatophagoides* (44%). A sensibilização aos ácaros de armazenamento na área de Lisboa apresenta igualmente uma elevada prevalência (16%). É provável que os ácaros de armazenamento possuam um papel relevante na DAC em Lisboa à semelhança do observado em outros estudos europeus (5). A sensibilização a fungos domésticos na área de Lisboa parece ser reduzida o que se encontra de acordo com as referências disponíveis no que concerne ao espaço Europeu (6). Relativamente ao grupo dos pólenes, observamos que a Oliveira apresenta uma prevalência de sensibilização elevada, contudo o mesmo não acontece com a Urtiga apesar de ser um pólen abundante nesta região. Talvez o pólen de Urtiga tenha uma capacidade alergénica inferior para o cão. De facto, os pólenes parecem ter uma importância menor na DAC na Europa, comparativamente ao grupo dos ácaros (4). É provável que tal seja o resultado de os cães passarem grande parte da sua vida no interior das habitações ou devido aos pólenes mais prevalentes serem pouco alergénizantes.

Bibliografia:

1. Small Animal Dermatology. Scott, D.W., Miller, W.H., Griffin, C.E.; 2001, 6ª edição, W.B. Saunders, Philadelphia.
2. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I): incidence and prevalence. Hillier, A.; Griffin, C.E. (2001). Vet. Immunol. Immunopathol., 81
3. Towards Healthy Air in Dwellings in Europe, The THADE Report (2004), European Federation of Allergy and Airways Diseases Patients Association
4. Regional distribution of allergens in the EU- considerations for the treatment of canine atopic dermatitis; Lourenço, A.M (2006). Livro de comunicações do 21º Congresso Anual da ESV-D-ECVD
5. "Sensitivity patterns to house dust mites and storage mites in atopic dogs: 150 cases"; Bensegnor, E; Carloti, D.N (2002). Vet. Dermatol. 13
6. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (IV): environmental allergens. Hill P, DeBoer DJ (2001). Vet. Immunol. Immunopathol. 81

Agradecimentos: os autores deste trabalho agradecem ao Prof. Dr. António Ferreira e ao Prof. Dr. José Henrique Duarte Correia o apoio e colaboração prestados.

Anexo II. Resumo da comunicação oral efectuada no 17º Congresso da APMVEAC

PRIMEIRO CASO DE INFECÇÃO CUTÂNEA POR *Staphylococcus simulans* METICILINA RESISTENTE NUM CÃO COM DERMATITE ATÓPICA EM PORTUGAL

D. Vieira¹, M. Lourenço², N. Couto¹, J. H. Duarte Correia¹ e C. Pomba¹

¹ CIISA, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, ² Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Apesar do *Staphylococcus intermedius* ser o agente patogénico mais frequente na piodermite canina, os estafilococos coagulase negativos (ECNs), também têm sido associados a infecção cutânea quer no homem quer no cão (Medleau *et al.*, 1986). Neste trabalho descrevemos um caso de piodermite superficial causada por uma estirpe multiresistente de *Staphylococcus simulans* num Teckel atópico.

O cão apresentou-se à consulta no início de 2005 com problemas dermatológicos crónicos. Foi diagnosticada uma dermatite atópica complicada por uma piodermite secundária grave. O perfil de sensibilização incluía os grupos de fungos (*Malassezia pachydermatis*), penas (psitacédeos) e ácaros do pó e de armazenamento. A gravidade da atopia foi avaliada através do CADESI 02, tendo-se obtido um valor de 187, compatível com um quadro severo. Um ano após o diagnóstico de atopia em presença de um quadro de piodermite superficial, foi feita citologia cutânea e colheita para exame microbiológico. A citologia confirmou o quadro de piodermite. Foi isolado *S. simulans* em cultura predominante em associação com *Escherichia coli*. A estirpe de *S. simulans* era resistente à oxacilina com uma CIM > 4 µg/ml e por PCR possuía o gene *mecA*. Este isolado era também resistente às fluoroquinolonas de 2ª, 3ª e 4ª geração, gentamicina, cotrimoxazol, tetraciclina, cloranfenicol, clindamicina, eritromicina e azitromicina. Foi instituído tratamento *per os* com cefadroxil e tópico com peróxido de benzoílo 2%.

Apesar de não haver indicação para o tratamento das infecções por ECNs meticilina resistentes por qualquer antibiótico do grupo dos β-lactâmicos, a resposta à terapêutica combinada foi positiva provavelmente pelo componente tópico. O caso descrito difere de dados anteriores quanto à existência deste mecanismo de resistência em *S. simulans* isolados de cães (Lilenbaum *et al.*, 2000). A epidemiovigilância da resistência à meticilina em medicina veterinária é uma preocupação mundial pelo seu potencial zoonótico.