

Introdução

Staphylococcus (*S.*) *pseudintermedius* é a causa mais frequente de piodermite canina e também pode estar associado com infecções do trato urinário e otite externa em cães. Isolados de *S. pseudintermedius* resistentes à meticilina (MRSP), por intermédio do gene *mecA*, podem exibir resistência a diversas classes de agentes antimicrobianos usadas em medicina veterinária (Kadlec & Schwarz, 2012), limitando as opções de tratamento. Além disso, a transmissão de cepas MRSP entre animais e humanos tem sido relatada e configura um potencial risco zoonótico.

Objetivos

O estudo teve como objetivo investigar a presença de isolados de *Staphylococcus* resistentes à meticilina entre amostras clínicas de piodermite provenientes de animais de companhia. Além disso, teve como objetivos a identificação molecular das espécies de *Staphylococcus* e a tipificação dos isolados resistentes à meticilina.

Resultados

Entre 92 isolados de *Staphylococcus* testados, 20 (21,7%) isolados provenientes de cães com piodermite apresentaram resistência fenotípica à oxacilina (halo ≤ 17 mm). Os 20 isolados amplificaram um fragmento de 310 pb na PCR, correspondente ao gene de resistência à meticilina *mecA* (Figura 1A).

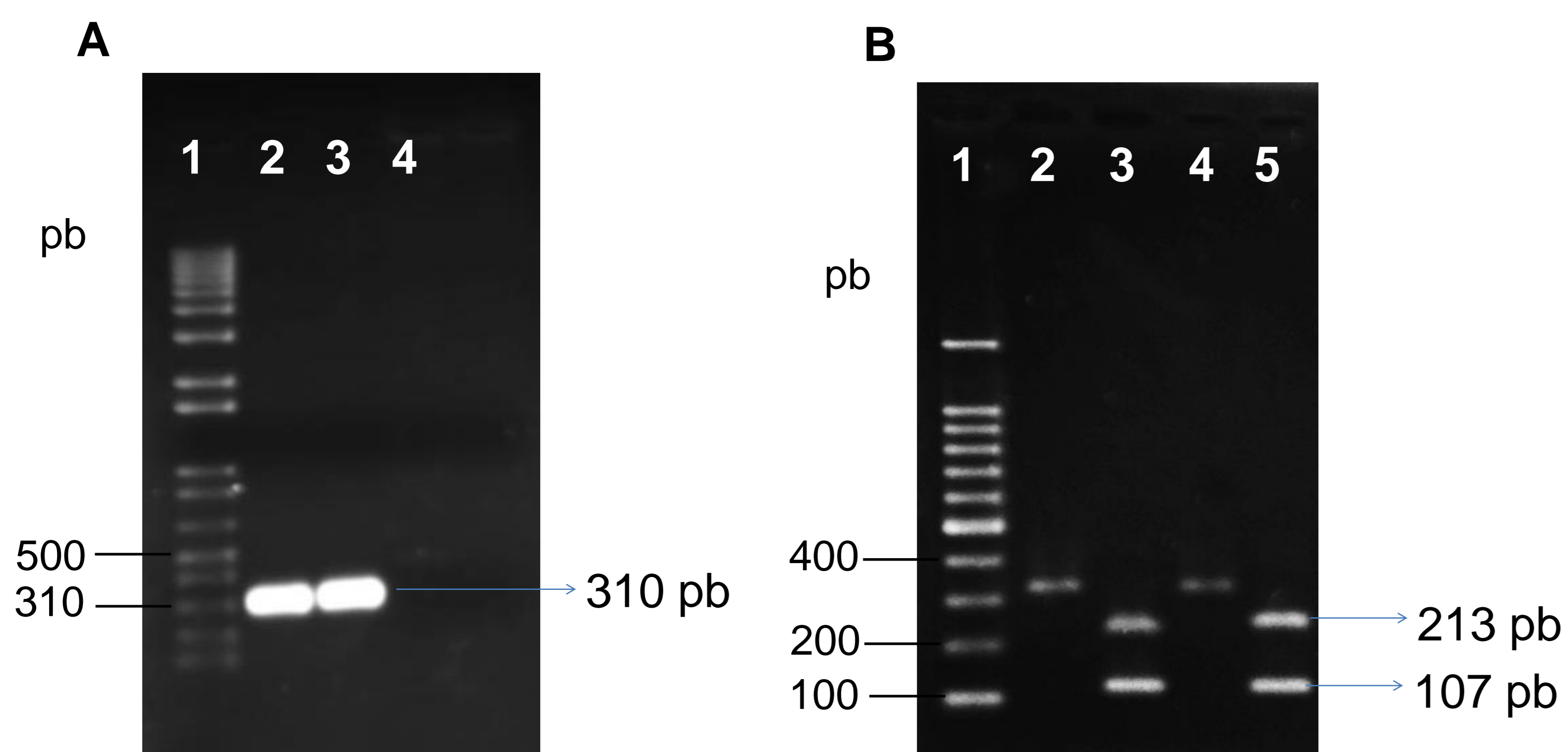
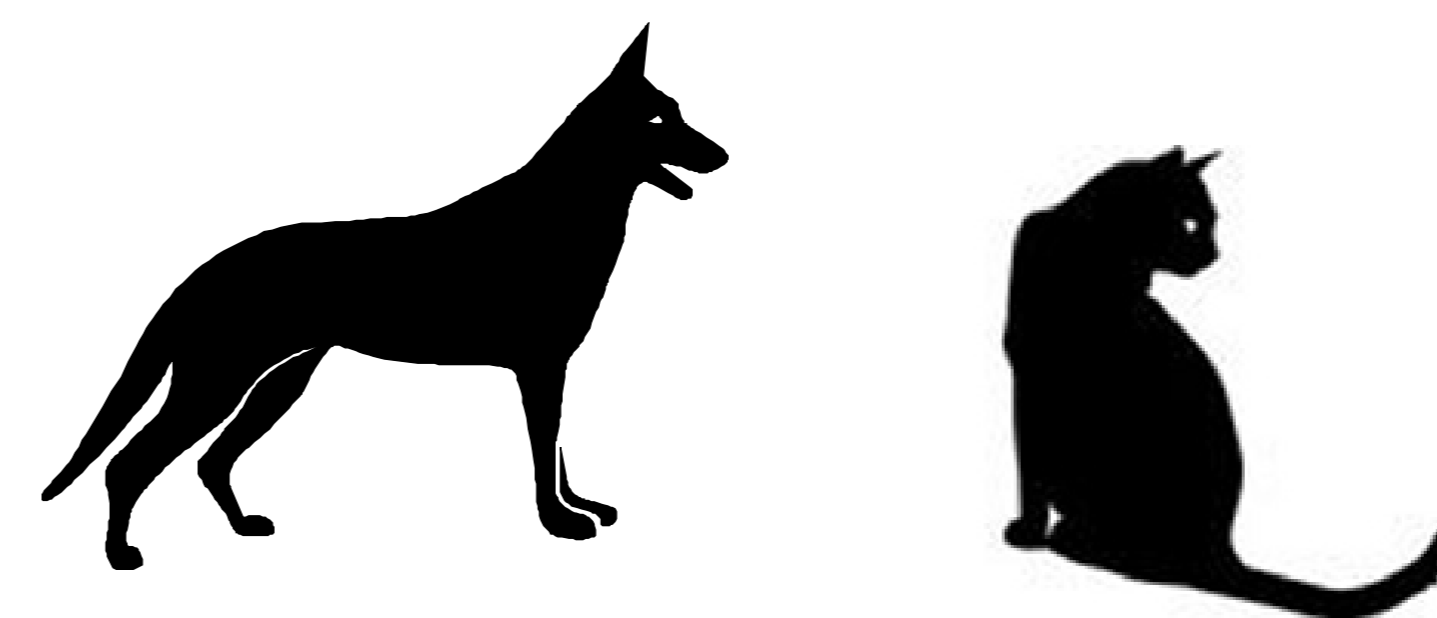


Figura 1. A. Eletroforese em gel de agarose 1% demonstrando a amplificação por PCR do gene *mecA*. Coluna 1: Marcador de peso molecular 1 kb. Coluna 2 e 3: amostras positivas para o gene *mecA*. Coluna 4: controle negativo. **B.** Eletroforese em gel de agarose 1% demonstrando a PCR-RFLP para identificação molecular das espécies de *Staphylococcus*. Coluna 1: Marcador de peso molecular 100 pb. Coluna 2 e 4: amplificação do gene *pta*. Colunas 3 e 5: digestão do produto de PCR com a enzima Mbol.

Os isolados de *Staphylococcus* resistentes à meticilina foram submetidos a identificação da espécie por PCR-RFLP. Para isso, um fragmento do gene *pta*, o qual codifica para a enzima fosfoacetiltransferase, foi amplificado e submetido à clivagem com a enzima Mbol. Todos os isolados apresentaram fragmentos de 213 pb e 107 pb, confirmando pertencer a espécie de *S. pseudintermedius* (Figura 1B).

Materiais e Métodos

Um total de 92 isolados de *Staphylococcus* coagulase positiva foram identificados em amostras clínicas de piodermite de cães e gatos atendidos no HCV-UFRGS durante o período de 2011 a 2012.



Fonte: merckmanuals.com

Esses isolados foram submetidos a:

- 1 Teste de suscetibilidade a 17 agentes antimicrobianos (CLSI, 2013).
- 2 Detecção do gene de resistência a meticilina *mecA* (Bannoehr *et al.*, 2007).
- 3 Identificação molecular da espécie por PCR-RFLP (Bannoehr *et al.*, 2009).
- 4 Amplificação, sequenciamento e análise da proteína A (*spa* typing) de *Staphylococcus* (Moodley *et al.*, 2009).

O gene *spa*, o qual codifica para a proteína A das espécies de *Staphylococcus*, foi amplificado em 18 isolados MRSP. O produto da amplificação foi purificado e o sequenciamento está sendo conduzido. Dentre três isolados sequenciados até o momento, foram observadas diferentes repetições na região de polimorfismo do gene *spa* (Figura 2).

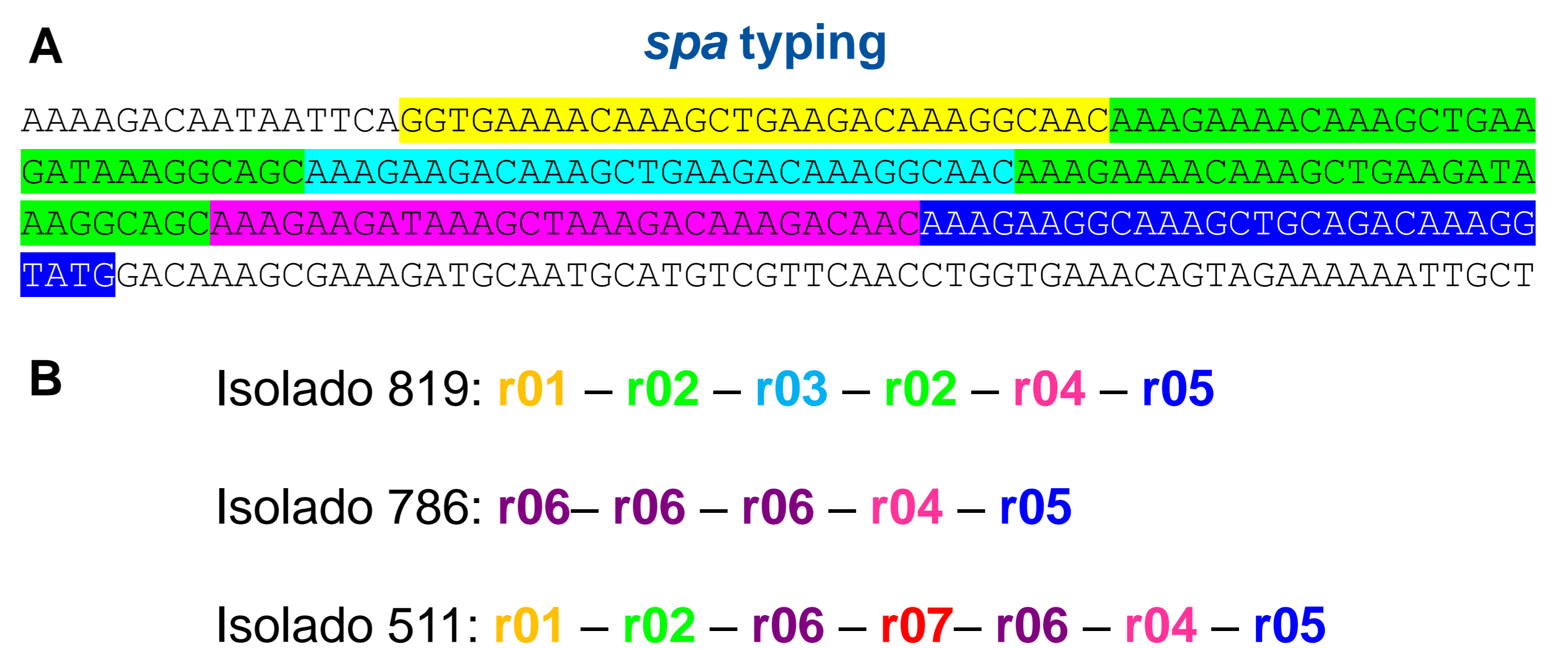


Figura 2. A. Sequência do gene *spa* de um isolado MRSP obtido de cão com piodermite com as repetições em cores. **B.** Representação das diferentes repetições encontradas na região de polimorfismo do gene *spa* de três isolados MRSP obtidos de cães com piodermite.

Conclusão

MRSP está envolvido em casos de piodermite em cães atendidos no HCV-UFRGS, representando um desafio para a saúde animal e uma preocupação para a saúde pública. A tipificação do gene *spa* indica que os isolados não apresentam clonalidade.

Referências

- BANNOEHR, J. *et al.* Journal of Bacteriology, v.189, p. 8685-8692, 2007.
 BANNOEHR, J. *et al.* Molecular Journal of Clinical Microbiology, v.47, p. 469-471, 2009.
 CLSI. VET01-S2, 2013.
 KADLEC, K.; SCHWARZ, S. Veterinary Dermatology, Germany, v. 23, p. 276-e55, 2012.
 MOODLEY *et al.* Veterinary Microbiology, v. 135, p. 320-326, 2009.