

Universidade Federal de Minas Gerais
Escola de Veterinária
Programa de Pós-graduação em Ciência Animal

Thyanne Gabryelle Viana de Souza

Colonização e resistência a antimicrobianos de *Staphylococcus* spp. em gatos hospitalizados e não hospitalizados de Belo Horizonte, Minas Gerais

Belo Horizonte

2024

Thayanne Gabryelle Viana de Souza

Colonização e resistência a antimicrobianos de *Staphylococcus* spp. em gatos hospitalizados e não hospitalizados de Belo Horizonte, Minas Gerais

Dissertação apresentada ao Colegiado de Pós-Graduação em Ciência Animal na Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Otávio Silveira Silva

Coorientadora: Dra. Jordana Almeida Santana

Belo Horizonte

2024

S729c Souza, Thayanne Gabryelle Viana de, 1997 -
Colonização e resistência a antimicrobianos de *Staphylococcus spp.* em
gatos hospitalizados e não hospitalizados de Belo Horizonte, Minas Gerais/
Thayanne Gabryelle Viana da Souza. – 2024.
68f: il.

Orientador: Rodrigo Otávio Silveira Silva
Coorientadora: Jordana Almeida Santana
Dissertação (Mestrado) apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária da
UFMG, como requisito parcial para obtenção do título de Mestra.
Inclui Bibliografia

1. Gatos - Teses - 2. Microbiologia - Teses - I. Silva, Rodrigo Otávio
Silveira – II. Santana, Jordana Almeida. III. Universidade Federal de Minas
Gerais, Escola de Veterinária - IV. Título.

CDD – 636.089

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes CRB 2569
Biblioteca da Escola de Veterinária, UFMG.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO - THAYANNE GABRYELLE VIANA DE SOUZA

Às 09:00 horas do dia 16 de fevereiro de 2024, reuniu-se, na Escola de Veterinária da UFMG a Comissão Examinadora de Dissertação, para julgar, em exame final, a defesa da dissertação intitulada:

“Colonização e resistência a antimicrobianos de Staphylococcus spp. em gatos hospitalizados e não hospitalizados de Belo Horizonte, Minas Gerais”

Como requisito final para a obtenção do Grau de **Mestre em Ciência Animal**, área de concentração em **Medicina Veterinária Preventiva**. Abrindo a sessão, o(a) Presidente da Comissão, **Rodrigo Otávio Silveira Silva**, após informar o aos presentes o teor das Normas Regulamentares da Defesa de Dissertação, passou a palavra ao candidato (a), para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do(a) candidato(a). Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do(a) candidato(a) e do público, para julgamento da dissertação, tendo sido atribuídas as seguintes indicações:

| Examinador / Prof. Dr. | Aprovado | Reprovado |
|-------------------------------------|----------|-----------|
| Rodrigo Otávio Silveira Silva | X | |
| Layze Cilmara Alves da Silva Vieira | X | |
| Luiz Eduardo Duarte de Oliveira | X | |

Face os resultados, o (a) aluno (a) foi considerado(a):

| | | | |
|----------|---|-----------|--|
| Aprovado | X | Reprovado | |
|----------|---|-----------|--|

Para concluir o Mestrado, o(a) candidato(a) deverá entregar a versão final da dissertação, acatando, se houver, as modificações sugeridas pela banca. Para tanto, terá o prazo máximo de 60 dias a contar da data da defesa.

O resultado final, foi comunicado publicamente ao(a) candidato(a) pelo(a) Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o(a) Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 16 de fevereiro de 2024.

Assinatura dos membros da banca:



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Otávio Silveira Silva, Professor do Magistério Superior**, em 16/02/2024, às 12:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Layze Cilmara Alves da Silva Vieira, Usuária Externa**, em 20/02/2024, às 15:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luiz Eduardo Duarte de Oliveira, Professor do Magistério Superior**, em 20/02/2024, às 17:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2894284** e o código CRC **6E96BD41**.

Dedico este trabalho à minha família,
amigos e equipe do LAEV-UFMG, por
todo apoio profissional e emocional.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à Deus, por ter permitido mais uma vez realizar um pedaço do meu sonho, que foi cursar o mestrado. Agradeço à minha mãe, Dalviene, e toda família, por todo apoio! Amo vocês! Agradeço aos meus amigos, por estarem comigo nos momentos alegres e tristes. Sem vocês, tudo ficaria bem mais difícil.

Agradeço ao Victor (Samarante), por todo apoio. Amigo, você é demais! Muito obrigada por tudo!

Agradeço imensamente à equipe do Laboratório de Anaeróbios, por toda ajuda na execução desse trabalho, pelas risadas e momentos de reflexão. Agradeço a todos os meus professores que passaram durante a minha formação acadêmica, vocês são fonte de inspiração!

Agradeço ao professor Chico, pelos ótimos momentos! O senhor é icônico! Agradeço ao meu professor orientador, Rodrigo Otávio, pelo exemplo de pessoa que é, por lutar em nome do ensino de qualidade, tanto na graduação como na pós-graduação, por viver e fazer ciência, pelos ensinamentos, pela paciência e pelas piadas (estranhas, mas legais!)

Agradeço à minha coorientadora, Jordana (Rainha *Staphylo*) Almeida Santana, por toda ajuda! Joh, você é surreal! Uma das melhores decisões durante o meu mestrado, foi você ter se tornado a minha coorientadora. Você é demais! Agradeço ao meu coorientador posticho, professor Rafael Gariglio, por tudo! Além de ser meu amigo, você foi meu mestre! Muito obrigada! Um agradecimento especial à clínica veterinária MedVet, pela participação neste estudo! Uma parceria de valor!

Agradeço às minhas bandas favoritas, desde o *heavy metal* do Metallica ao romantismo do 3 Doors Down, que fizeram meus momentos de escrita serem mais leves e divertidos!

Agradeço aos funcionários do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, especialmente à Grazielle (Grazitcha), por toda ajuda e parceria! Por fim, agradeço às instituições de apoio e fomento à pesquisa, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG, bem como à prestação de serviços realizada pelo Laboratório de Anaeróbios, para execução desse trabalho.

“Onde o medo não estiver mais, nada haverá. Somente eu restarei”. Duna.

RESUMO

O gênero *Staphylococcus* é conhecido por colonizar uma ampla variedade de hospedeiros, sendo um membro importante da microbiota oral e cutânea de humanos e animais. Algumas espécies, como *S. aureus*, *S. pseudintermedius* e *S. haemolyticus*, destacam-se pela aquisição de genes de resistência, sendo cada vez mais comum o isolamento de estirpes multirresistentes em quadros infecciosos, tanto em humanos como em pequenos animais. Neste contexto, evidenciam-se os estafilococos resistentes à meticilina (MRS), que apresentam resistência aos antimicrobianos beta-lactâmicos, e comumente às fluoroquinolonas, aos aminoglicosídeos e aos macrolídeos. No entanto, apesar da relevância deste tema na medicina veterinária, pouco se sabe sobre as espécies que colonizam felinos, a susceptibilidade desses isolados aos antimicrobianos, assim como os fatores de risco relacionados à colonização por *Staphylococcus* spp. multirresistentes. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi isolar e identificar bactérias do gênero *Staphylococcus* que colonizam gatos domésticos hospitalizados e não hospitalizados, assim como analisar seu perfil de resistência a antimicrobianos. No total, 218 suabes orais e axilares foram obtidos de 109 gatos, sendo 77 gatos não hospitalizados, em que as coletas ocorreram em domicílio, e 32 gatos hospitalizados em uma Clínica Veterinária localizada em Belo Horizonte, Minas Gerais. Após plaqueamento em ágar Manitol Salgado, as colônias sugestivas foram identificadas por MALDI-ToF ou por sequenciamento dos genes *rpoB* e *16S rRNA*, se necessário. Os isolados de *S. pseudintermedius* tiveram sua identidade confirmada pela PCR do gene *nuc*. Foram realizados testes de susceptibilidade antimicrobiana e identificação do gene *mecA* em amostras resistentes à oxacilina/cefotaxima. Os isolados identificados como *S. haemolyticus* resistentes à meticilina (MRSH) foram submetidos à técnica de Multilocus Sequence Type (MLST). Oitenta e um isolados foram obtidos de 58 gatos domésticos (53,2%). *S. felis* foi comumente isolada de gatos não hospitalizados (28,1%) e *S. pseudintermedius* foi superior em gatos hospitalizados (25%). No geral, resistência à penicilina, eritromicina e oxacilina (61,7%, 35,8% e 32%, respectivamente) foram as mais frequentemente observadas, enquanto a maior parte dos isolados foi sensível à nitrofurantoina, cloranfenicol e ciprofloxacina (100%, 98,7% e 87,7%, respectivamente). A maioria dos isolados multirresistentes e positivos para o gene *mecA* foram oriundos de gatos internados (21/81 - 26%) ($p=0,0388$), apresentando cerca de três vezes mais chances de isolamento de tais estirpes, tendo cinco *S. pseudintermedius* (MRSP) e quatro *S. haemolyticus* (MRSH). Os isolados MRSH detectados na clínica apresentaram o mesmo perfil de resistência antimicrobiana e foram classificados no mesmo *sequence type* (ST3), sugerindo clonalidade. Felinos com comorbidades e sob uso de antimicrobianos apresentaram, respectivamente, três e 14 vezes mais chances de isolamento de *Staphylococcus* spp. multirresistentes. Conclui-se que *S. felis* é comum na microbiota de gatos não hospitalizados e *S. pseudintermedius* está associada à gatos hospitalizados. Ademais, a hospitalização e o uso de antimicrobianos aumentam consideravelmente a probabilidade de aquisição de *Staphylococcus* spp. multirresistentes em felinos domésticos, além desses fatores demonstrarem uma interferência na dinâmica de colonização desses animais.

Palavras-chave: gatos domésticos; estafilococos; colonização; mrsp; mrsh.

ABSTRACT

The *Staphylococcus* genus is known for colonizing a wide variety of hosts and is an important member of the oral and cutaneous microbiota of humans and animals. Some species, such as *S. aureus*, *S. pseudintermedius* and *S. haemolyticus*, stand out for acquiring resistance genes, and the isolation of multidrug-resistant strains in infectious conditions in both humans and small animals is increasingly common. In this context, methicillin-resistant staphylococci (MRS), which are resistant to beta-lactam antimicrobials, and commonly also to fluoroquinolones, aminoglycosides and macrolides. However, despite the relevance of this topic in veterinary medicine, not much is known about the species that colonize cats, the susceptibility of these isolates to antimicrobials, as well as the risk factors related to colonization by multidrug-resistant *Staphylococcus* spp. Therefore, the objective of this study was to isolate and identify bacteria of the *Staphylococcus* genus that colonize hospitalized and non-hospitalized domestic cats, as well as to analyze their antimicrobial resistance profile. A total of 218 oral and axillary swabs were obtained from 109 cats, 77 of which were not hospitalized and 32 of which were hospitalized at a veterinary clinic in Belo Horizonte, Minas Gerais. After plating on salt mannitol agar, the suggestive colonies were identified by MALDI-ToF or by sequencing of the *rpoB* and *16S rRNA* genes, where necessary. The identity of the *S. pseudintermedius* isolates was confirmed by PCR of the *nuc* gene. Antimicrobial susceptibility tests and identification of the *mecA* gene were carried out on samples resistant to oxacillin/cefoxitin. The isolates identified as methicillin-resistant *S. haemolyticus* (MRSH) were submitted to the Multilocus Sequence Type (MLST) technique. Eighty-one isolates were obtained from 58 domestic cats (53.2%). *S. felis* was commonly isolated from non-hospitalized cats (28.1%) and *S. pseudintermedius* was higher in hospitalized cats (25%). Resistance to penicillin, erythromycin and oxacillin (61.7%, 35.8% and 32%, respectively) were the most frequently observed, while most isolates were sensitive to nitrofurantoin, chloramphenicol and ciprofloxacin (100%, 98.7% and 87.7%, respectively). The majority of multidrug-resistant isolates positive for the *mecA* gene came from hospitalized cats (21/81 - 26%) ($p=0.0388$), presenting around three times more chances of isolating such strains, with five being *S. pseudintermedius* (MRSP) and four *S. haemolyticus* (MRSH). The MRSH isolates detected in the clinic had the same antimicrobial resistance profile and were classified in the same sequence type (ST3), suggesting clonality. Felines with comorbidities and under antimicrobial use were, respectively, three and 14 times more likely to isolate multidrug-resistant *Staphylococcus* spp. In conclusion, *S. felis* is common in the microbiota of non-hospitalized cats and *S. pseudintermedius* is associated with hospitalized cats. In addition, hospitalization and the use of antimicrobials considerably increase the probability of acquiring multidrug-resistant *Staphylococcus* spp. in domestic cats, and these factors demonstrate an interference in the colonization dynamics of these animals.

Keywords: domestic cats; staphylococci; colonization; mrsp; mrsh.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Esquema da patogenia das infecções por estafilococos. Por ter um caráter oportunista, lesões ou doenças primárias são necessárias na maioria das infecções estafilocócicas, que se estabelecem no hospedeiro por meio de diversos fatores de virulência. Imagem criada através da plataforma www.biorender.com.20
- Figura 2 - Fluxograma adotado para processamento das amostras do presente estudo. Em lilás estão os processos realizados em relação às amostras obtidas dos gatos amostrados (verde claro).27
- Figura 3 - Ficha clínica utilizada para coleta de dados dos gatos amostrados no estudo.28
- Figura 4 - Perfil de resistência antimicrobiana dos isolados de gatos não hospitalizados (A) e hospitalizados (B).36
- Figura 5 - Demonstração do percentual de isolados estafilocócicos multirresistentes de acordo com a categoria dos animais amostrados.37
- Figura 6 - Espécies estafilocócicas MRS encontradas no presente estudo. As barras vermelhas representam os MRSP obtidos de gatos hospitalizados e as barras azuis indicam os MRSP recuperados de gatos não hospitalizados.38
- Figura 7 - Análise eBURST configurada pelo programa PHYLOViZ com a população de *S. haemolyticus*, considerando apenas SLV. Em cinza estão os STs depositados no banco de dados do PubMLST e em vermelho os STs detectados no presente estudo. No corte I é observado o CC3, na qual o ST3 é o fundador, agrupando STs relatados em humanos (em azul), um ST relatado em cão (137, laranja) e um ST relatado em um felino doméstico (136, lilás). No corte II é observado o ST8, evolutivamente próximo ao CC3.39
- Figura 8 - Árvore filogenética formulada através da análise dos setes genes concatenados do MLST de *S. haemolyticus*, pelo programa iTOL. Estrelas em vermelho indicam os isolados encontrados em gatos hospitalizados (clínica) e a estrela azul indica o isolado encontrado em um gato não hospitalizado (residência). Triângulos indicam o sítio na qual os isolados foram encontrados e quadrados coloridos demonstram o perfil de resistência antimicrobiana.41

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Sequência de iniciadores utilizados para identificação de <i>S. pseudintermedius</i> , tamanho do produto amplificado e referência bibliográfica utilizada. | 29 |
| Tabela 2 - Sequência de primers utilizados para identificação das espécies de estafilococos pelo sequenciamento do gene <i>rpoB</i> , tamanho do produto amplificado e referência utilizada. | 29 |
| Tabela 3 - Sequência de primers utilizados para identificação das espécies de estafilococos pelo sequenciamento do gene <i>16S rRNA</i> , tamanho do produto amplificado e referência utilizada. | 30 |
| Tabela 4 - Sequências de primers utilizados para detecção do gene <i>mecA</i> , pares de base e referência utilizada. | 31 |
| Tabela 5 - Primers utilizados para amplificação dos sete genes de estirpes MDRSH no MLST, tamanho do produto amplificado (pb) e referência utilizada..... | 31 |
| Tabela 6 - Comorbidades indicadas pelos tutores na ficha clínica de gatos não hospitalizados e hospitalizados de Belo Horizonte, Minas Gerais. | 33 |
| Tabela 7 - Distribuição das espécies estafilocócicas isoladas de acordo com a categoria dos gatos amostrados e seus respectivos sítios. | 35 |
| Tabela 8 - Variáveis analisadas como fatores de risco para aquisição de isolados MDR/MRS em gatos domésticos..... | 42 |
| Tabela 9 - Espécies estafilocócicas identificadas e seu perfil de resistência a antimicrobianos de gatos não hospitalizados em Belo Horizonte, Minas Gerais, entre junho a outubro de 2022. | 68 |
| Tabela 10 - Espécies estafilocócicas identificadas e seu perfil de resistência a antimicrobianos de gatos hospitalizados na clínica MedVet em Belo Horizonte, Minas Gerais, entre junho a outubro de 2022..... | 69 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|--------------------|--|
| BHI | Brain Infusion Agar |
| °C | Graus Celsius |
| CC | Complexo Clonal |
| CEUA | Comissão de Ética em Uso de Animais |
| CFO | Cefoxitina |
| CIP | Ciprofloxacina |
| CLO | Cloranfenicol |
| CLI | Clindamicina |
| CLSI | Clinical and Laboratory Standards Institute |
| CoPS | Estafilococos coagulase positivo |
| CoNS | Estafilococos coagulase negativo |
| DLV | Double Locus Variant |
| DNA | Ácido desoxirribonucleico |
| EUA | Estados Unidos da América |
| ERI | Eritromicina |
| eBURST | Based Upon Related Sequence Types |
| FIV | Vírus da imunodeficiência felina |
| FELV | Vírus da Leucemia Felina |
| GEN | Gentamicina |
| MRSP | <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> resistente à meticilina |
| MRSA | <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina |
| MRSH | <i>Staphylococcus haemolyticus</i> resistente à meticilina |
| MRSE | <i>Staphylococcus epidermidis</i> resistente à meticilina |
| MDR | Multirresistência |
| MRS | Resistência à meticilina |
| MG | Minas Gerais |
| MLST | Multi Locus Sequence Type |
| MALDI-ToF | Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight |
| NCBI | National Center for Biotechnology Information |
| NIT | Nitrofurantoina |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| OXA | Oxaciclina |
| OR | Odds Ratio |
| PEN | Penicilina |
| PFGE | Pulsed-field gel electrophoresis |
| PCR | Reação em cadeia da polimerase |
| RIF | Rifampicina |
| rRNA | Ácido ribonucleico ribossômico |
| SCC _{mec} | Cassete cromossômico estafilocócico <i>mec</i> |
| SIG | Grupo <i>Staphylococcus intermedius</i> |
| ST | Sequence type |
| SLV | Single Locus Variant |
| SUT | Sulfametoxazol/trimetoprima |
| TET | Tetraciclina |
| UFMG | Universidade Federal de Minas Gerais |
| UTI | Unidade de Terapia Intensiva |
| µg | Microgramas |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 16 |
| 2. OBJETIVOS | 17 |
| 2.1. Objetivo Geral..... | 17 |
| 2.2. Objetivos específicos | 17 |
| 3. REVISÃO DE LITERATURA | 18 |
| 3.1. O gênero <i>Staphylococcus</i> | 18 |
| 3.2. <i>Staphylococcus</i> spp. em gatos domésticos..... | 19 |
| 3.2.1. <i>Staphylococcus</i> spp. e a microbiota cutânea de gatos | 19 |
| 3.2.2. <i>Staphylococcus</i> spp. e a microbiota oral de gatos | 19 |
| 3.3. Patogenia e doenças correlacionadas em gatos..... | 20 |
| 3.4. <i>Staphylococcus</i> resistentes à meticilina (MRS) em pequenos animais..... | 21 |
| 3.5. <i>Staphylococcus</i> MRS em gatos domésticos..... | 22 |
| 3.5.1. Epidemiologia e perfil de resistência a antimicrobianos..... | 22 |
| 3.6. Diversidade genética de isolados estafilocócicos de importância clínica..... | 23 |
| 3.6.1. <i>Staphylococcus haemolyticus</i> | 23 |
| 3.6.2. <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> | 24 |
| 3.7. Controle e prevenção de MRS na clínica médica de pequenos animais..... | 25 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS | 26 |
| 4.1. Amostragem e coleta de dados dos animais | 26 |
| 4.2. Isolamento e identificação de <i>Staphylococcus</i> spp. | 28 |
| 4.3. Confirmação dos isolados <i>S. pseudintermedius</i> | 28 |
| 4.4. Sequenciamento do gene <i>rpoB</i> | 29 |
| 4.5. Sequenciamento do gene <i>16S rRNA</i> | 29 |
| 4.6. Sensibilidade a antimicrobianos | 30 |
| 4.7. Identificação de <i>Staphylococcus</i> resistentes à meticilina..... | 30 |
| 4.8. Caracterização molecular por MLST de <i>S. haemolyticus</i> resistentes à meticilina | 31 |
| 4.9. Análise estatística | 32 |
| 5. RESULTADOS | 32 |
| 5.1. Dados epidemiológicos..... | 32 |
| 5.2. Identificação das espécies estafilocócicas | 33 |
| 5.3. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos e espécies estafilocócicas resistentes à meticilina | 36 |
| 5.4. <i>S. haemolyticus</i> resistente à meticilina (MRSH) | 38 |
| 5.5. Fatores de risco para colonização por MDR/MRS | 42 |

| | |
|--------------------------------------|----|
| 6. DISCUSSÃO | 42 |
| 7. CONCLUSÃO | 48 |
| 8. PERSPECTIVAS FUTURAS | 48 |
| REFERÊNCIAS | 49 |
| ANEXOS | 66 |
| ANEXO 1 | 66 |
| ANEXO 2 | 67 |
| APÊNDICES | 68 |
| APÊNDICE A..... | 68 |
| APÊNDICE B..... | 69 |

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Staphylococcus* é conhecido por colonizar uma ampla variedade de hospedeiros, sendo um membro importante da microbiota oral e cutânea de humanos e animais (Morris et al., 2017; Loncaric et al., 2019). Presente na pele, membrana mucosa da cavidade nasal, oral e ânus, os estafilococos podem colonizar gatos domésticos sem causar infecções (Bierowiec et al., 2019; Abdullahi et al., 2022; Cheung e Chan, 2022). Por outro lado, são considerados patógenos oportunistas, podendo causar diversos quadros infecciosos, principalmente em pacientes imunocomprometidos (Ruiz-Ripa et al., 2021; Silva et al., 2022).

Abrangendo mais de 75 espécies, o gênero *Staphylococcus* ainda possui subgrupos que se destacam pela comum participação em quadros infecciosos e intoxicações graves em humanos e animais: os CoPS (coagulase-positivo staphylococci) (Lozano et al., 2015; Ma et al., 2020; Suepaul et al., 2021; Maksimović et al., 2022), com notoriedade para as espécies *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus pseudintermedius* (Youn et al., 2014; Ruiz-Ripa et al., 2021). *S. pseudintermedius*, classificado como um CoPS, está entre umas das bactérias com maior interesse humano e veterinário em relação a infecções oportunistas, sobretudo o surgimento de estirpes resistentes a meticilina, ou MRSP (Methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius*) (Weese e Duijkeren, Van, 2010; Bünsow et al., 2021).

A resistência à meticilina (MRS) está relacionada à aquisição de um elemento genético móvel denominado cassete cromossômico estafilocócico mec (*SCCmec*). O *SCCmec* alberga o gene *mecA* e concede às bactérias que o possuem resistência a todos os antimicrobianos beta-lactâmicos (Duijkeren, Van et al., 2011; Ito et al., 2014; Lakhundi e Zhang, 2018; Uehara, 2022), assim como a outras classes antimicrobianas, como as fluoroquinolonas, os aminoglicosídeos e macrolídeos (Uehara, 2022). Além disso, esse elemento genético móvel pode ser adquirido e transmitido a outras espécies do gênero, tornando-se um problema de saúde pública, quando envolve alguns estafilococos já conhecidos por causar quadros graves em seres humanos e animais, como *S. aureus*, *S. epidermidis* e *S. haemolyticus* (Barros et al., 2012; Czekaj et al., 2015).

Nos últimos anos, as infecções causadas por MRS vêm aumentando entre os seres humanos, especialmente pacientes internados em hospitais (Rodrigues et al., 2018; Peixoto et al., 2020). De forma similar, o mesmo parece acontecer em pequenos animais. Nesse contexto,

estudos recentes demonstram uma relação direta entre o tempo de internação e o aumento da identificação de estirpes estafilocócicas resistentes (Adiguzel et al., 2022; Santana et al., 2023).

Esse aumento está provavelmente relacionado à pressão seletiva causada pelas intensas terapias antimicrobianas estabelecidas entre os pacientes internados, comumente sem a realização de exames sobre a resistência antimicrobiana dos isolados encontrados (Andersson et al., 2016; Morrison e Zembower, 2020). Há estudos que demonstram a identificação de estirpes MRS em gatos doentes que tiveram histórico de uso antimicrobiano, independente do seu estado de saúde (Worthing et al., 2018; Bierowiec et al., 2019; Bierowiec et al., 2021).

Apesar de existirem estudos que demonstram a importância do gênero *Staphylococcus* na saúde pública, há poucos trabalhos sobre o tema no Brasil, sobretudo em relação aos gatos domésticos. Atualmente, existem poucos estudos sobre a caracterização das espécies estafilocócicas presentes em gatos (Bierowiec et al., 2019; Bierowiec et al., 2021; Cheung e Chan, 2022), assim como o perfil de resistência a antimicrobianos e os fatores de risco que podem levar à colonização destes animais por estafilococos multirresistentes (MDR) e resistentes à meticilina (MRS).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Isolar e identificar bactérias do gênero *Staphylococcus* que colonizam gatos domésticos hospitalizados e não hospitalizados, assim como analisar seu perfil de resistência a antimicrobianos.

2.2. Objetivos específicos

- I. Identificar e caracterizar espécies estafilocócicas do sítio oral e axilar de gatos;
- II. Avaliar o perfil de resistência dos isolados frente aos antimicrobianos comumente utilizados na clínica médica humana e veterinária;
- III. Identificar estirpes MRS;
- IV. Analisar possíveis fatores de riscos para a colonização por *Staphylococcus* spp. MDR/MRS em gatos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. O gênero *Staphylococcus*

Os estafilococos compreendem os organismos comensais mais importantes da microbiota cutânea de animais e humanos, sendo extremamente relevantes no âmbito da medicina humana e veterinária (Paharik e Horswill, 2016; Adiguzel et al., 2022). São morfologicamente cocóides e imóveis, gram-positivo, anaeróbios facultativos e produtores ou não de coagulase (Madhaiyan et al., 2020; Ma et al., 2020; Pickering et al., 2021). Em condições de desequilíbrio da microbiota ou presença de outros fatores de risco, podem atuar como causadores de doenças, sendo portanto considerados patógenos oportunistas (Ma et al., 2020; Lisowska-Lysiak et al., 2021; Chen et al., 2022).

Possuindo diversos mecanismos para promoverem a sua colonização e disseminação, alguns estafilococos podem produzir uma enzima capaz de promover a evasão da fagocitose em processos infecciosos: a coagulase (McAdow et al., 2012; González-Martín et al., 2020). A presença ou não dessa enzima permitiu a classificação dos estafilococos em dois grupos importantes: os estafilococos coagulase positivos (CoPS) e os estafilococos coagulase negativos (CoNS). O primeiro grupo engloba as espécies consideradas mais patogênicas, incriminadas por causarem infecções importantes em seus hospedeiros, diferentemente do segundo grupo, cujas espécies são consideradas menos patogênicas (Becker et al., 2014b; Beça et al., 2015; Fungwithaya et al., 2017; França et al., 2021). Um CoPS extremamente conhecido e estudado é a espécie *S. aureus*, importante causador de doenças graves em humanos e animais, sobretudo em indivíduos internados em Unidades de Tratamento Intensivo (UTI) (Guo et al., 2020; Chen et al., 2022).

Além disso, devido à alta similaridade que algumas espécies de estafilococos possuem, existe dentro deste gênero um grupo denominado *Staphylococcus Intermedius* Group (SIG), composto pelas espécies *S. intermedius*, *S. pseudintermedius*, *S. delphini*, *S. cornubiensis* e *S. ursi* (Mališová et al., 2019; Perreten et al., 2020). A semelhança entre essas espécies se configura de forma fenotípica e genotípica, tendo essa descoberta reclassificado principalmente os isolados *S. intermedius* em *S. pseudintermedius*, recuperados de cães (Lee et al., 2015; Mališová et al., 2019). Desde então, *S. pseudintermedius* é a principal espécie estafilocócica pertencente ao grupo SIG encontrada na espécie canina (Viegas et al., 2022; Santana et al., 2023).

3.2. *Staphylococcus* spp. em gatos domésticos

3.2.1. *Staphylococcus* spp. e a microbiota cutânea de gatos

Diferentemente de cães e seres humanos, há poucos estudos sobre a comunidade estafilocócica comensal da pele de gatos domésticos, concentrando-se apenas em relatos de infecções locais ou generalizadas (Older et al., 2017; Older et al., 2021). A espécie estafilocócica comumente descrita colonizando a microbiota cutânea de gatos saudáveis é *S. felis* (Büttner et al., 2019; Bierowiec et al., 2019; Older et al., 2021; Moon et al., 2022), enquanto que em gatos doentes é descrito o isolamento de *S. pseudintermedius* e *S. haemolyticus* (Bierowiec et al., 2019; Bierowiec et al., 2021). *S. felis* foi identificado pela primeira vez em 1989, é classificado como um CoNS e está presente em 25% dos gatos saudáveis (Igimi et al., 1989; Worthing et al., 2018). Apesar de ser considerado uma espécie comensal, *S. felis* já foi descrito ocasionando quadros infecciosos em gatos domésticos e silvestres (Litster et al., 2007; Castro et al., 2023).

S. pseudintermedius é um dos CoPS mais importantes em pequenos animais, sobretudo cães e gatos (Weese e Duijkeren, Van, 2010; Bierowiec et al., 2021; Abdullahi et al., 2022). Nos últimos anos, essa espécie tem recebido atenção pela sua grande capacidade de multirresistência a antimicrobianos. Graças a relatos recentes, têm-se discutido ainda os riscos de infecção por *S. pseudintermedius* em seres humanos e, ainda mais preocupante, a possibilidade dessa espécie agir como fonte de genes de resistência para *S. aureus*, um patógeno comum em seres humanos (Tabatabaei et al., 2019; Souza-Silva et al., 2022). *S. haemolyticus*, membro do grupo CoNS, pode ser encontrado na microbiota cutânea humana, destacando-se porém, como um importante causador de infecções nosocomiais (Czekaj et al., 2015; Eltwisy et al., 2022; Lin et al., 2022). Em felinos, *S. haemolyticus* já foi isolado de gatos doentes que apresentavam quadros infecciosos cutâneos e oculares (Bierowiec et al., 2019; Older et al., 2021).

3.2.2. *Staphylococcus* spp. e a microbiota oral de gatos

Poucos estudos definem quais espécies estafilocócicas fazem parte da microbiota oral de gatos domésticos, sendo que a maioria dos trabalhos foca em doenças inflamatórias periodontais (Davis e Weese, 2022). Um estudo realizado por Sondorová e colaboradores (2021), identificou algumas espécies de estafilococos na cavidade oral de gatos domésticos, de diferentes faixas etárias. De forma geral, *Staphylococcus* spp. foram encontrados entre 1,4% e 2,7% dos animais, incluindo *S. hominis* e *S. felis*. Outros estafilococos já foram identificados

compondo a microbiota oral felina, como *S. cohnii*, *S. nepalensis* e *S. lentus*, sendo esse último a espécie mais isolada da cavidade oral de gatos em um estudo relatado por Rossi e colaboradores (2017) no Brasil. Vale ressaltar que *S. pseudintermedius* e *S. haemolyticus* não foram encontrados em ambos os estudos (Rossi et al., 2017; Sendorová et al., 2021).

3.3. Patogenia e doenças correlacionadas em gatos

O comportamento patogênico dos estafilococos é multifatorial, tendo uma intensa correlação com o desequilíbrio da microbiota na qual se encontra e outros fatores de risco (Lisowska-Lysiak et al., 2021; Wang et al., 2022). Seu aspecto oportunista, associado à presença de inúmeros fatores de virulência, promovem o desenvolvimento de quadros infecciosos superficiais e profundos em humanos e animais (Kwiecinski e Horswill, 2020; Elmoslemany et al., 2021). Tais fatores de virulência correspondem à produção de enzimas (coagulase, termonuclease, protease e hialuronidase), toxinas (citotoxinas, toxinas esfoliativas e enterotoxinas) que permitem a adesão e invasão dos tecidos do hospedeiro (Grumann et al., 2014; Reyes-Robles e Torres, 2017; Wang et al., 2022), além da formação de biofilmes, determinando a manutenção dos estafilococos no organismo (Figura 1) (Otto, 2014).

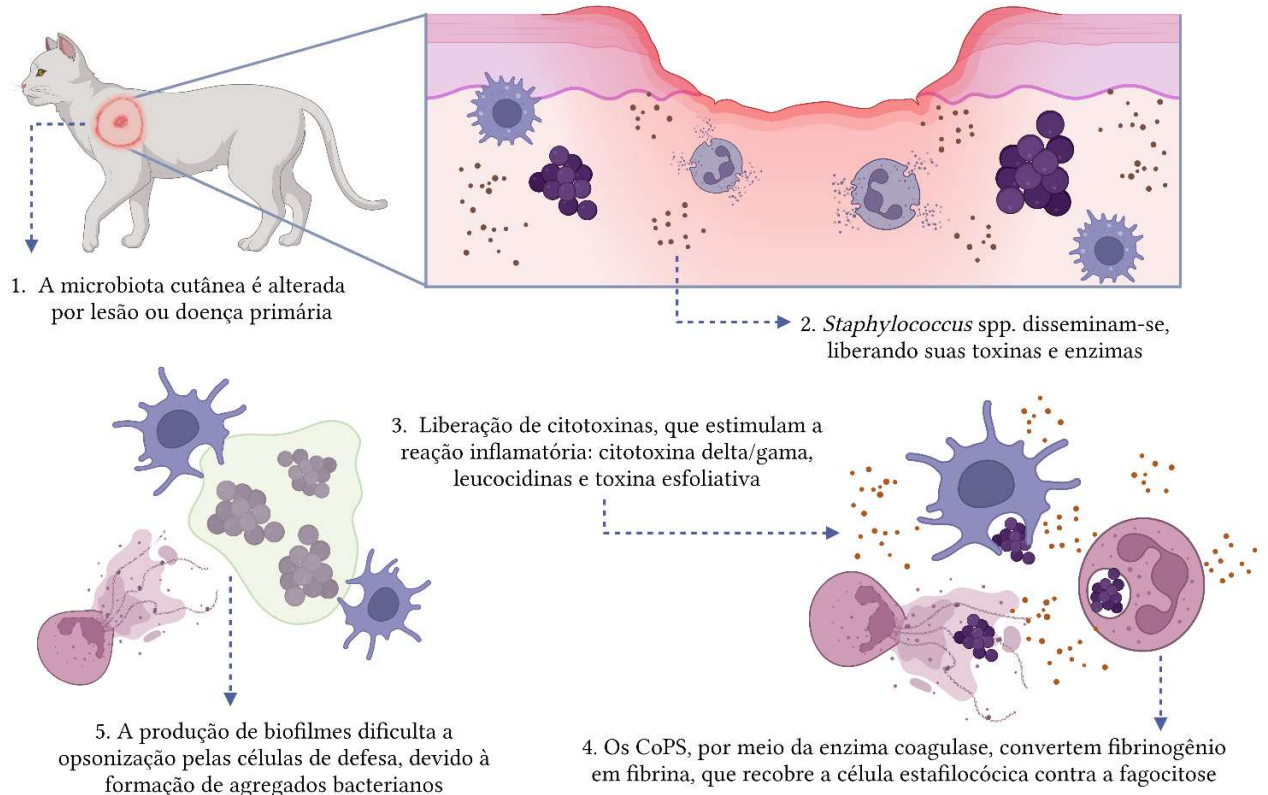


Figura 1. Esquema da patogenia das infecções por estafilococos. Por ter um caráter oportunista, lesões ou doenças primárias são necessárias na maioria das infecções estafilocócicas, que se

estabelecem no hospedeiro por meio de diversos fatores de virulência. Imagem criada através da plataforma www.biorender.com.

Em gatos domésticos, os estafilococos estão associados a quadros infecciosos como piodermites, conjuntivites, otites e cistites (Büttner et al., 2019; Hiblu et al., 2021; D'Août et al., 2022). Estudos recentes relataram que as piodermites felinas foram causadas principalmente por CoNS (9/19 - 47%), seguidos de *S. aureus* e *S. pseudintermedius* (Nocera et al., 2021; Cavana et al., 2023). Em relação a doenças orais, há poucos estudos identificando e correlacionando os estafilococos como causadores de infecções, estando sua presença em quadros infecciosos associada a doenças primárias, como FIV/FeLV e estomatite felina (Weese et al., 2015; Whyte et al., 2017).

3.4. *Staphylococcus* resistentes à meticilina (MRS) em pequenos animais

No decorrer dos anos, a preocupação sobre o aumento da resistência a antimicrobianos na saúde humana e animal ganhou destaque com estafilococos, sobretudo em ambientes hospitalares (Becker, 2021). Caracterizados como um grande problema de saúde pública, *Staphylococcus* resistentes à meticilina – MRS, se tornaram cada vez mais presentes em infecções comunitárias e nosocomiais, afetando principalmente pacientes imunossuprimidos e/ou submetidos a intensas terapias antimicrobianas, especialmente animais internados por longos períodos em hospitais e clínicas veterinárias (Collignon et al., 2016; Boeckel et al., 2019).

Tal resistência a antimicrobianos é favorecida pela aquisição do gene *mecA*, presente em um elemento genético móvel designado como cassete cromossômico estafilocócico *mec* (*SCCmec*), que determina a resistência quase completa às classes pertencentes ao grupo dos beta-lactâmicos, assim como a outros antimicrobianos e metaloides (Argudín et al., 2016; Alen, Van et al., 2018; Becker, 2021). Através do gene *mecA*, os estafilococos podem produzir uma nova proteína de ligação à penicilina (PBP2a), com menor afinidade aos beta-lactâmicos. Dessa forma, a síntese da parede celular dessas bactérias continua, mesmo na presença dos antimicrobianos pertencentes a esse grupo (Peacock e Paterson, 2015; Ali Alghamdi et al., 2023). Adicionalmente, esse elemento genético (*SCCmec*) tem a capacidade de ser transferido horizontalmente para outros estafilococos (Bonvegna et al., 2021; Maree et al., 2022; Zhang et al., 2022).

O MRS mais prevalente na clínica médica de pequenos animais é *S. pseudintermedius*, sendo isolado de diversos sítios em cães doentes e saudáveis, provocando infecções secundárias

cutâneas, otites, doenças no trato urinário, bem como infecções respiratórias e feridas cirúrgicas (Viegas et al., 2022; Andrade et al., 2022). Atualmente, estudos demonstram a capacidade de estirpes MRS colonizarem animais de companhia e, conseqüentemente, serem transmitidas aos tutores e profissionais veterinários, o que implica no surgimento de condições de disseminação comunitária (Paul et al., 2011; Abdullahi et al., 2022).

A prevalência de MRS na clínica médica veterinária, especialmente em animais de companhia, vem aumentando drasticamente, fator preocupante devido ao potencial de disseminação dos genes de resistência e até dos próprios microrganismos para seres humanos (Becker et al., 2014a; Morris et al., 2017). Loncaric e colaboradores (2019) realizaram um estudo na Áustria afim de identificar estirpes MRS em animais de companhia, bem como fatores de risco associados. Nesse estudo, os autores identificaram *S. epidermidis* MRS em suabes nasais de cães e gatos, além de outras espécies estafilocócicas, como *S. hominis*, *S. warneri* e *S. pseudintermedius* resistentes à metilina. A hospitalização veterinária associada à intensa terapia antimicrobiana foi um fator de risco significativo.

S. epidermidis é uma espécie estafilocócica comumente descrita colonizando humanos e animais, porém, constantemente associada a quadros infecciosos nosocomiais. O surgimento de estirpes MRS dessa espécie está relacionado ao aumento de custos de hospitalização, morbidade e mortalidade (Schoenfelder et al., 2010; Loncaric et al., 2019; Martínez-Santos et al., 2022). Diante da grande capacidade de disseminação de isolados MRS entre animais e humanos, bem como a identificação de fatores de risco predisponíveis que influenciam o surgimento de espécies MRS, são necessários estudos a fim de se compreender melhor a dinâmica de transmissão dessas estirpes.

3.5. *Staphylococcus* MRS em gatos domésticos

3.5.1. Epidemiologia e perfil de resistência a antimicrobianos

Gatos saudáveis e doentes podem ser colonizados por estirpes estafilocócicas MRS, sendo essa presença associada a determinados fatores de risco (Iverson et al., 2015; Bierowiec et al., 2016). Estudos recentes detectaram a presença de MRSA em gatos saudáveis domiciliados, com o sítio nasal apresentando a maior taxa de isolamento (Bierowiec et al., 2016; Abdullahi et al., 2022). Em relação a estirpes MRSP, há relatos que descrevem essa espécie colonizando gatos doentes, tendo uma prevalência maior quando comparada a gatos saudáveis, isolada principalmente de sacos conjuntivais e narinas (Bierowiec et al., 2021; Abdullahi et al., 2022). Além de MRSA e MRSP, *S. epidermidis* resistente à metilina (MRSE) também já foi

identificado colonizando gatos domésticos doentes, bem como *S. haemolyticus* resistente à meticilina (MRS_H), detectados em suabes nasofaríngeos (Weiss et al., 2013).

Bierowiec e colaboradores (2021), em um estudo com *S. pseudintermedius* em felinos na Polônia, relataram uma resistência frequente dos isolados à oxacilina, penicilina, marbofloxacina e ciprofloxacina em gatos doentes. Já os isolados de *S. pseudintermedius* de gatos saudáveis apresentaram-se mais comumente sensíveis a tetraciclina e cloranfenicol. Em relação às estirpes MRS_H em gatos, já foi relatado a presença em infecções do trato urinário e infecções de pele, em que esses isolados albergavam genes de resistência como *mecA*, *bla_Z* e *tetK*, apresentando fenotipicamente resistência à penicilina, oxacilina, kanamicina, gentamicina, estreptomicina, eritromicina e clindamicina (Kern e Perreten, 2013). Esses perfis de resistência são preocupantes, visto que alguns antimicrobianos são amplamente utilizados na medicina veterinária e são classificados como criticamente importantes para a medicina humana (OMS, 2019).

3.6. Diversidade genética de isolados estafilocócicos de importância clínica

3.6.1. *Staphylococcus haemolyticus*

Entre os CoNS, *S. haemolyticus* é a segunda espécie mais frequentemente detectada em hemoculturas humanas, apresentando maior perfil de resistência a antimicrobianos quando comparada a outros membros do grupo (Ruzauskas et al., 2014; Westberg et al., 2022). Estudos anteriores demonstraram que estirpes MRS_H foram constantemente isoladas de neonatos em UTIs, principalmente em dispositivos médicos internos (cateteres, próteses, dentre outros), tendo alto potencial de transmissão e de causar septicemias (Westberg et al., 2022). Porém, no âmbito da medicina veterinária, há poucos estudos que avaliam o perfil de resistência, bem como a dispersão genética de isolados *S. haemolyticus* em animais, sobretudo de companhia (Ruzauskas et al., 2014; McManus et al., 2015; Shoaib et al., 2023).

A determinação do perfil genético de *S. haemolyticus* em humanos e animais é extremamente importante para avaliar a dispersão de determinados isolados entre seus hospedeiros, sendo a técnica de MLST (*Multilocus Sequence Typing*) um dos métodos de escolha para caracterização molecular dessa espécie (Cavanagh et al., 2012; Maiden et al., 2013). A técnica se baseia na análise de múltiplos *loci* de genes constitutivos (*housekeeping genes*) para observar aspectos conflitantes de transferência genética vertical e horizontal, os quais são comparados com sequências de isolados já conhecidos e publicados em bancos de dados de referência (exemplo: PubMLST) (Maiden et al., 2013).

Dessa forma, sete *loci* são analisados e cada sequência recebe um número único, em que a ordem na qual se encontram determina o perfil alélico ou tipo de sequência (ST – *Sequence type*) (Cavanagh et al., 2012; Maiden et al., 2013). As determinações dos perfis alélicos de isolados bacterianos, além de informar sobre a sua estrutura populacional e possível ancestralidade, podem indicar a formação de complexos clonais ou linhagens com determinadas características, como perfil de resistência e adaptabilidade ao hospedeiro (Maiden et al., 2013).

Em relação à diversidade genética de *S. haemolyticus*, a maioria dos isolados depositados nos bancos de dados de referência são relacionados a humanos, recuperados de infecções do trato respiratório, ceratites, infecções ósseas e septicemias (Jolley et al., 2018). Todos os isolados foram agrupados em “clusters” principais, os quais eram relacionados ao ST1 e ao ST3, ambos prováveis fundadores de complexos clonais (CC1 e CC3) (Panda et al., 2016; Lin et al., 2022).

No âmbito da medicina veterinária, já foram relatados STs de isolados de *S. haemolyticus* em bovinos leiteiros, sendo o ST8 mais predominante entre eles, apresentando estirpes classificadas como multirresistentes (MDR) (Shoaib et al., 2023). Já em pequenos animais, em especial gatos domésticos, os estudos verificaram o perfil de resistência a antimicrobianos e definiram agrupamentos por similaridade através da técnica PFGE (*Pulsed Field Gel Electrophoresis*), sem determinar qual o tipo de sequência, bem como o perfil dos complexos clonais (Kern e Perreten, 2013; Couto et al., 2016; Kizerwetter-Świda et al., 2019).

3.6.2. *Staphylococcus pseudintermedius*

No contexto da clínica de pequenos animais, *S. pseudintermedius* se destaca pela sua grande diversidade, associada a um alto nível de resistência aos antimicrobianos, especialmente as estirpes caracterizadas como MRSP (Fàbregas et al., 2023). Mundialmente, estirpes MRSP vem se tornando um grande problema para a saúde animal, devido ao fato de que comumente são caracterizadas como MDR, além de estarem relacionadas à dispersão de genes de resistência para outros estafilococos (Grönthal et al., 2014; Ferrer et al., 2021; Ruiz-Ripa et al., 2021).

Ademais, essas características também são intimamente relacionadas às linhagens genéticas de *S. pseudintermedius* presentes em diferentes continentes, especialmente os clones que albergam o SCC*mec* (Cassete Cromossômico *mec*) (Pires Dos Santos et al., 2016). Dependendo da região estudada, podem-se visualizar a dispersão e manutenção de determinados complexos clonais já estabelecidos e frequentemente isolados em animais de

companhia, principalmente cães (Pires Dos Santos et al., 2016; Soimala et al., 2020; Papić et al., 2021).

Os principais complexos clonais de *S. pseudintermedius* descritos mundialmente são o CC71 e CC258, presentes em países da Europa, o CC68 em regiões da América do Norte, CC45 e CC112, relatados em países asiáticos (Pires Dos Santos et al., 2016; Fàbregas et al., 2023). Já na América do Sul, existem estudos em poucos países. Até o momento, trabalhos na Argentina e Brasil revelaram a presença de integrantes do CC71, incluindo o ST71, mas também de isolados nunca antes descritos. Tais isolados foram encontrados tanto em cães infectados por MRSP, quanto em cães colonizados (Viegas et al., 2022; Santana et al., 2023; Srednik et al., 2023). Em relação à espécie felina, o ST71 é um dos principais perfis detectados, tanto em gatos saudáveis como doentes. No entanto, apresenta prevalência bem menor se comparada com a espécie canina (Bierowiec et al., 2021). Deve-se destacar que o ST71 está associado à resistência a diversas classes antimicrobianas (Damborg et al., 2016; Videla et al., 2018).

3.7. Controle e prevenção de MRS na clínica médica de pequenos animais

Devido ao ambiente hospitalar favorecer a colonização e disseminação de MRS entre os pacientes internados, algumas medidas de controle e prevenção são necessárias para impedir possíveis transmissões nos leitos de internação e salas de atendimento (Grönthal et al., 2014). A ausência de tais medidas pode levar a surtos causados por esses microrganismos. Grönthal e colaboradores (2014), relataram um grande surto em pacientes internados em um hospital universitário na Finlândia, na qual foram identificados 63 casos.

Para minimizar a dispersão das estirpes MRSP nos animais internados, a equipe responsável analisou possíveis fatores de risco que favoreciam a propagação do surto, tendo as lesões cutâneas (multifatoriais), uso de antimicrobianos independente do tempo prescrito e quantidade de dias permanecidos na UTI como os principais fatores para aquisição de MRSP. No Brasil, um estudo conduzido por Santana e colaboradores (2023) investigou a dinâmica de MRSP entre cães internados na UTI de um hospital veterinário. O tempo de internação e uso prévio de antimicrobianos foram os principais fatores para aquisição de estirpes MRSP. Ambos os estudos recomendam ações práticas focadas na higiene pessoal e uso de equipamentos de proteção ao manipular pacientes internados ou com histórico de MRSP durante a permanência no hospital, e principalmente, o uso correto de terapias antimicrobianas.

De fato, não há um programa registrado para o controle e prevenção de MRS na grande maioria das clínicas veterinárias, o que resulta na utilização de estratégias baseadas na

desinfecção dos leitos em que os animais permanecem durante o período de internação, além de boas práticas de higienização dos próprios profissionais veterinários, assim como dos equipamentos utilizados (Grönthal et al., 2014; Frosini et al., 2022). Além disso, estudos demonstram que o uso racional de antimicrobianos é essencial para diminuir a ocorrência de MRS infectando e colonizando animais de companhia, sendo monitorado pelo uso de técnicas que avaliam a resistência a antimicrobianos dessas estirpes, como por exemplo, o antibiograma (Grönthal et al., 2014; Walther et al., 2017; Hunter et al., 2021).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Amostragem e coleta de dados dos animais

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), sob o protocolo 287/2019. Entre junho a outubro do ano de 2022, foi realizada uma amostragem de conveniência de forma não probabilística, de gatos domiciliados e de felinos internados na Clínica Veterinária MedVet (Belo Horizonte, MG). Um *kit* contendo dois suabes estéreis, potes coletores e uma ficha clínica (Figura 3) foram entregues aos tutores de gatos não hospitalizados, assim como para a equipe da referida clínica. Informações adicionais julgadas importantes foram buscadas de forma individual com os tutores dos gatos amostrados. Ao todo, 218 suabes orais e axilares de 109 gatos foram coletados, acondicionados, armazenados sob refrigeração e enviados para processamento no Laboratório de Bacteriose e Pesquisa da Escola de Veterinária da UFMG (Belo Horizonte, Minas Gerais). Setenta e sete gatos (77/109 - 70,7%) eram de origem residencial e foram agrupados como gatos não hospitalizados, enquanto 32 (32/109 - 29,3%) eram originários de ambiente clínico, portanto, classificados no grupo de gatos hospitalizados. O fluxograma do processamento realizado no laboratório encontra-se resumido na figura 2.

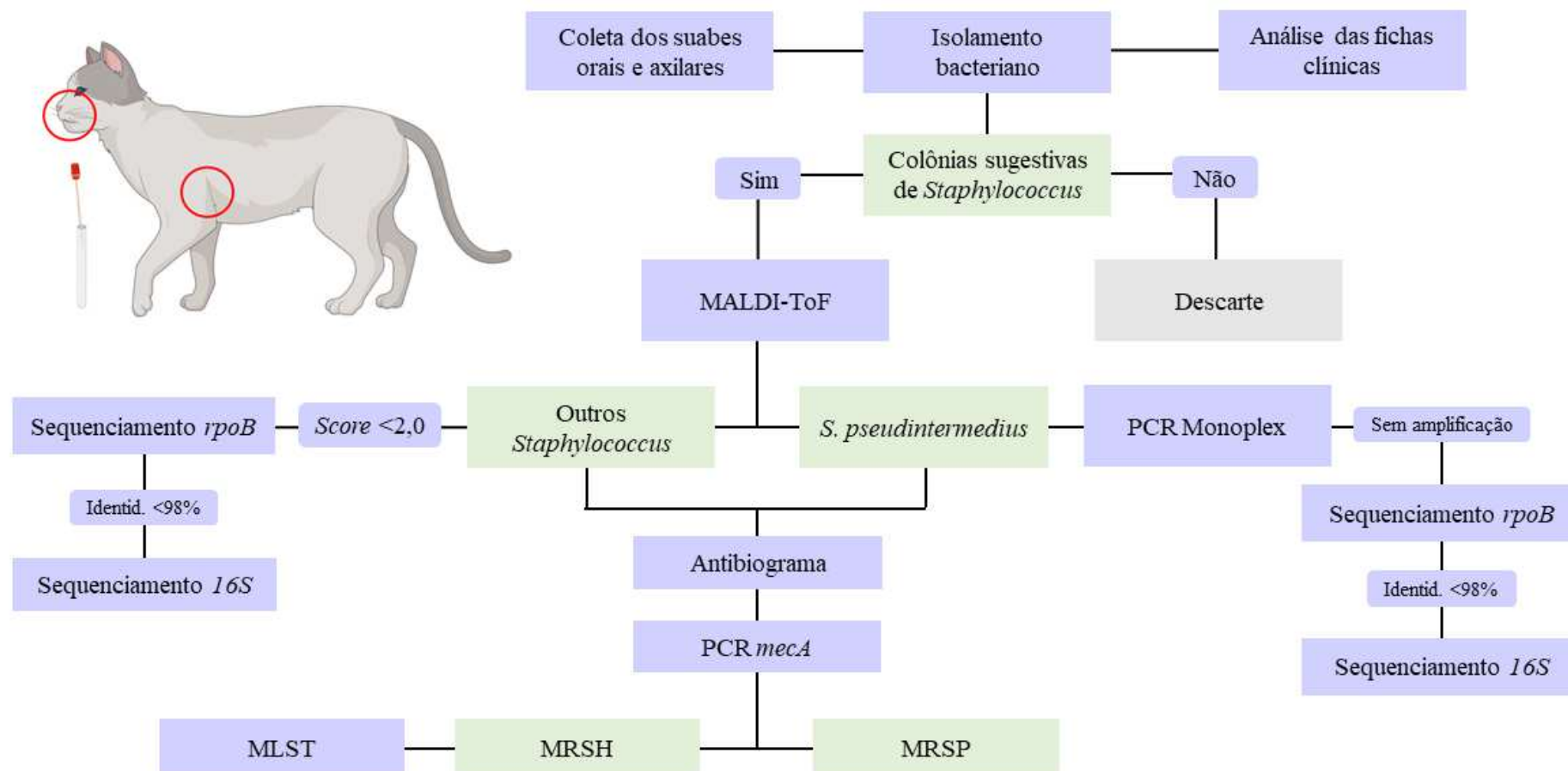


Figura 2. Fluxograma adotado para processamento das amostras do presente estudo. Em lilás estão os processos realizados em relação às amostras obtidas dos gatos amostrados (verde claro).

| | | | |
|--|---------------------------|---|---|
| Nome do animal | | | |
| Data | | | |
| Tutor | | Apenas para identificar animais da mesma origem | |
| Sexo | Macho () | Fêmea () | |
| Idade | | Aproximada, caso não seja conhecida | |
| Uso de antimicrobiano? (últimos 6 meses) | Sim () Qual? _____ | Não () | Se o tutor não lembrar, considerar não |
| Comorbidade conhecida? | Sim () Qual? _____ | Não () | Questionar sobre o histórico de doenças |
| Convívio com cães? | Sim () | Não () | |
| Convívio com gatos? | Sim () Quantos? _____ | Não () | |
| Observações | | | |
| Código interno: _____ | | | |

Figura 3. Ficha clínica utilizada para coleta de dados dos gatos amostrados no estudo.

4.2. Isolamento e identificação de *Staphylococcus* spp.

Para isolamento de *Staphylococcus* spp., os suabes foram plaqueados em ágar Manitol Salgado (MS – KASVI, Brasil) e incubados em condições de aerobiose, a 37°C por 24 horas. Após esse período, as colônias sugestivas eram semeadas em placas contendo ágar BHI - *Brain Heart Infusion* (HIMEDIA, Índia), repetindo as mesmas condições citadas anteriormente. A massa bacteriana das colônias sugestivas eram alíquotadas em caldo BHI - *Brain Heart Infusion*, (HIMEDIA, Índia) contendo 20% de glicerol e armazenadas em freezer à -20°C. Todos os isolados sugestivos foram submetidos à técnica de MALDI-ToF (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry*) a fim de identificar a espécie (Assis et al., 2017). Os isolados que possuíam escore MALDI-ToF <2,0 eram separados e submetidos à extração de DNA pelo método da guanidina (Pitcher et al., 1989). A pureza do DNA foi mensurada pelo aparelho NanoVue Plus Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, EUA) e, posteriormente, as amostras foram submetidas à técnica de sequenciamento do gene *rpoB* e *16S rRNA* (Fox et al., 1995; Mellmann et al., 2006).

4.3. Confirmação dos isolados *S. pseudintermedius*

Os isolados submetidos à técnica de MALDI-ToF identificados como pertencentes ao grupo SIG (*Staphylococcus intermedius* group) foram analisados pela técnica de PCR monoplex para detecção do gene *nuc* (*pse*) (tabela 1), com o intuito de confirmar a sua identidade (Sasaki et al., 2010). Como controle positivo, foi utilizado DNA de isolados

sabidamente confirmados como *S. pseudintermedius* (Santana et al., 2023) e para controle negativo, utilizou-se água ultra pura juntamente com os reagentes da reação de PCR.

Tabela 1. Sequência de iniciadores utilizados para identificação de *S. pseudintermedius*, tamanho do produto amplificado e referência bibliográfica utilizada.

| Iniciador | Sequência (5'→3') | Pares de base (pb) | Referência |
|--------------------|----------------------|--------------------|----------------------|
| <i>nuc (pse)</i> F | TRGGCAGTAGGATTCGTTAA | 926 | Sasaki et al. (2010) |
| <i>nuc (pse)</i> R | CTTTTGTGCTYCMTTTTGG | | |

4.4. Sequenciamento do gene *rpoB*

Os isolados bacterianos submetidos à técnica de MALDI-ToF que apresentaram escore <2,00 foram separados e analisados por PCR para detecção do gene *rpoB* (tabela 2) e posteriormente sequenciados, conforme Mellmann e colaboradores (2006). Os produtos da PCR foram sequenciados usando a ferramenta 3730 XL DNA *analyzer* (Applied Biosystems), tendo as sequências geradas, cortadas e analisadas pelo programa BioEdit Sequence Alignment Editor (disponível em <https://bioedit.software.informer.com>). As sequências obtidas foram comparadas com as sequências de referência do gênero pelo banco de dados GenBank do NCBI (disponível em <http://ncbi.nlm.nih.gov>), por meio da ferramenta nBLAST. Para que as espécies fossem confirmadas, os critérios utilizados foram: identidade $\geq 98\%$ e cobertura $>90\%$ (Mellmann et al., 2006).

Tabela 2. Sequência de primers utilizados para identificação das espécies de estafilococos pelo sequenciamento do gene *rpoB*, tamanho do produto amplificado e referência utilizada.

| Iniciador | Sequência (5'→3') | Pares de base (pb) | Referência |
|---------------------------------|------------------------|--------------------|------------------------|
| <i>rpoB</i> 1418 F | CAATTCATGGACCAAGC | 889 | Mellmann et al. (2006) |
| <i>rpoB</i> 3554 ^a R | CCGTCCCAAGTCATGAAAC | | |
| <i>rpoB</i> 1876 ^s R | GAGTCATCITYTCTAAGAATGG | | |

a= primer utilizado para amplificação na reação de PCR

s= primer utilizado para o sequenciamento do gene *rpoB*

4.5. Sequenciamento do gene *16S rRNA*

Os isolados que não obtiveram confirmação pela técnica de sequenciamento do gene *rpoB* foram submetidos ao sequenciamento do gene *16S rRNA* (Tabela 3), descrito por Fox e colaboradores (1995). Os produtos da PCR foram sequenciados e analisados usando as mesmas ferramentas utilizadas na técnica de sequenciamento do gene *rpoB*, descrita anteriormente. As

sequências obtidas foram comparadas com as sequências de referências do gênero pelo banco de dados GenBank do NCBI (disponível em <http://ncbi.nlm.nih.gov>), por meio da ferramenta nBLAST. Para confirmação das espécies, foram utilizados os critérios: identidade $\geq 97\%$ e cobertura $>90\%$ (Abellan-Schneyder et al., 2021).

Tabela 3. Sequência de primers utilizados para identificação das espécies de estafilococos pelo sequenciamento do gene *16S rRNA*, tamanho do produto amplificado e referência utilizada.

| Iniciador | Sequência (5'→3') | Pares de base (pb) | Referência |
|-----------|---------------------|--------------------|-------------------|
| C70 F | AGAGTTTGATYMTGGC | 1500 | Fox et al. (1995) |
| B37 R | TACGGYTACCTTGTTACGA | | |

4.6. Sensibilidade a antimicrobianos

Todos os isolados obtidos foram submetidos ao teste de disco-difusão, conforme recomendado pelo CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2021), para determinação dos seus perfis de resistência e sensibilidade a antimicrobianos. Os antimicrobianos selecionados foram: oxacilina (OXA: 1 µg), cefoxitina (CFO: 30 µg), penicilina (PEN: 10 UI), ciprofloxacina (CIP: 5 µg), cloranfenicol (CLO: 30 µg), clindamicina (CLI: 2 µg), eritromicina (ERI: 15 µg), gentamicina (GEN: 10 µg), nitrofurantoina (NIT: 300 µg), rifampicina (RIF: 5 µg), sulfametoxazol-trimetoprima (SUT: 1,25/23,75 µg) e tetraciclina (TET: 30 µg). Os *breakpoints* utilizados para a mensuração dos halos de inibição obtidos foram de acordo com as diretrizes do CLSI para patógenos veterinários VET01S-Ed5 e patógenos humanos M100-Ed31 (CLSI, 2021). *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923 foi utilizada como controle. Os isolados que apresentavam resistência a três ou mais classes antimicrobianas eram classificados como MDR (Sweeney et al., 2018).

4.7. Identificação de *Staphylococcus* resistentes à meticilina

Os isolados que apresentaram resistência à oxacilina ou cefoxitina no método de disco-difusão foram submetidos à PCR para detecção do gene *mecA* (Tabela 4) (Murakami et al., 1991). De acordo com o CLSI (2021), resistência fenotípica à oxacilina é preditora para resistência à meticilina em *S. pseudintermedius*, *S. epidermidis* e *S. schleiferi* e cefoxitina para *S. aureus*, *S. lugdunensis*, *S. epidermidis* e estafilococos não identificados à nível de espécie. Ambos antimicrobianos foram testados em todas as estirpes, para avaliar o comportamento da resistência. Para controle positivo, foi utilizada uma estirpe de referência contendo o gene *mecA* oriunda de estudos anteriores (Viegas et al., 2022; Santana et al., 2023) e como controles

negativos foi utilizada água ultrapura com os demais reagentes da PCR e, também, DNA de isolados sensíveis a oxacilina/cefoxitina.

Tabela 4. Sequências de primers utilizados para detecção do gene *mecA*, pares de base e referência utilizada.

| Iniciador | Sequência (5'→3') | Pares de base (pb) | Referência |
|---------------|------------------------|--------------------|------------------------|
| <i>mecA</i> F | AAAATCGATGGTAAAGGTTGG | 533 | Murakami et al. (1991) |
| <i>mecA</i> R | AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC | | |

4.8. Caracterização molecular por MLST de *S. haemolyticus* resistentes à metilina

As estirpes caracterizadas como MRSH foram submetidas à amplificação dos sete genes utilizados na técnica de MLST, descrito anteriormente por Cavanagh et al. (2012) e Panda et al. (2016). Os primers utilizados para amplificação dos genes estão descritos na tabela 5. Os produtos foram sequenciados utilizando a ferramenta 3730 XL DNA analyzer (Applied Biosystems), tendo os cortes e alinhamentos das sequências organizadas pelo programa MEGA X (disponível em <https://www.megasoftware.net/>). Os alelos e STs foram analisados de acordo com a base de dados do PubMLST de *Staphylococcus haemolyticus* (<http://pubmlst.org/shaemolyticus/>).

Uma árvore do tipo *minimum spanning tree* foi gerada para visualização dos complexos clonais, por meio da ferramenta *Based Upon Related Sequence Types* (eBURST), pelo programa PHYLOViZ (<http://www.phyloviz.net/>). Para definição dos complexos clonais, os agrupamentos de STs deveriam ao menos compartilhar seis alelos (Maiden et al., 2013). As comparações foram realizadas com base nas sequências disponíveis dos setes genes de MLST de *S. haemolyticus*. Uma árvore filogenética foi criada através do programa MEGA X (disponível em <https://www.megasoftware.net/>) com o modelo de Neighbor-Joining, configurada pelo iTOL v.4 (Cavanagh et al., 2012; Panda et al., 2016; Letunic e Bork, 2021).

Tabela 5. Primers utilizados para amplificação dos sete genes de estirpes MRSH no MLST, tamanho do produto amplificado (pb) e referência utilizada.

| Iniciador | Sequência (5'→3') | Pares de base (pb) | Referência |
|------------------|-----------------------|--------------------|------------|
| <i>Arc</i> F | AGTGACTCAGTTGAA | 520 | |
| <i>Arc</i> R | AATCTTACCATCTAGG | | |
| <i>SH 1200</i> F | CGGTAATGTAACACACGCAGT | 450 | |
| <i>SH 1200</i> R | TCTTCCTAGTAGCTGACCAG | | |
| <i>HemH</i> F | CTGATCGTCAAGCTGAAGCAT | | |

| | | | |
|---------------------|------------------------|-----|---------------------------|
| <i>HemH</i> R | GTACCTGTGTGACCCTCAGA | 450 | Cavanagh et al. (2012) |
| <i>LeuB</i> F | AGCCATAGATTTCGCATGGTGT | 450 | |
| <i>LeuB</i> R | CCTAATGAACCTGGAATGGTAG | | |
| <i>SH 1431</i> F | TCAGACCAATTCCCAACC | 450 | |
| <i>SH 1431</i> R | CTTTAGCGTCACGATGGTTCG | | |
| <i>cfxE</i> F | GAAGCACAAATTGATGGTCTGC | 450 | |
| <i>cfxE</i> R | TCTGCCCCATTATCAACACA | | |
| <i>Ribose ABC</i> F | GAGACGATTTCAGCTAAGCAA | 450 | |
| <i>Ribose ABC</i> R | CGCCTTTCATTAGGCCATTA | | |

4.9. Análise estatística

As comparações dos resultados entre grupos foram analisadas através do teste Exato de Fisher e Qui-quadrado, disponíveis na plataforma GraphPad (link para acesso à plataforma: <https://www.graphpad.com/quickcalcs/contingency1/>) e pela plataforma do programa Stata 14.0 (link para acesso ao programa: <https://www.stata.com/stata14/>). Para as variáveis que obtiveram significância estatística, foi aplicado a razão de chances (OR), através da plataforma Select Statistical Services (link para acesso à plataforma: <https://select-statistics.co.uk/calculators/confidence-interval-calculator-odds-ratio/>).

5. RESULTADOS

5.1. Dados epidemiológicos

Do total de 109 animais amostrados, 56 gatos (56/109 - 51,3%) eram fêmeas e 53 (53/109 - 48,7%) eram machos, tendo em média 56 meses (mediana = 36 meses). A maioria dos animais estudados não tinha acesso à rua (68/109 - 62,3%), e três tutores não forneceram tais informações (3/109 - 2,7%). Quarenta gatos possuíam contato com a espécie canina (40/109 - 36,6%), sendo que 15 (15/40 - 37,5%) conviviam com um a dois cães, 24 (24/40 - 60%) conviviam com mais de dois cães, e para um animal o tutor não informou. A maioria dos gatos conviviam com outros da mesma espécie (86/109 - 78,8%), com 42 (42/86 - 48,8%) convivendo entre um a dois gatos e 37 (37/86 - 43,1%) residindo com mais de dois gatos. Em relação ao uso de antimicrobianos, 19 gatos (19/109 - 17,4%) possuíam histórico de utilização de pelo menos uma base antimicrobiana, sendo que as principais indicadas foram cefalotina (7/19 - 36,8%), ceftriaxona (6/19 - 31,5%), metronidazol (4/19 - 21,1%) e clindamicina (4/19 - 21,1%). Cerca de 40 gatos possuíam pelo menos uma comorbidade (40/109 - 36,6%), das mais variadas etiologias (tumoriais, autoimunes, fúngicas, bacterianas e virais) (tabela X).

Tabela 6. Comorbidades indicadas pelos tutores na ficha clínica de gatos não hospitalizados e hospitalizados de Belo Horizonte, Minas Gerais.

| Comorbidade | Gatos não hospitalizados (%) | Gatos hospitalizados (%) | Total (%) |
|--------------------------------------|------------------------------|--------------------------|-----------|
| Obstrução Uretral | 0 (0,0) | 8 (25) | 8 (7,5) |
| FeLV | 4 (5,2) | 4 (12,5) | 8 (7,5) |
| Carcinoma de Células Escamosas (CCE) | 0 (0,0) | 2 (6,6) | 2 (1,8) |
| Doença Renal Crônica (DCR) | 1 (1,3) | 2 (6,6) | 3 (2,7) |
| Doença Renal Aguda (IRA) | 0 (0,0) | 1 (3,2) | 1 (0,9) |
| Dermatite atópica | 1 (1,3) | 0 (0,0) | 1 (0,9) |
| Lipidose | 0 (0,0) | 2 (6,6) | 2 (1,8) |
| Toxoplasmose | 1 (1,3) | 1 (3,2) | 2 (1,8) |
| Micoplasmose | 0 (0,0) | 1 (3,2) | 1 (0,9) |
| Bronquite Alérgica | 1 (1,3) | 0 (0,0) | 1 (0,9) |
| Cardiomiopatia | 1 (1,3) | 0 (0,0) | 1 (0,9) |
| Colangite | 0 (0,0) | 1 (3,2) | 1 (0,9) |
| Tríade Felina | 0 (0,0) | 2 (6,6) | 2 (1,8) |
| Peritonite Infecciosa Felina (PIF) | 0 (0,0) | 1 (3,2) | 1 (0,9) |
| Obesidade | 1 (1,3) | 0 (0,0) | 1 (0,9) |
| Doença Inflamatória Intestinal | 0 (0,0) | 1 (3,2) | 1 (0,9) |
| Cardiomiopatia hipertrófica | 1 (1,3) | 0 (0,0) | 1 (0,9) |
| Pneumotórax | 0 (0,0) | 1 (3,2) | 1 (0,9) |
| Pielonefrite | 0 (0,0) | 1 (3,2) | 1 (0,9) |
| Hipertensão arterial | 0 (0,0) | 1 (3,2) | 1 (0,9) |
| Total (%) | 11 (10,1) | 29 (26,7) | 40 (36,6) |

5.2. Identificação das espécies estafilocócicas

Do total de 81 isolados obtidos de 58 gatos domésticos (53,2%), 57 (57/81 - 70,3%) foram isolados de gatos não hospitalizados e 24 (24/81 - 29,6%) foram isolados de gatos hospitalizados. Não houve diferença estatística entre o total de isolados pertencentes à gatos não hospitalizados e gatos hospitalizados ($p=0,9156$). Em relação ao sítio axilar, 31 (31/81 - 38,2%) isolados foram obtidos, sendo 18 (58,1%) de gatos não hospitalizados e 13 (41,9%) de gatos hospitalizados. Do sítio oral obteve-se um total de 50 isolados (50/81 - 61,7%), divididos em 39 (78%) de gatos não hospitalizados e 11 (22%) de gatos hospitalizados.

Sessenta e cinco isolados (65/81 - 80,2%) foram identificados com escore acima de 2,0 pela técnica de MALDI-ToF. Oito isolados (8/81 - 9,8%) identificados como *S. pseudintermedius* foram confirmados pela PCR do gene *nuc (pse)*, sendo a única espécie isolada pertencente ao grupo SIG. Dezesesseis isolados (16/81 - 19,7%) foram submetidos ao sequenciamento do gene *rpoB*, na qual 12 obtiveram sua identidade confirmada. Quatro isolados (4,9%) foram submetidos ao sequenciamento do gene *16S rRNA*, e todos obtiveram a confirmação da sua identidade pela técnica.

S. felis foi a espécie mais comumente isolada no presente estudo (20/81 - 24,7%) (Tabela 6), seguida de *S. epidermidis* (11/81 - 13,6%), *S. pseudintermedius* (8/81 - 9,8%) e *S. haemolyticus* (7/81 - 8,6%). *S. pseudintermedius* foi a espécie superior em gatos hospitalizados (6/24 - 25%) ($p= 0,0031$) tanto no sítio oral (27,3%), como no axilar (23,1%).

Tabela 7. Distribuição das espécies estafilocócicas isoladas de acordo com a categoria dos gatos amostrados e seus respectivos sítios.

| Espécies isoladas | Gatos não hospitalizados | | | Gatos hospitalizados | | | p valor* | Total (%) |
|----------------------------|--------------------------|-----------------|-----------------|----------------------|-----------------|-----------------|---------------|-----------------|
| | Oral (%) | Axilar (%) | Total (%) | Oral (%) | Axilar (%) | Total (%) | | |
| <i>S. felis</i> | 15 (38,5) | 1 (5,5) | 16 (28,1) | 2 (18,2) | 2 (15,4) | 4 (16,7) | 0,2771 | 20 (24,7) |
| <i>S. epidermidis</i> | 5 (12,8) | 5 (27,8) | 10 (17,5) | 0 (0,0) | 1 (7,7) | 1 (4,2) | 0,4699 | 11 (13,5) |
| <i>S. pseudintermedius</i> | 0 (0,0) | 2 (11,1) | 2 (3,5) | 3 (27,3) | 3 (23,1) | 6 (25,0) | 0,0031 | 8 (9,9) |
| <i>S. haemolyticus</i> | 1 (2,6) | 2 (11,1) | 3 (5,3) | 2 (18,2) | 2 (15,4) | 4 (16,7) | 0,4226 | 7 (8,6) |
| <i>S. aureus</i> | 5 (12,8) | 0 (0,0) | 5 (8,8) | 1 (9,1) | 0 (0,0) | 1 (4,2) | 0,4699 | 6 (7,4) |
| <i>S. capitis</i> | 3 (7,7) | 2 (11,1) | 5 (8,8) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0,1342 | 5 (6,2) |
| <i>S. xylosus</i> | 2 (5,1) | 2 (11,1) | 4 (7,0) | 1 (9,1) | 0 (0,0) | 1 (4,2) | 0,6264 | 5 (6,2) |
| <i>S. warneri</i> | 2 (5,1) | 1 (5,5) | 3 (5,3) | 0 (0,0) | 1 (7,7) | 1 (4,2) | 0,8352 | 4 (4,9) |
| <i>S. pettenkoferi</i> | 1 (2,6) | 0 (0,0) | 1 (1,7) | 1 (9,1) | 1 (7,7) | 2 (8,3) | 0,1522 | 3 (3,7) |
| <i>S. pseudoxylosum</i> | 0 (0,0) | 1 (5,5) | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 1 (7,7) | 1 (4,2) | 0,5229 | 2 (2,5) |
| <i>S. simulans</i> | 2 (5,1) | 0 (0,0) | 2 (3,5) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0,3528 | 2 (2,5) |
| <i>S. lentus</i> | 1 (2,6) | 1 (5,5) | 2 (3,5) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0,3528 | 2 (2,5) |
| <i>S. saprophyticus</i> | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (7,7) | 1 (4,2) | 0,1210 | 1 (1,2) |
| <i>S. nepalensis</i> | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (9,1) | 0 (0,0) | 1 (4,2) | 0,1210 | 1 (1,2) |
| <i>S. hominis</i> | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (7,7) | 1 (4,2) | 0,1210 | 1 (1,2) |
| <i>S. lugnudensis</i> | 0 (0,0) | 1 (5,5) | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0,1210 | 1 (1,2) |
| <i>S. sciuri</i> | 1 (2,6) | 0 (0,0) | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0,1210 | 1 (1,2) |
| <i>Staphylococcus sp.</i> | 1 (2,6) | 0 (0,0) | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0,1210 | 1 (1,2) |
| Total (%) | 39 (100) | 18 (100) | 57 (100) | 11 (100) | 13 (100) | 24 (100) | 0,9156 | 81 (100) |

*calculado a partir da soma entre gatos não hospitalizados e gatos hospitalizados (descritivo)

5.3. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos e espécies estafilocócicas resistentes à meticilina

No geral, resistência à penicilina foi superior nos isolados obtidos (50/81 - 61,7%) ($p=0,0001$) seguida de oxacilina e eritromicina (35,8% e 32%, respectivamente). Por outro lado, nitrofurantoina (81/81 - 100%) destacou-se pela superioridade de isolados sensíveis ($p<0,0001$) seguido de cloranfenicol e ciprofloxacino (98,7% e 87,7%, respectivamente) (figura 4).

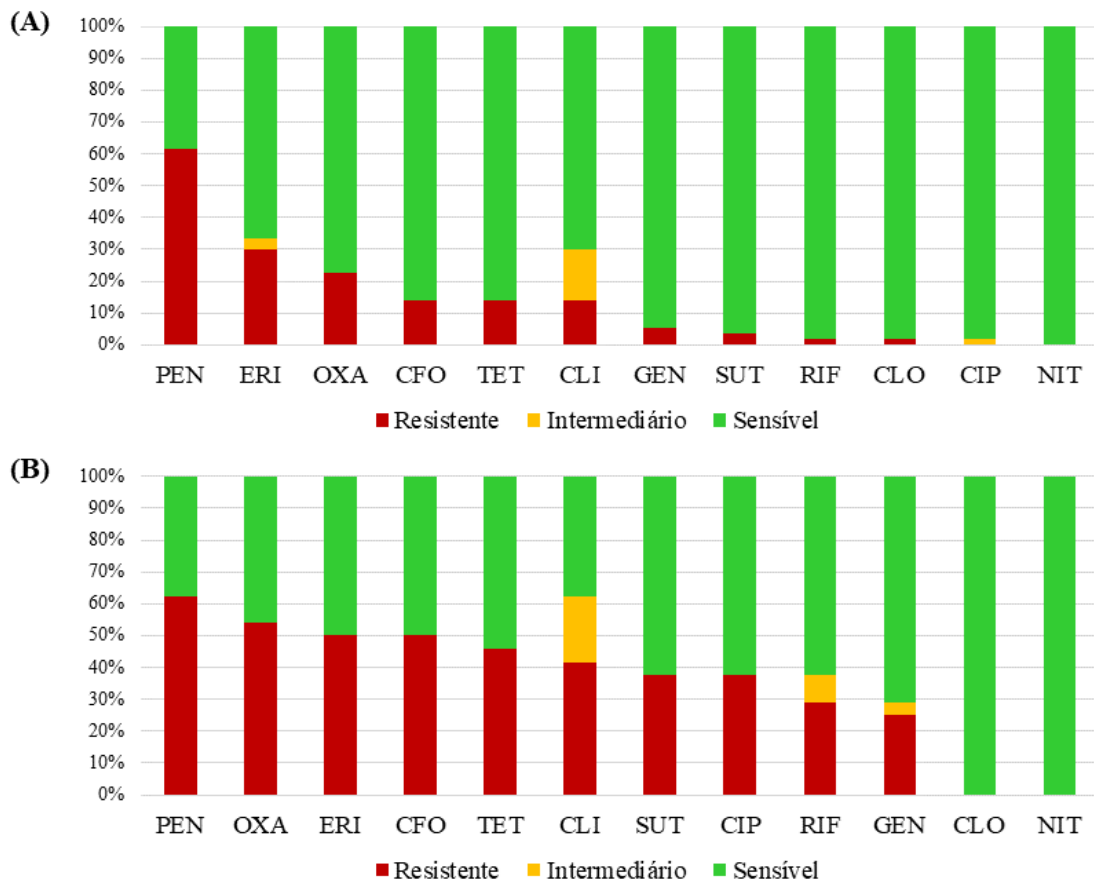


Figura 4. Perfil de resistência antimicrobiana dos isolados de gatos não hospitalizados (A) e hospitalizados (B).

Treze isolados identificados como *S. felis* foram sensíveis a todos os antimicrobianos (13/20 - 65%), sendo que dez isolados (10/13 - 77%) foram provenientes de gatos não hospitalizados e três (3/13 - 23,1%) de gatos hospitalizados. Vinte e um isolados (21/81 - 26%) foram classificados como multirresistentes, tendo uma frequência superior em gatos hospitalizados (12/24 - 50%) ($p=0,0013$) e nove (9/57 - 15,8%) em gatos não hospitalizados (Figura 5). A presença de multirresistência foi superior na espécie *S. pseudintermedius* (6/21 -

28,6%) ($p= 0,0008$), na qual cinco estirpes pertenciam a gatos hospitalizados, sendo isoladas tanto do sítio oral como do axilar.

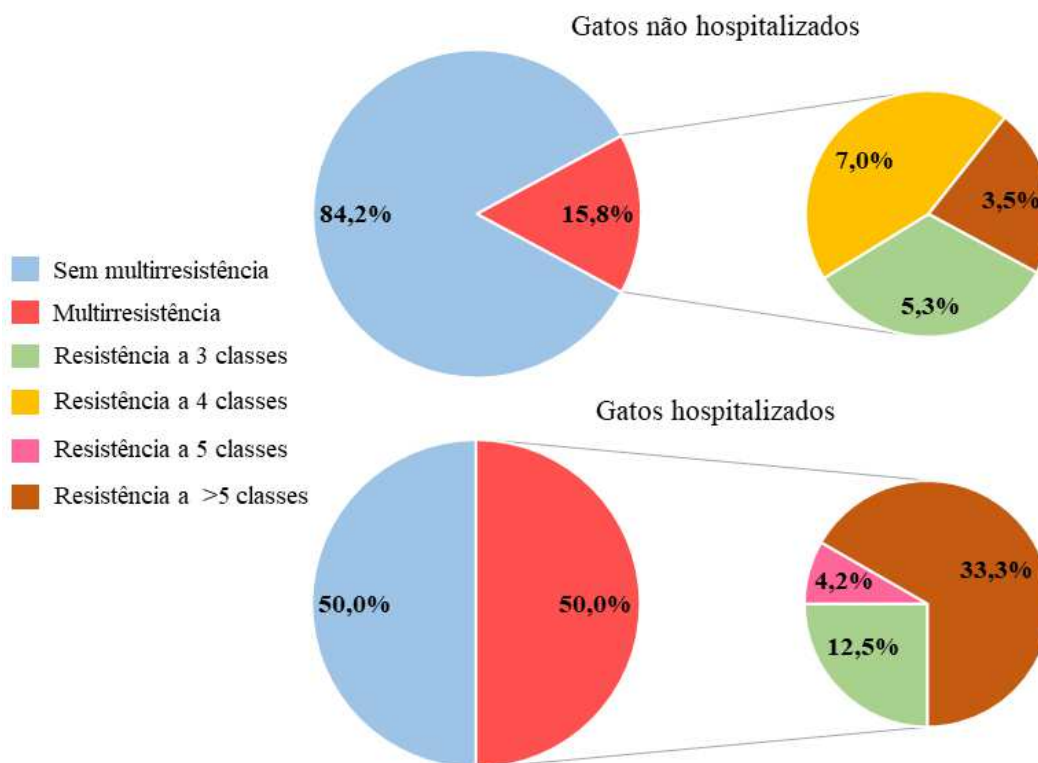


Figura 5. Demonstração do percentual de isolados estafilocócicos multirresistentes de acordo com a categoria dos animais amostrados.

Quinze isolados (15/81 - 18,5%) foram positivos para a presença do gene *mecA*, portanto, sendo caracterizados como resistentes à meticilina. Fenotipicamente, 13 isolados (86,7%) apresentaram resistência à oxacilina e cefoxitina e duas estirpes apresentaram resistência à cefoxitina (13,3%). Seis isolados (6/15 - 40%) resistentes à meticilina foram detectados em gatos não hospitalizados e nove (9/15 - 60%) foram detectados em gatos hospitalizados, havendo uma associação entre a hospitalização desses animais e a presença de isolados MDR/MRS ($p= 0,0388$). Cinco MRSP de três diferentes animais foram detectados (5/15 - 33,3%), todos pertencentes a gatos hospitalizados, sendo três recuperados do sítio oral e dois identificados no sítio axilar. As outras espécies resistentes à meticilina (MRS) foram *S. haemolyticus* (4/15 - 26,7%), *S. epidermidis*, *S. lentus* (ambos 2/15 - 13,3%), *S. pettenkoferi* e *S. capitis* (ambos 1/15 - 6,7%) (figura 6). Não houve a detecção de isolados MRSA no presente estudo.

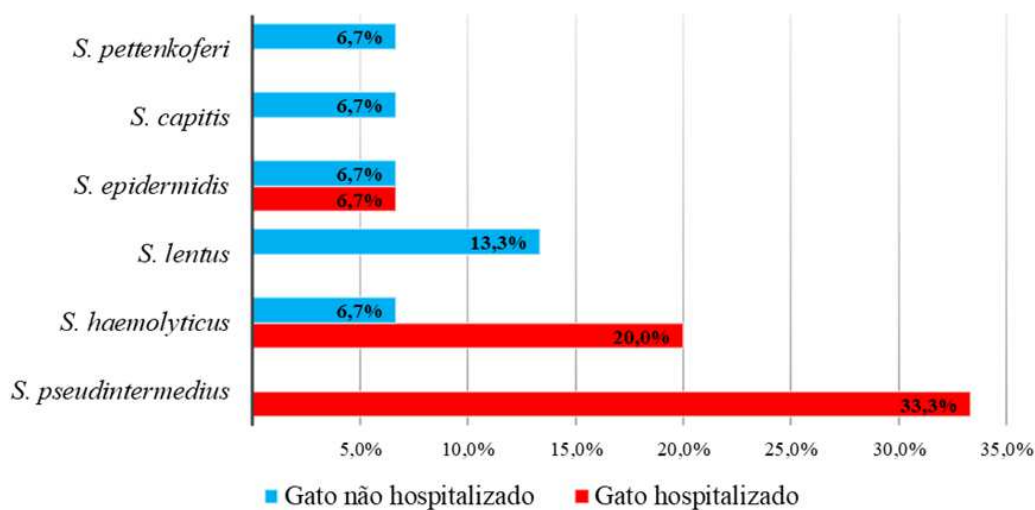


Figura 6. Espécies estafilocócicas MRS encontradas no presente estudo. As barras vermelhas representam os MRSP obtidos de gatos hospitalizados e as barras azuis indicam os MRSP recuperados de gatos não hospitalizados.

5.4. *S. haemolyticus* resistente à meticilina (MRSH)

Foram detectados quatro isolados *S. haemolyticus* (26,6%) resistentes à meticilina, três obtidos de gatos hospitalizados e um obtido de um gato em domicílio. Os três gatos hospitalizados possuíam comorbidades e estavam sob tratamento antimicrobiano. Já o gato não hospitalizado estava saudável e sem histórico de uso de antimicrobiano. Esse animal, porém, possuía acesso à rua e o tutor nos informou que sua residência era próxima de um hospital humano (350 metros).

Os três isolados MRSH de gatos hospitalizados possuíam o mesmo perfil fenotípico de resistência (resistentes a OXA-CFO-PEN-GEN-ERI-CLI-CIP-SUT-RIF-TET), sendo todas sensíveis a cloranfenicol e nitrofurantoina. Dois deles foram recuperados do sítio oral e um do sítio axilar, e o intervalo de coleta entre eles foi relativamente próximo (nove dias no total). O isolado MRSH recuperado de um gato não hospitalizado possuía um perfil de resistência diferente dos isolados citados anteriormente (OXA-CFO-PEN-ERI-TET), sendo sensível à gentamicina, clindamicina, ciprofloxacina, sulfametoxazol-trimetoprima, cloranfenicol, rifampicina e nitrofurantoina.

Na análise MLST, foram detectados dois perfis alélicos já conhecidos e descritos no banco de dados do PubMLST de *S. haemolyticus*: ST3, representado pelos três isolados de gatos hospitalizados, e ST8, caracterizando o isolado MRSH detectado em um gato não hospitalizado.

Na análise eBURST, foi observado que o ST3 é o fundador de um complexo clonal (CC3), do qual o ST8 parece descender, com variação de apenas dois *loci* (DLV) (Figuras 7 e 8).

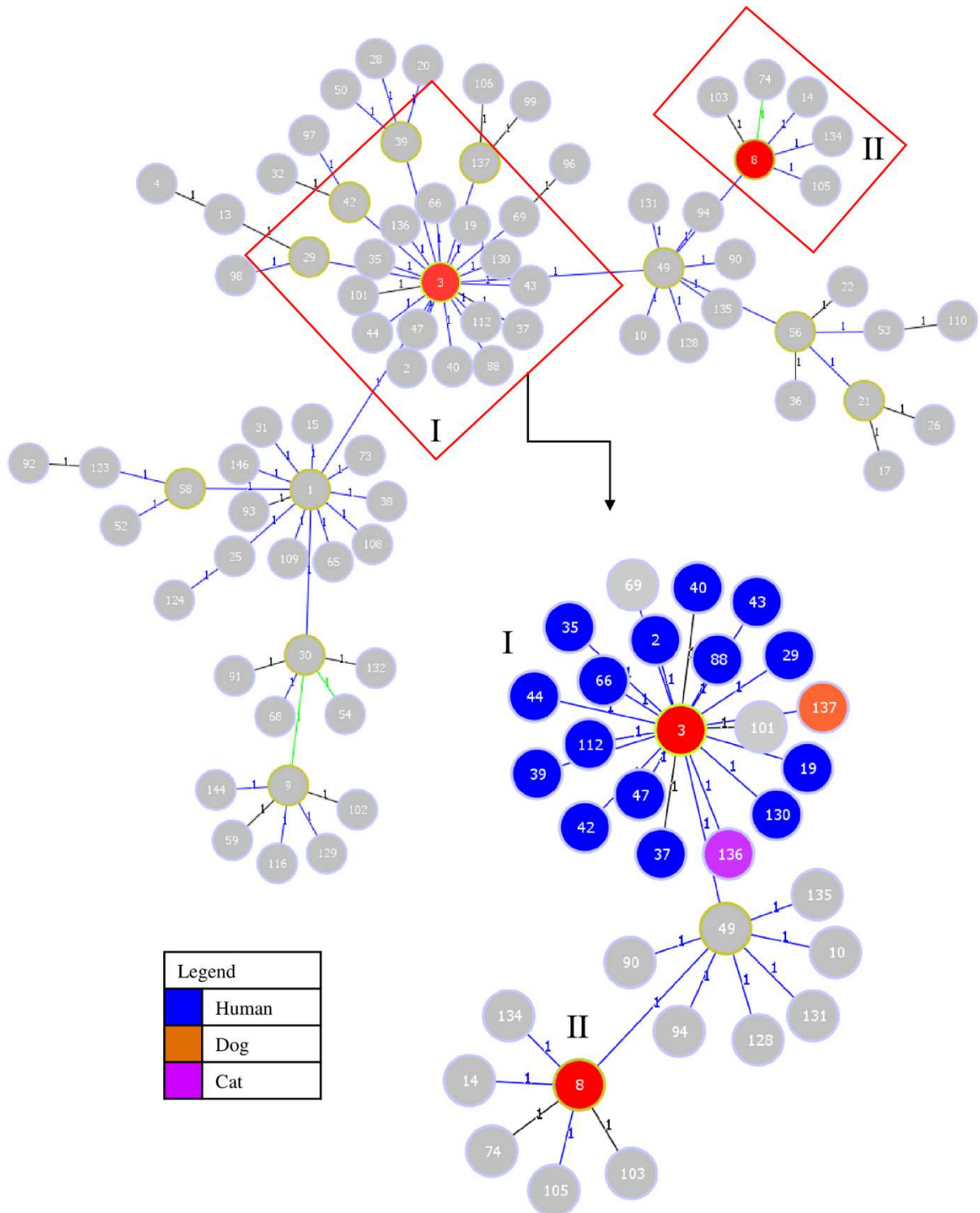


Figura 7. Análise eBURST configurada pelo programa PHYLOViZ com a população de *S. haemolyticus*, considerando apenas SLV. Em cinza estão os STs depositados no banco de dados do PubMLST e em vermelho os STs detectados no presente estudo. No corte I é observado o

CC3, na qual o ST3 é o fundador, agrupando STs relatados em humanos (em azul), um ST relatado em cão (137, laranja) e um ST relatado em um felino doméstico (136, lilás). No corte II é observado o ST8, evolutivamente próximo ao CC3.

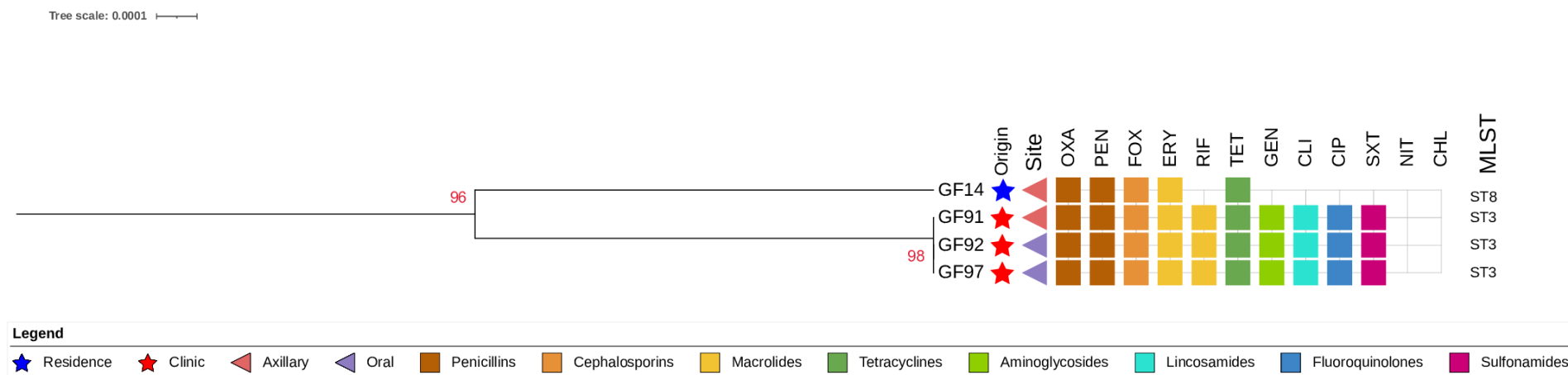


Figura 8. Árvore filogenética formulada através da análise dos setes genes concatenados do MLST de *S. haemolyticus*, pelo programa iTOL. Estrelas em vermelho indicam os isolados encontrados em gatos hospitalizados (clínica) e a estrela azul indica o isolado encontrado em um gato não hospitalizado (residência). Triângulos indicam o sítio na qual os isolados foram encontrados e quadrados coloridos demonstram o perfil de resistência antimicrobiana.

5.5. Fatores de risco para colonização por MDR/MRS

Não houve associação entre colonização por estirpes MDR/MRS, sexo, faixa etária dos animais, convívio com outros animais ou acesso à rua. Já o uso de antimicrobianos, a hospitalização, bem como a presença de comorbidades foram associados à aquisição de estafilococos MDR/MRS ($p < 0,05$) (Tabela 7). Animais com histórico de tratamento antimicrobiano, em ambiente hospitalar e com presença de comorbidades apresentaram 14 vezes, cerca de quatro vezes e aproximadamente três vezes mais chance de adquirirem estafilococos MDR/MRS, respectivamente.

Tabela 8. Variáveis analisadas como fatores de risco para aquisição de isolados MDR/MRS em gatos domésticos.

| Variável | *MDR/MRS | <i>p value</i> | <i>Odds Ratio</i> |
|--------------------------------------|----------|---------------------------|-------------------|
| Sexo | | | |
| Fêmeas | 7/56 | $p = 0,3059$ | - |
| Machos | 11/53 | | |
| Faixa etária | | | |
| 1 mês à 2 anos (A) | 10/36 | $A \times B \ p = 0,2978$ | - |
| 2 anos à 6 anos (B) | 8/45 | | |
| 6 anos à > 10 anos (C) | 4/28 | $B \times C \ p = 0,7574$ | |
| Convívio com outros animais** | | | |
| Sim | 14/90 | $p = 1,0000$ | - |
| Não | 1/12 | | |
| Acesso à rua** | | | |
| Sim | 6/38 | $p = 1,0000$ | - |
| Não | 10/68 | | |
| Comorbidades | | | |
| Sim | 11/40 | $p = 0,0304$ | 2,71 |
| Não | 7/69 | | |
| Hospitalização | | | |
| Sim | 9/32 | $p = 0,0388$ | 3,38 |
| Não | 8/77 | | |
| Uso de antimicrobianos | | | |
| Sim | 11/20 | $p < 0,0001$ | 14,32 |
| Não | 7/89 | | |

*por animal

**sem contabilizar Não Informado (NI)

6. DISCUSSÃO

O presente estudo identificou e analisou as espécies estafilocócicas que colonizam gatos não hospitalizados e gatos hospitalizados, bem como verificou o perfil de resistência de isolados recuperados do sítio oral e axilar desses animais. Foram isoladas 81 estirpes estafilocócicas de

58 gatos domésticos, em que a maioria era pertencente a gatos não hospitalizados (70,3%). Esse percentual de isolamento em gatos não hospitalizados pode estar associado ao menor uso de antimicrobianos nesses animais no período do estudo, permitindo uma maior detecção de isolados estafilocócicos. Do contrário, gatos hospitalizados são mais expostos ao uso de antibioticoterapia, na qual pode interferir tanto na sensibilidade de isolamento de estafilococos, quanto nas espécies isoladas (SanMiguel et al., 2017; Tizard e Jones, 2018).

Do total de isolados obtidos, 65 (80,2%) foram identificados pela técnica de MALDI-ToF, demonstrando uma ótima eficácia para determinar as espécies estafilocócicas dos gatos amostrados. Esse método, amplamente empregado para a identificação de espécies bacterianas devido à sua rapidez e confiabilidade dos resultados, está cada vez mais presente em estudos científicos e na clínica médica humana (Florio et al., 2019; Tsuchida et al., 2020; Oviaño e Rodríguez-Sánchez, 2021). De fato, a literatura sugere que o MALDI-ToF é eficiente na detecção da maioria das espécies de *Staphylococcus* spp., tanto CoNS quanto CoPS (Kim et al., 2019; Teixeira et al., 2019; Wanecka et al., 2019; Pérez-Sancho et al., 2020).

Uma exceção são as espécies pertencentes ao grupo SIG, onde a especificidade do MALDI-ToF para diferenciação dentro do grupo é menor (Murugaiyan et al., 2014; Silva et al., 2015). Para garantir a correta identificação no presente estudo, todos os isolados identificados como *S. pseudintermedius* por MALDI-ToF foram submetidos à técnica de PCR para detecção do gene *nuc* (Murugaiyan et al., 2014; Silva et al., 2015; Yarbrough et al., 2018). Com esse algoritmo, apenas 16 das 81 amostras (19,75%) necessitaram de sequenciamento dos genes *rpoB* e/ou *16S rRNA*, finalizando as etapas de identificação do presente estudo.

Observou-se que gatos não hospitalizados possuíam uma maior diversidade de espécies estafilocócicas, corroborando com o estudo realizado por Bierowiec e colaboradores (2019), que avaliou o perfil de colonização estafilocócica em gatos saudáveis e doentes na Polônia. Sugere-se que esse achado pode estar relacionado ao equilíbrio da microbiota em relação aos outros microrganismos colonizadores, que permite uma maior diversificação de espécies bacterianas, sobretudo estafilococos (Rossi et al., 2017; Bierowiec et al., 2019; Sondorová et al., 2021). Nesse grupo, o sítio oral obteve o maior número de isolados estafilocócicos, sendo identificadas espécies já descritas em estudos anteriores sobre a microbiota oral de gatos saudáveis (Rossi et al., 2017; Sondorová et al., 2021).

S. felis foi a espécie mais comum isolada no presente estudo, principalmente do sítio oral de gatos não hospitalizados. Extremamente adaptada aos felinos domésticos, *S. felis* é o

principal representante estafilocócico compondo a microbiota de gatos saudáveis (Bierowiec et al., 2019; Older et al., 2021). As outras espécies frequentemente isoladas nos gatos não hospitalizados no presente estudo, como *S. epidermidis*, *S. aureus* e *S. capitis*, já foram descritas colonizando gatos saudáveis, sugerindo que podem fazer parte da microbiota desses animais (Bierowiec et al., 2019; Cheung e Chan, 2022; Abdullahi et al., 2022).

S. aureus foi isolado majoritariamente da cavidade oral de gatos não hospitalizados, o que difere de alguns estudos, na qual essa espécie foi comumente identificada na pele e narinas de felinos domésticos (Bierowiec et al., 2016; Bierowiec et al., 2019; Abdullahi et al., 2022). Esse resultado pode ser explicado devido a cavidade nasal e oral se comunicarem pela orofaringe, havendo uma distribuição de *S. aureus* em ambos os sítios (Ma et al., 2020). Além disso, os felinos possuem o hábito de se lamberem constantemente, o que pode favorecer o transporte de *S. aureus* da pele para a cavidade oral desses animais e vice-versa (Khairullah et al., 2023; Waruwu et al., 2023).

No que se refere aos gatos hospitalizados, foi observado uma menor diversidade de espécies, sendo estes isolados recuperados similarmente do sítio oral e axilar. A espécie mais frequentemente isolada de gatos hospitalizados foi *S. pseudintermedius*, o que chama atenção, já que essa espécie é um comum colonizador de cães, mas também um importante patógeno associado a doenças cutâneas e feridas cirúrgicas nessa espécie (Viegas et al., 2022; Fàbregas et al., 2023; Santana et al., 2023). Neste trabalho, foi possível observar que gatos doentes são mais predispostos a serem colonizados por *S. pseudintermedius*, corroborando com estudos anteriores (Bierowiec et al., 2019; Bierowiec et al., 2021). A segunda espécie mais isolada de gatos hospitalizados foi *S. haemolyticus*, patógeno comumente associado à infecções hospitalares, sobretudo causando sepse em bebês prematuros e infecções nosocomiais diversas em adultos internados em UTIs (Czekaj et al., 2015; Westberg et al., 2022; Lin et al., 2022). O presente achado corrobora ainda com estudos anteriores que identificaram *S. haemolyticus* em cães e gatos com histórico de hospitalização (Bierowiec et al., 2019; Citron et al., 2023).

Como mencionado anteriormente, gatos hospitalizados são mais expostos aos antimicrobianos, situação que possivelmente favorece uma menor diversificação de espécies estafilocócicas na microbiota oral e cutânea (Ferrer et al., 2017; Bierowiec et al., 2019). Dessa forma, algumas estirpes, geralmente mais resistentes e adaptadas as terapias antimicrobianas, tendem a ser isoladas, como *S. pseudintermedius* e *S. haemolyticus* (Rademacher et al., 2021; Jo et al., 2021). Ambas espécies são conhecidas ainda por apresentarem certa adaptabilidade ao

ambiente hospitalar, sendo associadas a uma diversidade de infecções, o que, a partir dos resultados descritos neste estudo, se torna um fator de risco preocupante de disseminação desses patógenos aos animais internados, mas potencialmente também aos veterinários, bem como aos tutores (Czekaj et al., 2015; Eltwisy et al., 2022; Abdullahi et al., 2022).

Notoriamente, gatos hospitalizados tiveram 50% de seus isolados estafilocócicos resistentes a três ou mais classes antimicrobianas, percentual elevado ao de gatos não hospitalizados (15,8%). Esse dado é preocupante, visto que o ambiente hospitalar favorece o aparecimento e dispersão de isolados resistentes, principalmente devido ao uso intenso de terapia antimicrobiana nos pacientes (Guardabassi, 2012; Afshar et al., 2023). O presente estudo encontrou ainda uma elevada frequência de resistência às penicilinas, mas também aos macrolídeos, corroborando com estudos anteriores em cães e animais silvestres (Santana et al., 2022a; Santana et al., 2022b; Viegas et al., 2022; Santana et al., 2023). É importante lembrar ainda que macrolídeos e penicilinas são comumente usados na medicina veterinária, o que potencialmente gera uma dispersão de bactérias resistentes que acabam por colonizar pequenos animais (Guardabassi et al., 2004; Collignon et al., 2016; Morrison e Zembower, 2020).

Houve uma associação entre a multirresistência e *S. pseudintermedius*, resultado que corrobora com estudos anteriores e reforça a alta facilidade de adquirir genes de resistência dessa espécie (Maksimović et al., 2022; Viegas et al., 2022; Santana et al., 2023). Também foi observado que gatos hospitalizados tem três vezes mais chances de serem colonizados por estafilococos MDR do que gatos não hospitalizados, corroborando com outros trabalhos, que descrevem a hospitalização de pequenos animais como fator de risco para aquisição de estafilococos MDR (Grönthal et al., 2014; Santana et al., 2023).

No presente estudo, *S. felis* se destacou pela alta sensibilidade a maioria dos antimicrobianos, tendo quase dois terços dos isolados sensíveis a todos os compostos testados. Vale ressaltar que essa espécie é comumente isolada de gatos saudáveis, tanto do sítio oral como axilar, sendo um dos principais agentes colonizadores de felinos domésticos (Muniz et al., 2013; Bierowiec et al., 2019). A partir desse resultado, comparando-se gatos não hospitalizados e gatos hospitalizados, pode-se observar que o uso de antimicrobianos e o ambiente hospitalar favorecem uma possível mudança da microbiota. Nesse contexto, pode-se hipotetizar que, graças a ampla sensibilidade de *S. felis* à maioria dos antimicrobianos, sua prevalência acaba sendo menor em animais internados, comumente sob antibioticoterapia. Por outro lado, *S. pseudintermedius*, reconhecido por sua adaptação ao ambiente hospitalar e com grande

capacidade de adquirir genes de resistência, pode ser favorecido no contexto de hospitalização (Lehner et al., 2014; Bierowiec et al., 2019; Bierowiec et al., 2021). Essa hipótese explicaria, pelo menos em parte, tanto a mudança nas espécies isoladas quanto na maior probabilidade de isolamento de *Staphylococcus* spp. multirresistentes e MRS no presente estudo.

Neste estudo, houve a detecção de 15 isolados MRS (18,5%), ambos recuperados nos dois grupos amostrados, principalmente de gatos hospitalizados. A resistência à meticilina representa atualmente um sério problema de saúde global, sendo responsável por internações prolongadas e aumento dos índices de mortalidade (Tasneem et al., 2022; Breyer et al., 2023). Cada vez mais presente na clínica médica veterinária, isolados MRS representam um risco à saúde humana e animal, principalmente em pequenos animais, dificultando o tratamento, bem como expõem tutores e veterinários ao risco de disseminação desses isolados (Elmoslemany et al., 2021; Adiguzel et al., 2022).

Cinco MRSP foram obtidos de gatos hospitalizados, corroborando com estudos anteriores que isolaram essas estirpes em cães e gatos internados (Bierowiec et al., 2021; Papić et al., 2021). A alta prevalência de MRSP é descrita na maioria dos estudos na espécie canina, devido à predileção de *S. pseudintermedius* por colonizar diversos sítios em cães, se comparado com a espécie felina (Viegas et al., 2022; Fàbregas et al., 2023). A detecção de MRSP em gatos hospitalizados pode estar associada ao contato indireto com cães durante o período de internação, principalmente por meio da manipulação veterinária desses animais (Soimala et al., 2020; Bierowiec et al., 2021; Santana et al., 2023).

Outras espécies resistentes à meticilina de importância clínica, como *S. haemolyticus*, foram detectadas neste estudo. *S. haemolyticus* resistentes à meticilina são preocupantes na medicina humana, pois são considerados altamente patogênicos e perigosos em infecções hospitalares oportunistas (Cavanagh et al., 2014; Czekaj et al., 2015; Nakase et al., 2019; Xu et al., 2020). O isolamento dessa espécie em gatos hospitalizados é alarmante, visto que não é um microrganismo comumente encontrado na microbiota de felinos, sugerindo que essas estirpes MRS podem ter sido transmitidas a esses animais durante o período de internação (Weiss et al., 2013; Bean et al., 2017; Citron et al., 2023).

Nesse estudo, três isolados MRSH foram detectados, no qual apresentaram características similares entre si. Na análise MLST, os três isolados MRSH detectados em gatos hospitalizados pertenciam ao mesmo tipo de sequência: o ST3. Ambos apresentaram o mesmo perfil de resistência a antimicrobianos, bem como foram isolados em um curto intervalo de

tempo, o que sugere uma possível disseminação de um clone MRS_H entre os felinos amostrados no ambiente hospitalar (Bean et al., 2017; Citron et al., 2023). Na análise eBURST, o ST3 é agrupado como fundador de um complexo clonal, englobando STs isolados de humanos e de outros animais, demonstrando a capacidade de evolução e disseminação dessa espécie em diferentes hospedeiros (Cavanagh et al., 2014; McManus et al., 2015; Jolley et al., 2018).

O isolado MRS_H obtido de um gato não hospitalizado, por sua vez, pertence a outro tipo de sequência: o ST8. Esse ST também é descrito em humanos e animais, inclusive em estudos avaliando o ambiente hospitalar, principalmente em humanos (Cavanagh et al., 2012; Weiss et al., 2013; Kornienko et al., 2016; Montelongo et al., 2022). Curiosamente, o gato não hospitalizado na qual o ST8 foi detectado, possuía livre acesso à área externa da sua residência, que fica próxima de um hospital humano. De qualquer forma, chama atenção a detecção de um isolado MRS em um animal fora do ambiente hospitalar, o que reforça o desafio que vivemos no contexto da resistência antimicrobiana em espécies de *Staphylococcus*.

Um dado a ser destacado no presente estudo são os gatos que possuíam histórico de tratamento antimicrobiano (17,4%). As bases utilizadas e descritas no questionário (cefalotina, ceftriaxona, metronidazol e clindamicina) são de uso comum na medicina veterinária no tratamento de diversas doenças, presentes também em protocolos pós-cirúrgico de algumas intervenções, como castração e retirada de tumores (Dorsch et al., 2015; Gochenauer et al., 2019; Hasib et al., 2020). Além disso, houve uma associação entre a detecção de isolados MDR/MRS e gatos que apresentavam comorbidades ($p= 0,0304$). Vale destacar que esses animais do presente estudo acometidos por doenças são mais propensos a serem colonizados por patógenos de importância clínica, sobretudo agentes oportunistas, devido ao estado imunossupressor que desenvolvem ao longo do tratamento (Xenoulis e Fracassi, 2022; Geddes e Aguiar, 2022; Melo et al., 2023).

A hospitalização bem como o uso de antimicrobianos foram os principais fatores de risco associados aos isolamentos de estafilococos multirresistentes e resistentes à meticilina. Diversos estudos apontam a hospitalização veterinária como fator determinante na aquisição de estafilococos MDR/MRS, devido ao intenso uso de terapias antimicrobianas no tratamento dos animais internados (Loncaric et al., 2019; Viegas et al., 2022; Santana et al., 2023). Esse resultado é observado na maioria das clínicas e hospitais veterinários, visto que protocolos de higienização e desinfecção são pouco empregados entre técnicos e médicos veterinários, sendo

um cofator para a disseminação de estafilococos MDR/MRS entre animais e profissionais na medicina veterinária (Weese e Duijkeren, Van, 2010; Youn et al., 2014; Santana et al., 2023).

Este trabalho é o primeiro a analisar o perfil de colonização, bem como a resistência a antimicrobianos e diversidade genética de *Staphylococcus* spp. em gatos não hospitalizados e hospitalizados no Brasil. Adicionalmente, este estudo identificou fatores de risco para a colonização por estirpes MDR/MRS em felinos domésticos, contribuindo para o conhecimento a respeito de como os gatos podem albergar diversas espécies estafilocócicas. Além disso, foi notório como a hospitalização e o uso de antimicrobianos influencia na microbiota dos felinos domésticos, sendo importante estudos nesse âmbito para determinar o grau de interferência da ação antimicrobiana no organismo desses animais.

7. CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou diferenças no padrão de colonização de *Staphylococcus* em gatos não hospitalizados e hospitalizados, sugerindo que *S. felis* é mais comum em gatos não hospitalizados, enquanto *S. pseudintermedius* está associado à colonização de gatos hospitalizados. Foi revelado ainda uma associação entre a detecção de *Staphylococcus* multirresistentes e o uso prévio de antimicrobianos, animais que apresentam comorbidades e hospitalização.

8. PERSPECTIVAS FUTURAS

A análise genômica dos isolados MRSP detectados em gatos hospitalizados permitirá determinar qual ST está presente nesses animais, bem como a detecção de genes de resistência, plasmídeos e outros elementos genéticos móveis, além de permitir ainda a investigação da possível clonalidade dessas estirpes.

REFERÊNCIAS

- ABDULLAHI, I.N.; ZARAZAGA, M.; CAMPAÑA-BURGUET, A.; EGUIZÁBAL, P.; LOZANO, C.; TORRES, C. Nasal *Staphylococcus aureus* and *S. pseudintermedius* carriage in healthy dogs and cats: a systematic review of their antibiotic resistance, virulence and genetic lineages of zoonotic relevance. **Journal of Applied Microbiology**, v.133, p.3368–3390, 2022. DOI: 10.1111/jam.15803.
- ABELLAN-SCHNEYDER, I.; MATCHADO, M.S.; REITMEIER, S.; SOMMER, A.; SEWALD, Z.; BAUMBACH, J.; LIST, M.; NEUHAUS, K. Primer, Pipelines, Parameters: Issues in *16S rRNA* Gene Sequencing. **mSphere**, v.6, p.10.1128/msphere.01202-20, 2021. DOI: 10.1128/msphere.01202-20.
- ADIGUZEL, M.C.; SCHAEFER, K.; RODRIGUEZ, T.; ORTIZ, J.; SAHIN, O. Prevalence, Mechanism, Genetic Diversity, and Cross-Resistance Patterns of Methicillin-Resistant *Staphylococcus* Isolated from Companion Animal Clinical Samples Submitted to a Veterinary Diagnostic Laboratory in the Midwestern United States. **Antibiotics (Basel, Switzerland)**, v.11, p.609, 2022. DOI: 10.3390/antibiotics11050609.
- AFSHAR, M.F.; ZAKARIA, Z.; CHENG, C.H.; AHMAD, N.I. Prevalence and multidrug-resistant profile of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in dogs, cats, and pet owners in Malaysia. **Veterinary World**, v.16, p.536–545, 2023. DOI: 10.14202/vetworld.2023.536-545.
- ALEN, S. VAN; KASPAR, U.; IDELEVICH, E.A.; KÖCK, R.; BECKER, K. Increase of zinc resistance in German human derived livestock-associated MRSA between 2000 and 2014. **Veterinary Microbiology**, v.214, p.7–12, 2018. DOI: 10.1016/j.vetmic.2017.11.032.
- ALI ALGHAMDI, B.; AL-JOHANI, I.; AL-SHAMRANI, J.M.; MUSAMED ALSHAMRANI, H.; AL-OTAIBI, B.G.; ALMAZMOMI, K.; YUSNORAINI YUSOF, N. Antimicrobial resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.30, p.103604, 2023. DOI: 10.1016/j.sjbs.2023.103604.
- ANDERSSON, D.I.; HUGHES, D.; KUBICEK-SUTHERLAND, J.Z. Mechanisms and consequences of bacterial resistance to antimicrobial peptides. **Drug Resistance Updates: Reviews and Commentaries in Antimicrobial and Anticancer Chemotherapy**, v.26, p.43–57, 2016. DOI: 10.1016/j.drup.2016.04.002.
- ANDRADE, M.; OLIVEIRA, K.; MORAIS, C.; ABRANTES, P.; POMBA, C.; ROSATO, A.E.; COUTO, I.; COSTA, S.S. Virulence Potential of Biofilm-Producing *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus coagulans* Causing Skin Infections in Companion Animals. **Antibiotics (Basel, Switzerland)**, v.11, p.1339, 2022. DOI: 10.3390/antibiotics11101339.
- ARGUDÍN, M.A.; LAUZAT, B.; KRAUSHAAR, B.; ALBA, P.; AGERSO, Y.; CAVACO, L.; BUTAYE, P.; PORRERO, M.C.; BATTISTI, A.; TENHAGEN, B.-A.; FETSCH, A.; GUERRA, B. Heavy metal and disinfectant resistance genes among livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates. **Veterinary Microbiology**, v.191, p.88–95, 2016. DOI: 10.1016/j.vetmic.2016.06.004.

- ASSIS, G.B.N.; PEREIRA, F.L.; ZEGARRA, A.U.; TAVARES, G.C.; LEAL, C.A.; FIGUEIREDO, H.C.P. Use of MALDI-TOF Mass Spectrometry for the Fast Identification of Gram-Positive Fish Pathogens. **Frontiers in Microbiology**, v.8, p.1492, 2017. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01492.
- BARROS, E.M.; CEOTTO, H.; BASTOS, M.C.F.; DOS SANTOS, K.R.N.; GIAMBIAGI-DEMARVAL, M. *Staphylococcus haemolyticus* as an important hospital pathogen and carrier of methicillin resistance genes. **Journal of Clinical Microbiology**, v.50, p.166–168, 2012. DOI: 10.1128/JCM.05563-11.
- BEAN, D.C.; WIGMORE, S.M.; WAREHAM, D.W. Draft Genome Sequence of a Canine Isolate of Methicillin-Resistant *Staphylococcus haemolyticus*. **Genome Announcements**, v.5, p.10.1128/genomea.00146-17, 2017. DOI: 10.1128/genomea.00146-17.
- BEÇA, N.; BESSA, L.J.; MENDES, Â.; SANTOS, J.; LEITE-MARTINS, L.; MATOS, A.J.F.; COSTA, P.M. DA. Coagulase-Positive *Staphylococcus*: Prevalence and Antimicrobial Resistance. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.51, p.365–371, 2015. DOI: 10.5326/JAAHA-MS-6255.
- BECKER, K. Methicillin-Resistant Staphylococci and Micrococci at the Interface of Human and Animal Health. **Toxins**, v.13, p.61, 2021. DOI: 10.3390/toxins13010061.
- BECKER, K.; BALLHAUSEN, B.; KÖCK, R.; KRIEGESKORTE, A. Methicillin resistance in *Staphylococcus* isolates: the “mec alphabet” with specific consideration of *mecC*, a mec homolog associated with zoonotic *S. aureus* lineages. **International journal of medical microbiology: IJMM**, v.304, p.794–804, 2014a. DOI: 10.1016/j.ijmm.2014.06.007.
- BECKER, K.; HEILMANN, C.; PETERS, G. Coagulase-negative staphylococci. **Clinical Microbiology Reviews**, v.27, p.870–926, 2014b. DOI: 10.1128/CMR.00109-13.
- BIEROWIEC, K.; KORZENIOWSKA-KOWAL, A.; WZOREK, A.; RYPUŁA, K.; GAMIAN, A. Prevalence of *Staphylococcus* Species Colonization in Healthy and Sick Cats. **BioMed Research International**, v.2019, p.4360525, 2019. DOI: 10.1155/2019/4360525.
- BIEROWIEC, K.; MISZCZAK, M.; KORZENIOWSKA-KOWAL, A.; WZOREK, A.; PŁÓKARZ, D.; GAMIAN, A. Epidemiology of *Staphylococcus pseudintermedius* in cats in Poland. **Scientific Reports**, v.11, p.18898, 2021. DOI: 10.1038/s41598-021-97976-z.
- BIEROWIEC, K.; PŁONECZKA-JANECZKO, K.; RYPUŁA, K. Prevalence and Risk Factors of Colonization with *Staphylococcus aureus* in Healthy Pet Cats Kept in the City Households. **BioMed Research International**, v.2016, p.3070524, 2016. DOI: 10.1155/2016/3070524.
- BOECKEL, T.P.V.; PIRES, J.; SILVESTER, R.; ZHAO, C.; SONG, J.; CRISCUOLO, N.G.; GILBERT, M.; BONHOEFFER, S.; LAXMINARAYAN, R. Global trends in antimicrobial resistance in animals in low- and middle-income countries. **Science**, 2019. DOI: 10.1126/science.aaw1944.
- BONVEGNA, M.; GREGO, E.; SONA, B.; STELLA, M.C.; NEBBIA, P.; MANNELLI, A.; TOMASSONE, L. Occurrence of Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci (MRCoNS) and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from Pigs and Farm

Environment in Northwestern Italy. **Antibiotics (Basel, Switzerland)**, v.10, p.676, 2021. DOI: 10.3390/antibiotics10060676.

BREYER, G.M.; SAGGIN, B.F.; CARLI, S. DE; SILVA, M.E.R.J. DA; COSTA, M.M. DA; BRENIG, B.; AZEVEDO, V.A. DE C.; CARDOSO, M.R. DE I.; SIQUEIRA, F.M. Virulent potential of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus pseudintermedius* in dogs. **Acta Tropica**, v.242, p.106911, 2023. DOI: 10.1016/j.actatropica.2023.106911.

BÜNSOW, D.; TANTAWY, E.; OSTERMEIER, T.; BÄHRE, H.; GARBE, A.; LARSEN, J.; WINSTEL, V. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* synthesizes deoxyadenosine to cause persistent infection. **Virulence**, v.12, p.989–1002, 2021. DOI: 10.1080/21505594.2021.1903691.

BÜTTNER, J.N.; SCHNEIDER, M.; CSOKAI, J.; MÜLLER, E.; EULE, J.C. Microbiota of the conjunctival sac of 120 healthy cats. **Veterinary Ophthalmology**, v.22, p.328–336, 2019. DOI: 10.1111/vop.12598.

CASTRO, M.F. DE; CARVALHO, T.P. DE; SANTOS, D.O. DOS; OLIVEIRA, A.R.; PIMENTEL, S.P.; PAULA, N.F. DE; TINOCO, H.P.; COELHO, C.M.; SANTANA, J.A.; VIEGAS, F.M.; SILVA, R.O.S.; PAIXÃO, T.A. DA; SANTOS, R.L. Urethral obstruction secondary to *Staphylococcus felis* chronic urethritis and hepatoid gland adenoma in a captive ocelot (*Leopardus pardalis*). **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v.16, p.132–138, 2023.

CAVANA, P.; ROBINO, P.; STELLA, M.C.; BELLATO, A.; CROSAZ, O.; FIORA, S.R.; NEBBIA, P. Staphylococci isolated from cats in Italy with superficial pyoderma and allergic dermatitis: Characterisation of isolates and their resistance to antimicrobials. **Veterinary Dermatology**, v.34, p.14–21, 2023. DOI: 10.1111/vde.13127.

CAVANAGH, J.P.; HJERDE, E.; HOLDEN, M.T.G.; KAHLKE, T.; KLINGENBERG, C.; FLÆGSTAD, T.; PARKHILL, J.; BENTLEY, S.D.; SOLLID, J.U.E. Whole-genome sequencing reveals clonal expansion of multiresistant *Staphylococcus haemolyticus* in European hospitals. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.69, p.2920–2927, 2014. DOI: 10.1093/jac/dku271.

CAVANAGH, J.P.; KLINGENBERG, C.; HANSEN, A.-M.; FREDHEIM, E.A.; FRANCOIS, P.; SCHRENZEL, J.; FLÆGSTAD, T.; SOLLID, J.E. Core genome conservation of *Staphylococcus haemolyticus* limits sequence based population structure analysis. **Journal of Microbiological Methods**, v.89, p.159–166, 2012. DOI: 10.1016/j.mimet.2012.03.014.

CHEN, H.; ZHANG, J.; HE, Y.; LV, Z.; LIANG, Z.; CHEN, J.; LI, P.; LIU, J.; YANG, H.; TAO, A.; LIU, X. Exploring the Role of *Staphylococcus aureus* in Inflammatory Diseases. **Toxins**, v.14, p.464, 2022. DOI: 10.3390/toxins14070464.

CHEUNG, K.T.; CHAN, H.Y. Oral flora of domestic cats in Hong Kong: Identification of antibiotic-resistant strains. **Veterinary Medicine and Science**, 2022. DOI: 10.1002/vms3.1040.

CITRON, L.E.; CAIN, C.L.; DIETRICH, J.; COLE, S.D. Genomic and clinical case characterisation of *Staphylococcus haemolyticus* isolated from dogs and cats in the United

States, including strains with high-level mupirocin tolerance. **Veterinary Dermatology**, v.34, p.298–309, 2023. DOI: 10.1111/vde.13154.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing. 31st ed. CLSI supplement M100; ISBN 978-1-68440-105-5. Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, 2021.

COLLIGNON, P.C.; CONLY, J.M.; ANDREMONT, A.; MCEWEN, S.A.; AIDARA-KANE, A.; WORLD HEALTH ORGANIZATION ADVISORY GROUP, B.M. ON I.S. OF A.R. (WHO-A. FOR THE; AGERSO, Y.; ANDREMONT, A.; COLLIGNON, P.; CONLY, J.; DANG NINH, T.; DONADO-GODOY, P.; FEDORKA-CRAY, P.; FERNANDEZ, H.; GALAS, M.; IRWIN, R.; KARP, B.; MATAR, G.; MCDERMOTT, P.; MCEWEN, S.; MITEMA, E.; REID-SMITH, R.; SCOTT, H.M.; SINGH, R.; DEWAAL, C.S.; STELLING, J.; TOLEMAN, M.; WATANABE, H.; WOO, G.-J.; WORLD HEALTH ORGANIZATION ADVISORY GROUP, B.M. ON I.S. OF A.R. (WHO-A. FOR THE. World Health Organization Ranking of Antimicrobials According to Their Importance in Human Medicine: A Critical Step for Developing Risk Management Strategies to Control Antimicrobial Resistance From Food Animal Production. **Clinical Infectious Diseases**, v.63, p.1087–1093, 2016. DOI: 10.1093/cid/ciw475.

COUTO, N.; MONCHIQUÉ, C.; BELAS, A.; MARQUES, C.; GAMA, L.T.; POMBA, C. Trends and molecular mechanisms of antimicrobial resistance in clinical staphylococci isolated from companion animals over a 16 year period. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.71, p.1479–1487, 2016. DOI: 10.1093/jac/dkw029.

CZEKAJ, T.; CISZEWSKI, M.; SZEWCZYK, E.M. *Staphylococcus haemolyticus* - an emerging threat in the twilight of the antibiotics age. **Microbiology (Reading, England)**, v.161, p.2061–2068, 2015. DOI: 10.1099/mic.0.000178.

DAMBORG, P.; MOODLEY, A.; AALBÆK, B.; VENTRELLA, G.; DOS SANTOS, T.P.; GUARDABASSI, L. High genotypic diversity among methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from canine infections in Denmark. **BMC veterinary research**, v.12, p.131, 2016. DOI: 10.1186/s12917-016-0756-y.

D'AOÛT, C.; TAYLOR, S.S.; GELENDI, S.; ATKINSON, C.; DEFAUW, P. Bacteriuria in Cystocentesis Samples from Cats in the United Kingdom: Prevalence, Bacterial Isolates, and Antimicrobial Susceptibilities. **Animals: an open access journal from MDPI**, v.12, p.3384, 2022. DOI: 10.3390/ani12233384.

DAVIS, E.M.; WEESE, J.S. Oral Microbiome in Dogs and Cats: Dysbiosis and the Utility of Antimicrobial Therapy in the Treatment of Periodontal Disease. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v.52, p.107–119, 2022. DOI: 10.1016/j.cvsm.2021.08.004.

DORSCH, R.; VOPELIUS-FELDT, C. VON; WOLF, G.; STRAUBINGER, R.K.; HARTMANN, K. Feline urinary tract pathogens: prevalence of bacterial species and antimicrobial resistance over a 10-year period. **The Veterinary Record**, v.176, p.201, 2015. DOI: 10.1136/vr.102630.

DUIJKEREN, E. VAN; CATRY, B.; GREKO, C.; MORENO, M.A.; POMBA, M.C.; PYÖRÄLÄ, S.; RUZAUSKAS, M.; SANDERS, P.; THRELFALL, E.J.; TORREN-EDO, J.;

TÖRNEKE, K.; SCIENTIFIC ADVISORY GROUP ON ANTIMICROBIALS (SAGAM). Review on methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.66, p.2705–2714, 2011. DOI: 10.1093/jac/dkr367.

EL NAKADI, N.; EL NAKADI, B. Native valve endocarditis caused by *Staphylococcus warneri*: an unusual presentation. **Acta Cardiologica**, v.76, p.318–319, 2021. DOI: 10.1080/00015385.2020.1740415.

ELMOSLEMANY, A.; ELSOHABY, I.; ALORABI, M.; ALKAFIFY, M.; AL-MARRI, T.; ALDOWERIEJ, A.; ALAQL, F.A.; ALMUBARAK, A.; FAYEZ, M. Diversity and Risk Factors Associated with Multidrug and Methicillin-Resistant Staphylococci Isolated from Cats Admitted to a Veterinary Clinic in Eastern Province, Saudi Arabia. **Antibiotics (Basel, Switzerland)**, v.10, p.367, 2021. DOI: 10.3390/antibiotics10040367.

ELTWISY, H.O.; TWISY, H.O.; HAFEZ, M.H.; SAYED, I.M.; EL-MOKHTAR, M.A. Clinical Infections, Antibiotic Resistance, and Pathogenesis of *Staphylococcus haemolyticus*. **Microorganisms**, v.10, p.1130, 2022. DOI: 10.3390/microorganisms10061130.

FÀBREGAS, N.; PÉREZ, D.; VIÑES, J.; CUSCÓ, A.; MIGURA-GARCÍA, L.; FERRER, L.; FRANCINO, O. Diverse Populations of *Staphylococcus pseudintermedius* Colonize the Skin of Healthy Dogs. **Microbiology Spectrum**, v.11, p.e0339322, 2023. DOI: 10.1128/spectrum.03393-22.

FERRER, L.; GARCÍA-FONTICOBÀ, R.; PÉREZ, D.; VIÑES, J.; FÀBREGAS, N.; MADROÑERO, S.; MERONI, G.; MARTINO, P.A.; MARTÍNEZ, S.; MATÉ, M.L.; SÁNCHEZ-BRUNI, S.; CUSCÓ, A.; MIGURA-GARCÍA, L.; FRANCINO, O. Whole genome sequencing and de novo assembly of *Staphylococcus pseudintermedius*: a pangenome approach to unravelling pathogenesis of canine pyoderma. **Veterinary Dermatology**, v.32, p.654–663, 2021. DOI: 10.1111/vde.13040.

FERRER, M.; MÉNDEZ-GARCÍA, C.; ROJO, D.; BARBAS, C.; MOYA, A. Antibiotic use and microbiome function. **Biochemical Pharmacology**, Antibiotics - Meeting the Challenges of 21st Century Health Care: Part II. v.134, p.114–126, 2017. DOI: 10.1016/j.bcp.2016.09.007.

FLORIO, W.; CAPPELLINI, S.; GIORDANO, C.; VECCHIONE, A.; GHELARDI, E.; LUPETTI, A. A new culture-based method for rapid identification of microorganisms in polymicrobial blood cultures by MALDI-TOF MS. **BMC microbiology**, v.19, p.267, 2019. DOI: 10.1186/s12866-019-1641-1.

FOX, J.G.; YAN, L.L.; DEWHIRST, F.E.; PASTER, B.J.; SHAMES, B.; MURPHY, J.C.; HAYWARD, A.; BELCHER, J.C.; MENDES, E.N. *Helicobacter bilis* sp. nov., a novel *Helicobacter* species isolated from bile, livers, and intestines of aged, inbred mice. **Journal of Clinical Microbiology**, v.33, p.445–454, 1995. DOI: 10.1128/jcm.33.2.445-454.1995.

FRANÇA, A.; GAIO, V.; LOPES, N.; MELO, L.D.R. Virulence Factors in Coagulase-Negative Staphylococci. **Pathogens (Basel, Switzerland)**, v.10, p.170, 2021. DOI: 10.3390/pathogens10020170.

FROSINI, S.-M.; BOND, R.; KING, R.; FEUDI, C.; SCHWARZ, S.; LOEFFLER, A. Effect of topical antimicrobial therapy and household cleaning on methicillin-resistant *Staphylococcus*

pseudintermedius carriage in dogs. **The Veterinary Record**, v.190, p.e937, 2022. DOI: 10.1002/vetr.937.

FUNGWITHAYA, P.; BRIKSHAVANA, P.; CHANCHAITHONG, P.; PRAPASARAKUL, N. Distribution of methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci (MRCoPS) in a surgical unit and cystotomy operation sites in a veterinary teaching hospital. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v.79, p.359–365, 2017. DOI: 10.1292/jvms.16-0146.

GEDDES, R.; AGUIAR, J. Feline Comorbidities: Balancing hyperthyroidism and concurrent chronic kidney disease. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.24, p.641–650, 2022. DOI: 10.1177/1098612X221090390.

GOCHENAUER, A.E.; HOLMES, E.R.; BARBER, K.E.; FORSYTHE, L.R. The Current Landscape of Veterinary Compounding in the Pharmacy Setting. **International Journal of Pharmaceutical Compounding**, v.23, p.422–427, 2019.

GONZÁLEZ-MARTÍN, M.; CORBERA, J.A.; SUÁREZ-BONNET, A.; TEJEDOR-JUNCO, M.T. Virulence factors in coagulase-positive staphylococci of veterinary interest other than *Staphylococcus aureus*. **The Veterinary Quarterly**, v.40, p.118–131, 2020. DOI: 10.1080/01652176.2020.1748253.

GRÖNTHAL, T.; MOODLEY, A.; NYKÄSENOJA, S.; JUNNILA, J.; GUARDABASSI, L.; THOMSON, K.; RANTALA, M. Large outbreak caused by methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* ST71 in a Finnish Veterinary Teaching Hospital--from outbreak control to outbreak prevention. **PloS One**, v.9, p.e110084, 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0110084.

GRUMANN, D.; NÜBEL, U.; BRÖKER, B.M. *Staphylococcus aureus* toxins--their functions and genetics. **Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases**, v.21, p.583–592, 2014. DOI: 10.1016/j.meegid.2013.03.013.

GUARDABASSI, L. Veterinary hospital-acquired infections: the challenge of MRSA and other multidrug-resistant bacterial infections in veterinary medicine. **Veterinary Journal (London, England: 1997)**, v.193, p.307–308, 2012. DOI: 10.1016/j.tvjl.2012.04.005.

GUARDABASSI, L.; SCHWARZ, S.; LLOYD, D.H. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.54, p.321–332, 2004. DOI: 10.1093/jac/dkh332.

GUO, Y.; SONG, G.; SUN, M.; WANG, J.; WANG, Y. Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v.10, p.107, 2020. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00107.

HASIB, F.M.Y.; KABIR, M.H.; BARUA, S.; AKTER, S.; CHOWDHURY, S. Frequency and prevalence of clinical conditions and therapeutic drugs used in dog and cat at Teaching Veterinary Hospital, Chattogram Veterinary and Animal Sciences University. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, v.7, p.156–163, 2020. DOI: 10.5455/javar.2020.g405.

HIBLU, M.A.; ELLRAISS, O.M.; KARIM, E.S.; ELMISHRI, R.A.; DURO, E.M.; ALTAEB, A.A.; BENNOUR, E.M. Otodectic and bacterial etiology of feline otitis externa in Tripoli, Libya. **Open Veterinary Journal**, v.10, p.377–383, 2021. DOI: 10.4314/ovj.v10i4.4.

HUNTER, N.D.; HOET, A.E.; BALEN, J. VAN; STULL, J.W. Longitudinal environmental *Staphylococcus* contamination in a new small animal veterinary hospital and utility of cleaning checklists. **Zoonoses and Public Health**, v.68, p.947–954, 2021. DOI: 10.1111/zph.12887.

IGIMI, S.; KAWAMURA, S.; TAKAHASHI, E.; MITSUOKA, T. *Staphylococcus felis*, a New Species from Clinical Specimens from Cats. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.39, p.373–377, 1989. DOI: 10.1099/00207713-39-4-373.

ITO, T.; KUWAHARA-ARAI, K.; KATAYAMA, Y.; UEHARA, Y.; HAN, X.; KONDO, Y.; HIRAMATSU, K. Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*) analysis of MRSA. **Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)**, v.1085, p.131–148, 2014. DOI: 10.1007/978-1-62703-664-1_8.

IVERSON, S.A.; BRAZIL, A.M.; FERGUSON, J.M.; NELSON, K.; LAUTENBACH, E.; RANKIN, S.C.; MORRIS, D.O.; DAVIS, M.F. Anatomical patterns of colonization of pets with staphylococcal species in homes of people with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) skin or soft tissue infection (SSTI). **Veterinary Microbiology**, v.176, p.202–208, 2015. DOI: 10.1016/j.vetmic.2015.01.003.

JO, J.-H.; HARKINS, C.P.; SCHWARDT, N.H.; PORTILLO, J.A.; NISC COMPARATIVE SEQUENCING PROGRAM; ZIMMERMAN, M.D.; CARTER, C.L.; HOSSEN, M.A.; PEER, C.J.; POLLEY, E.C.; DARTOIS, V.; FIGG, W.D.; MOUTSOPOULOS, N.M.; SEGRE, J.A.; KONG, H.H. Alterations of human skin microbiome and expansion of antimicrobial resistance after systemic antibiotics. **Science Translational Medicine**, v.13, p.eabd8077, 2021. DOI: 10.1126/scitranslmed.abd8077.

JOLLEY, K.A.; BRAY, J.E.; MAIDEN, M.C.J. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. **Wellcome Open Research**, v.3, p.124, 2018. DOI: 10.12688/wellcomeopenres.14826.1.

KERN, A.; PERRETEN, V. Clinical and molecular features of methicillin-resistant, coagulase-negative staphylococci of pets and horses. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.68, p.1256–1266, 2013. DOI: 10.1093/jac/dkt020.

KHAIRULLAH, A.R.; SUDJARWO, S.A.; EFFENDI, M.H.; RAMANDINIANTO, S.C.; GELOLODO, M.A.; WIDODO, A.; RIWU, K.H.P.; KURNIAWATI, D.A. Pet animals as reservoirs for spreading methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to human health. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, v.10, p.1–13, 2023. DOI: 10.5455/javar.2023.j641.

KIM, E.; KIM, H.-J.; YANG, S.-M.; KIM, C.-G.; CHOO, D.-W.; KIM, H.-Y. Rapid Identification of *Staphylococcus* Species Isolated from Food Samples by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.29, p.548–557, 2019. DOI: 10.4014/jmb.1901.01046.

KIZERWETTER-ŚWIDA, M.; CHROBAK-CHMIEL, D.; RZEWUSKA, M. High-level mupirocin resistance in methicillin-resistant staphylococci isolated from dogs and cats. **BMC veterinary research**, v.15, p.238, 2019. DOI: 10.1186/s12917-019-1973-y.

KORNIENKO, M.; ILINA, E.; LUBASOVSKAYA, L.; PRIPUTNEVICH, T.; FALOVA, O.; SUKHIKH, G.; GOVORUN, V. Analysis of nosocomial *Staphylococcus haemolyticus* by MLST and MALDI-TOF mass spectrometry. **Infection, Genetics and Evolution**, v.39, p.99–105, 2016. DOI: 10.1016/j.meegid.2015.12.015.

KWIECINSKI, J.M.; HORSWILL, A.R. *Staphylococcus aureus* bloodstream infections: pathogenesis and regulatory mechanisms. **Current Opinion in Microbiology**, v.53, p.51–60, 2020. DOI: 10.1016/j.mib.2020.02.005.

LAKHUNDI, S.; ZHANG, K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. **Clinical Microbiology Reviews**, v.31, p.e00020-18, 2018. DOI: 10.1128/CMR.00020-18.

LEE, J.; MURRAY, A.; BENDALL, R.; GAZE, W.; ZHANG, L.; VOS, M. Improved detection of *Staphylococcus intermedius* group in a routine diagnostic laboratory. **Journal of Clinical Microbiology**, v.53, p.961–963, 2015. DOI: 10.1128/JCM.02474-14.

LEHNER, G.; LINEK, M.; BOND, R.; LLOYD, D.H.; PRENGER-BERNINGHOFF, E.; THOM, N.; STRAUBE, I.; VERHEYEN, K.; LOEFFLER, A. Case-control risk factor study of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) infection in dogs and cats in Germany. **Veterinary Microbiology**, v.168, p.154–160, 2014. DOI: 10.1016/j.vetmic.2013.10.023.

LETUNIC, I.; BORK, P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. **Nucleic Acids Research**, v.49, p.W293–W296, 2021. DOI: 10.1093/nar/gkab301.

LIN, L.-C.; LIU, T.-P.; CHANG, S.-C.; LU, J.-J. Characterization of New *Staphylococcus haemolyticus* ST42 Populations in Northern Taiwan. **Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)**, v.28, p.56–62, 2022a. DOI: 10.1089/mdr.2019.0459.

LISOWSKA-ŁYSIAK, K.; LAUTERBACH, R.; MIĘDZOBRODZKI, J.; KOSECKA-STROJEK, M. Epidemiology and Pathogenesis of *Staphylococcus* Bloodstream Infections in Humans: a Review. **Polish Journal of Microbiology**, v.70, p.13–23, 2021. DOI: 10.33073/pjm-2021-005.

LITSTER, A.; MOSS, S.M.; HONNERY, M.; REES, B.; TROTT, D.J. Prevalence of bacterial species in cats with clinical signs of lower urinary tract disease: recognition of *Staphylococcus felis* as a possible feline urinary tract pathogen. **Veterinary Microbiology**, v.121, p.182–188, 2007. DOI: 10.1016/j.vetmic.2006.11.025.

LONCARIC, I.; TICHY, A.; HANDLER, S.; SZOSTAK, M.P.; TICKERT, M.; DIABELSCHAHAWI, M.; SPERGSER, J.; KÜNZEL, F. Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus* sp. (MRS) in Different Companion Animals and Determination of Risk Factors for Colonization with MRS. **Antibiotics**, v.8, p.36, 2019. DOI: 10.3390/antibiotics8020036.

LOZANO, C.; MARÍ, A.; ASPIROZ, C.; GÓMEZ-SANZ, E.; CEBALLOS, S.; FORTUÑO, B.; BARCENILLA, F.; JOVER-SÁENZ, A.; TORRES, C. Nasal carriage of coagulase positive staphylococci in patients of a Primary-Healthcare-Center: genetic lineages and resistance and virulence genes. **Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica**, v.33, p.391–396, 2015. DOI: 10.1016/j.eimc.2014.09.007.

MA, G.C.; WORTHING, K.A.; WARD, M.P.; NORRIS, J.M. Commensal Staphylococci Including Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Dogs and Cats in Remote New South Wales, Australia. **Microbial Ecology**, v.79, p.164–174, 2020. DOI: 10.1007/s00248-019-01382-y.

MADHAIYAN, M.; WIRTH, J.S.; SARAVANAN, V.S. Phylogenomic analyses of the Staphylococcaceae family suggest the reclassification of five species within the genus *Staphylococcus* as heterotypic synonyms, the promotion of five subspecies to novel species, the taxonomic reassignment of five *Staphylococcus* species to *Mammaliicoccus* gen. nov., and the formal assignment of *Nosocomiicoccus* to the family Staphylococcaceae. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.70, p.5926–5936, 2020. DOI: 10.1099/ijsem.0.004498.

MAIDEN, M.C.J.; JANSEN VAN RENSBURG, M.J.; BRAY, J.E.; EARLE, S.G.; FORD, S.A.; JOLLEY, K.A.; MCCARTHY, N.D. MLST revisited: the gene-by-gene approach to bacterial genomics. **Nature Reviews. Microbiology**, v.11, p.728–736, 2013. DOI: 10.1038/nrmicro3093.

MAKSIMOVIĆ, Z.; DIZDAREVIĆ, J.; BABIĆ, S.; RIFATBEGOVIĆ, M. Antimicrobial Resistance in Coagulase-Positive Staphylococci Isolated from Various Animals in Bosnia and Herzegovina. **Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)**, v.28, p.136–142, 2022. DOI: 10.1089/mdr.2021.0160.

MALIŠOVÁ, L.; ŠAFRÁNKOVÁ, R.; KEKLÁKOVÁ, J.; PETRÁŠ, P.; ŽEMLIČKOVÁ, H.; JAKUBŮ, V. Correct species identification (reclassification in CNCTC) of strains of *Staphylococcus intermedius*-group can improve an insight into their evolutionary history. **Folia Microbiologica**, v.64, p.231–236, 2019. DOI: 10.1007/s12223-018-0647-7.

MAREE, M.; THI NGUYEN, L.T.; OHNIWA, R.L.; HIGASHIDE, M.; MSADEK, T.; MORIKAWA, K. Natural transformation allows transfer of SCCmec-mediated methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* biofilms. **Nature Communications**, v.13, p.2477, 2022. DOI: 10.1038/s41467-022-29877-2.

MARTÍNEZ-SANTOS, V.I.; TORRES-AÑORVE, D.A.; ECHÁNIZ-AVILES, G.; PARRA-ROJAS, I.; RAMÍREZ-PERALTA, A.; CASTRO-ALARCÓN, N. Characterization of *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates from hospitalized patients with bloodstream infection obtained in two time periods. **PeerJ**, v.10, p.e14030, 2022. DOI: 10.7717/peerj.14030.

MCADOW, M.; MISSIAKAS, D.M.; SCHNEEWIND, O. *Staphylococcus aureus* secretes coagulase and von Willebrand factor binding protein to modify the coagulation cascade and establish host infections. **Journal of Innate Immunity**, v.4, p.141–148, 2012. DOI: 10.1159/000333447.

MCMANUS, B.A.; COLEMAN, D.C.; DEASY, E.C.; BRENNAN, G.I.; CONNELL, B.O.; MONECKE, S.; EHRLICH, R.; LEGGETT, B.; LEONARD, N.; SHORE, A.C. Comparative Genotypes, Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (*SCCmec*) Genes and Antimicrobial Resistance amongst *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus haemolyticus* Isolates from Infections in Humans and Companion Animals. **PLOS ONE**, v.10, p.e0138079, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0138079.

MELLMANN, A.; BECKER, K.; EIFF, C. VON; KECKEVOET, U.; SCHUMANN, P.; HARMSSEN, D. Sequencing and staphylococci identification. **Emerging Infectious Diseases**, v.12, p.333–336, 2006. DOI: 10.3201/eid1202.050962.

MELO, T.B. DE; SILVA, T.R.M.; ALMEIDA, T.L.A.C. DE; TUTIJA, J.F.; SILVA, A.O. DA; LIRA, M. DA S.; AMORIM, D.; GIANNELLI, A.; RAMOS, C.A. DO N.; ALVES, L.C.; CARVALHO, G.A. DE; RAMOS, R.A.N. Molecular detection of vector-borne pathogens in cats tested for FIV and FeLV. **Veterinary Parasitology, Regional Studies and Reports**, v.40, p.100857, 2023. DOI: 10.1016/j.vprsr.2023.100857.

MONTELONGO, C.; MORES, C.R.; PUTONTI, C.; WOLFE, A.J.; ABOUELFETOUH, A. Whole-Genome Sequencing of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus haemolyticus* Clinical Isolates from Egypt. **Microbiology Spectrum**, v.10, p.e0241321, 2022. DOI: 10.1128/spectrum.02413-21.

MOON, D.C.; CHOI, J.-H.; BOBY, N.; KIM, S.-J.; SONG, H.-J.; PARK, H.-S.; GIL, M.-C.; YOON, S.-S.; LIM, S.-K. Prevalence of Bacterial Species in Skin, Urine, Diarrheal Stool, and Respiratory Samples in Cats. **Pathogens (Basel, Switzerland)**, v.11, p.324, 2022. DOI: 10.3390/pathogens11030324.

MORRIS, D.O.; LOEFFLER, A.; DAVIS, M.F.; GUARDABASSI, L.; WEESE, J.S. Recommendations for approaches to meticillin-resistant staphylococcal infections of small animals: diagnosis, therapeutic considerations and preventative measures.: Clinical Consensus Guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology. **Veterinary Dermatology**, v.28, p.304-e69, 2017. DOI: 10.1111/vde.12444.

MORRISON, L.; ZEMBOWER, T.R. Antimicrobial Resistance. **Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America**, v.30, p.619–635, 2020. DOI: 10.1016/j.giec.2020.06.004.

MUNIZ, I.M.; PENNA, B.; LILENBAUM, W. Treating animal bites: susceptibility of Staphylococci from oral mucosa of cats. **Zoonoses and Public Health**, v.60, p.504–509, 2013. DOI: 10.1111/zph.12027.

MURAKAMI, K.; MINAMIDE, W.; WADA, K.; NAKAMURA, E.; TERAOKA, H.; WATANABE, S. Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. **Journal of Clinical Microbiology**, v.29, p.2240–2244, 1991. DOI: 10.1128/jcm.29.10.2240-2244.1991.

MURUGAIYAN, J.; WALTHER, B.; STAMM, I.; ABOU-ELNAGA, Y.; BRUEGGEMANN-SCHWARZE, S.; VINCZE, S.; WIELER, L.H.; LÜBKE-BECKER, A.; SEMMLER, T.; ROESLER, U. Species differentiation within the *Staphylococcus intermedius* group using a refined MALDI-TOF MS database. **Clinical Microbiology and Infection: The**

Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, v.20, p.1007–1015, 2014. DOI: 10.1111/1469-0691.12662.

NAKASE, K.; YOSHIDA, A.; SAITA, H.; HAYASHI, N.; NISHIJIMA, S.; NAKAMINAMI, H.; NOGUCHI, N. Relationship between quinolone use and resistance of *Staphylococcus epidermidis* in patients with acne vulgaris. **The Journal of Dermatology**, v.46, p.782–786, 2019. DOI: 10.1111/1346-8138.15000.

NOCERA, F.P.; AMBROSIO, M.; FIORITO, F.; CORTESE, L.; DE MARTINO, L. On Gram-Positive- and Gram-Negative-Bacteria-Associated Canine and Feline Skin Infections: A 4-Year Retrospective Study of the University Veterinary Microbiology Diagnostic Laboratory of Naples, Italy. **Animals: an open access journal from MDPI**, v.11, p.1603, 2021. DOI: 10.3390/ani11061603.

OLDER, C.E.; DIESEL, A.; PATTERSON, A.P.; MEASON-SMITH, C.; JOHNSON, T.J.; MANSELL, J.; SUCHODOLSKI, J.S.; RODRIGUES HOFFMANN, A. The feline skin microbiota: The bacteria inhabiting the skin of healthy and allergic cats. **PLoS ONE**, v.12, p.e0178555, 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0178555.

OLDER, C.E.; DIESEL, A.B.; STARKS, J.M.; LAWHON, S.D.; RODRIGUES HOFFMANN, A. Characterization of staphylococcal communities on healthy and allergic feline skin. **Veterinary Dermatology**, v.32, p.61-e10, 2021. DOI: 10.1111/vde.12885.

Organização Mundial da Saúde (OMS). Critically important antimicrobials for human medicine, 6th revision. Geneva: World Health Organization; 2019. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

OTTO, M. *Staphylococcus epidermidis* pathogenesis. **Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)**, v.1106, p.17–31, 2014. DOI: 10.1007/978-1-62703-736-5_2.

OVIÑO, M.; RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, B. MALDI-TOF mass spectrometry in the 21st century clinical microbiology laboratory. **Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica (English Ed.)**, v.39, p.192–200, 2021. DOI: 10.1016/j.eimc.2020.02.027.

PAHARIK, A.E.; HORSWILL, A.R. The Staphylococcal Biofilm: Adhesins, Regulation, and Host Response. **Microbiology Spectrum**, v.4, 2016. DOI: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0022-2015.

PANDA, S.; KAR, S.; SHARMA, S.; SINGH, D.V. Multidrug-resistant *Staphylococcus haemolyticus* isolates from infected eyes and healthy conjunctivae in India. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v.6, p.154–159, 2016. DOI: 10.1016/j.jgar.2016.05.006.

PAPIĆ, B.; GOLOB, M.; ZDOVC, I.; KUŠAR, D.; AVBERŠEK, J. Genomic insights into the emergence and spread of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary clinics. **Veterinary Microbiology**, v.258, p.109119, 2021. DOI: 10.1016/j.vetmic.2021.109119.

PAUL, N.C.; MOODLEY, A.; GHIBAUDO, G.; GUARDABASSI, L. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in small animal veterinarians: indirect evidence of zoonotic transmission. **Zoonoses and Public Health**, v.58, p.533–539, 2011. DOI: 10.1111/j.1863-2378.2011.01398.x.

PEACOCK, S.J.; PATERSON, G.K. Mechanisms of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. **Annual Review of Biochemistry**, v.84, p.577–601, 2015. DOI: 10.1146/annurev-biochem-060614-034516.

PEIXOTO, P.B.; MASSINHANI, F.H.; NETTO DOS SANTOS, K.R.; CHAMON, R.C.; SILVA, R.B.; LOPES CORREA, F.E.; BARATA OLIVEIRA, C. DA C.H.; OLIVEIRA, A.G. Methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* isolates with reduced vancomycin susceptibility from bloodstream infections in a neonatal intensive care unit. **Journal of Medical Microbiology**, v.69, p.41–45, 2020. DOI: 10.1099/jmm.0.001117.

PÉREZ-SANCHO, M.; ALVAREZ-PEREZ, S.; GARCIA-SECO, T.; HERNANDEZ, M.; RODRÍGUEZ-LÁZARO, D.; DOMÍNGUEZ, L.; GARCÍA, M.E.; BLANCO, J.L. Antimicrobial Resistance of Coagulase-Positive *Staphylococcus* Isolates Recovered in a Veterinary University Hospital. **Antibiotics (Basel, Switzerland)**, v.9, p.752, 2020. DOI: 10.3390/antibiotics9110752.

Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animal. 5th ed. CLSI supplement VET01S. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020.

PERRETEN, V.; KANIA, S.A.; BEMIS, D. *Staphylococcus ursi* sp. nov., a new member of the ‘*Staphylococcus intermedius* group’ isolated from healthy black bears. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.70, p.4637–4645, 2020. DOI: 10.1099/ijsem.0.004324.

PICKERING, A.C.; YEBRA, G.; GONG, X.; GONCHEVA, M.I.; WEE, B.A.; MACFADYEN, A.C.; MUEHLBAUER, L.F.; ALVES, J.; CARTWRIGHT, R.A.; PATERSON, G.K.; FITZGERALD, J.R. Evolutionary and Functional Analysis of Coagulase Positivity among the Staphylococci. **mSphere**, v.6, p.e0038121, 2021. DOI: 10.1128/mSphere.00381-21.

PIRES DOS SANTOS, T.; DAMBORG, P.; MOODLEY, A.; GUARDABASSI, L. Systematic Review on Global Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius*: Inference of Population Structure from Multilocus Sequence Typing Data. **Frontiers in Microbiology**, v.7, p.1599, 2016. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01599.

PITCHER, D. G.; SAUNDERS, N. A.; OWEN, R. J. Rapid extraction of bacterial genomic DNA with guanidium thiocyanate. **Letters in Applied Microbiology**, v.8, p.151–156, 1989. DOI: 10.1111/j.1472-765X.1989.tb00262.x.

RADEMACHER, F.; GLÄSER, R.; HARDER, J. Antimicrobial peptides and proteins: Interaction with the skin microbiota. **Experimental Dermatology**, v.30, p.1496–1508, 2021. DOI: 10.1111/exd.14433.

REYES-ROBLES, T.; TORRES, V.J. *Staphylococcus aureus* Pore-Forming Toxins. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v.409, p.121–144, 2017. DOI: 10.1007/82_2016_16.

RODRIGUES, A.C.; BELAS, A.; MARQUES, C.; CRUZ, L.; GAMA, L.T.; POMBA, C. Risk Factors for Nasal Colonization by Methicillin-Resistant Staphylococci in Healthy

Humans in Professional Daily Contact with Companion Animals in Portugal. **Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)**, v.24, p.434–446, 2018. DOI: 10.1089/mdr.2017.0063.

ROSSI, C.C.; SILVA DIAS, I. DA; MUNIZ, I.M.; LILENBAUM, W.; GIAMBIAGI-DEMARVAL, M. The oral microbiota of domestic cats harbors a wide variety of *Staphylococcus* species with zoonotic potential. **Veterinary Microbiology**, v.201, p.136–140, 2017. DOI: 10.1016/j.vetmic.2017.01.029.

RUIZ-RIPA, L.; SIMÓN, C.; CEBALLOS, S.; ORTEGA, C.; ZARAZAGA, M.; TORRES, C.; GÓMEZ-SANZ, E. *S. pseudintermedius* and *S. aureus* lineages with transmission ability circulate as causative agents of infections in pets for years. **BMC veterinary research**, v.17, p.42, 2021. DOI: 10.1186/s12917-020-02726-4.

RUZAUSKAS, M.; SIUGZDINIENE, R.; KLIMIENE, I.; VIRGAILIS, M.; MOCKELIUNAS, R.; VASKEVICIUTE, L.; ZIENIUS, D. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus haemolyticus* in companion animals: a cross-sectional study. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v.13, p.56, 2014. DOI: 10.1186/s12941-014-0056-y.

SANMIGUEL, A.J.; MEISEL, J.S.; HORWINSKI, J.; ZHENG, Q.; GRICE, E.A. Topical Antimicrobial Treatments Can Elicit Shifts to Resident Skin Bacterial Communities and Reduce Colonization by *Staphylococcus aureus* Competitors. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.61, p.e00774-17, 2017. DOI: 10.1128/AAC.00774-17.

SANTANA, J.A.; PARAGUASSU, A.O.; SANTANA, R.S.T.; XAVIER, R.G.C.; FREITAS, P.M.C.; ABURJAILE, F.F.; AZEVEDO, V.A. DE C.; BRENIG, B.; BOJESSEN, A.M.; SILVA, R.O.S. Risk Factors, Genetic Diversity, and Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus* spp. Isolates in Dogs Admitted to an Intensive Care Unit of a Veterinary Hospital. **Antibiotics**, v.12, p.621, 2023. DOI: 10.3390/antibiotics12030621.

SANTANA, J.A.; RAMOS, C.P.; SILVA, B.A.; LIMA, G.K.; COMERLATO, A.T.; ARAÚJO, A.C.; COLOMBO, S.A.; BICALHO, G.C.; SILVA, R.O.S. Identification and characterization of pathogenic and multidrug-resistant bacteria in feral pigeons surrounding a veterinary hospital in Minas Gerais, Brazil. **Ciência Rural**, v.53, p.e20220244, 2022a. DOI: 10.1590/0103-8478cr20220244.

SANTANA, J.A.; SILVA, B.A.; TREVIZANI, N.A.B.; SOUZA, A.M.A. E; LIMA, G.M.N. DE; FURTADO, N.R.M.; LOBATO, F.C.F.; SILVA, R.O.S. Isolation and antimicrobial resistance of coagulase-negative staphylococci recovered from healthy tortoises in Minas Gerais, Brazil. **Ciência Rural**, v.52, 2022b. DOI: 10.1590/0103-8478cr20210354.

SASAKI, T.; TSUBAKISHITA, S.; TANAKA, Y.; SAKUSABE, A.; OHTSUKA, M.; HIROTAKI, S.; KAWAKAMI, T.; FUKATA, T.; HIRAMATSU, K. Multiplex-PCR method for species identification of coagulase-positive staphylococci. **Journal of Clinical Microbiology**, v.48, p.765–769, 2010. DOI: 10.1128/JCM.01232-09.

SCHOENFELDER, S.M.K.; LANGE, C.; ECKART, M.; HENNIG, S.; KOZYTSKA, S.; ZIEBUHR, W. Success through diversity - how *Staphylococcus epidermidis* establishes as a nosocomial pathogen. **International journal of medical microbiology: IJMM**, v.300, p.380–386, 2010. DOI: 10.1016/j.ijmm.2010.04.011.

SHOAIB, M.; XU, J.; MENG, X.; WU, Z.; HOU, X.; HE, Z.; SHANG, R.; ZHANG, H.; PU, W. Molecular epidemiology and characterization of antimicrobial-resistant *Staphylococcus haemolyticus* strains isolated from dairy cattle milk in Northwest, China. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v.13, 2023.

SILVA, B.B.O. DA; SILVA JÚNIOR, M.; MENEZES, F.G. DE; TROSTER, E.J. Factors associated with multidrug-resistant bacteria in healthcare-associated infections: a pediatric intensive care unit case-control study. **Einstein (Sao Paulo, Brazil)**, v.20, p.eAO6704, 2022. DOI: 10.31744/einstein_journal/2022AO6704.

SILVA, M.B.; FERREIRA, F.A.; GARCIA, L.N.N.; SILVA-CARVALHO, M.C.; BOTELHO, L.A.B.; FIGUEIREDO, A.M.S.; VIEIRA-DA-MOTTA, O. An evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for the identification of *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from canine infections. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc**, v.27, p.231–235, 2015. DOI: 10.1177/1040638715573297.

SOIMALA, T.; LÜBKE-BECKER, A.; HANKE, D.; EICHHORN, I.; FESSLER, A.T.; SCHWARZ, S.; EULE, J.C. Molecular and phenotypic characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* from ocular surfaces of dogs and cats suffering from ophthalmological diseases. **Veterinary Microbiology**, v.244, p.108687, 2020. DOI: 10.1016/j.vetmic.2020.108687.

SONDOROVÁ, M.; KOSCOVA, J.; KAČÍROVÁ, J.; MADAR, M. Differences in the Composition of Cultivable Aerobic and Facultative Anaerobic Oral Microbiota in Cats of Various Age Groups. **Folia Veterinaria**, v.65, p.67–74, 2021. DOI: 10.2478/fv-2021-0009.

SOUZA-SILVA, T.; ROSSI, C.C.; ANDRADE-OLIVEIRA, A.L.; VILAR, L.C.; PEREIRA, M.F.; PENNA, B. DE A.; GIAMBIAGI-DEMARVAL, M. Interspecies transfer of plasmid-borne gentamicin resistance between *Staphylococcus* isolated from domestic dogs to *Staphylococcus aureus*. **Infection, Genetics and Evolution**, v.98, p.105230, 2022. DOI: 10.1016/j.meegid.2022.105230.

SREDNIK, M.E.; PEREA, C.A.; GIACOBONI, G.I.; HICKS, J.A.; SCHLATER, L.K. First report of *Staphylococcus pseudintermedius* ST71-SCCmec III and ST45-ΨSCCmec57395 from canine pyoderma in Argentina. **BMC research notes**, v.16, p.19, 2023. DOI: 10.1186/s13104-023-06285-3.

SUEPAUL, S.; GEORGES, K.; UNAKAL, C.; BOYEN, F.; SOOKHOO, J.; ASHRAPH, K.; YUSUF, A.; BUTAYE, P. Determination of the frequency, species distribution and antimicrobial resistance of staphylococci isolated from dogs and their owners in Trinidad. **PloS One**, v.16, p.e0254048, 2021. DOI: 10.1371/journal.pone.0254048.

SWEENEY, M.T.; LUBBERS, B.V.; SCHWARZ, S.; WATTS, J.L. Applying definitions for multidrug resistance, extensive drug resistance and pandrug resistance to clinically significant livestock and companion animal bacterial pathogens. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.73, p.1460–1463, 2018. DOI: 10.1093/jac/dky043.

TABATABAEI, S.; NAJAFIFAR, A.; ASKARI BADOUEI, M.; ZAHRAEI SALEHI, T.; ASHRAFI TAMAI, I.; KHAKSAR, E.; ABBASSI, M.S.; GHAZISAEEDI, F. Genetic

characterisation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in pets and veterinary personnel in Iran: new insights into emerging methicillin-resistant *S. pseudintermedius* (MRSP). **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v.16, p.6–10, 2019. DOI: 10.1016/j.jgar.2018.08.022.

TASNEEM, U.; MEHMOOD, K.; MAJID, M.; ULLAH, S.R.; ANDLEEB, S. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: A brief review of virulence and resistance. **JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association**, v.72, p.509–515, 2022. DOI: 10.47391/JPMA.0504.

TEIXEIRA, I.M.; OLIVEIRA FERREIRA, E. DE; ARAÚJO PENNA, B. DE. Dogs as reservoir of methicillin resistant coagulase negative staphylococci strains - A possible neglected risk. **Microbial Pathogenesis**, v.135, p.103616, 2019. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.103616.

TIZARD, I.R.; JONES, S.W. The Microbiota Regulates Immunity and Immunologic Diseases in Dogs and Cats. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v.48, p.307–322, 2018. DOI: 10.1016/j.cvsm.2017.10.008.

TSUCHIDA, S.; UMEMURA, H.; NAKAYAMA, T. Current Status of Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) in Clinical Diagnostic Microbiology. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v.25, p.4775, 2020. DOI: 10.3390/molecules25204775.

UEHARA, Y. Current Status of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*). **Antibiotics (Basel, Switzerland)**, v.11, p.86, 2022. DOI: 10.3390/antibiotics11010086.

VIDELA, R.; SOLYMAN, S.M.; BRAHMBHATT, A.; SADEGHI, L.; BEMIS, D.A.; KANIA, S.A. Clonal Complexes and Antimicrobial Susceptibility Profiles of *Staphylococcus pseudintermedius* Isolates from Dogs in the United States. **Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)**, v.24, p.83–88, 2018. DOI: 10.1089/mdr.2016.0250.

VIEGAS, F.M.; SANTANA, J.A.; SILVA, B.A.; XAVIER, R.G.C.; BONISSON, C.T.; CÂMARA, J.L.S.; RENNÓ, M.C.; CUNHA, J.L.R.; FIGUEIREDO, H.C.P.; LOBATO, F.C.F.; SILVA, R.O.S. Occurrence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus* spp. in diseased dogs in Brazil. **PloS One**, v.17, p.e0269422, 2022. DOI: 10.1371/journal.pone.0269422.

WALTHER, B.; TEDIN, K.; LÜBKE-BECKER, A. Multidrug-resistant opportunistic pathogens challenging veterinary infection control. **Veterinary Microbiology**, v.200, p.71–78, 2017. DOI: 10.1016/j.vetmic.2016.05.017.

WANECKA, A.; KRÓL, J.; TWARDON, J.; MROWIEC, J.; KORZENIOWSKA-KOWAL, A.; WZOREK, A. Efficacy of MALDI-TOF mass spectrometry as well as genotypic and phenotypic methods in identification of staphylococci other than *Staphylococcus aureus* isolated from intramammary infections in dairy cows in Poland. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc**, v.31, p.523–530, 2019. DOI: 10.1177/1040638719845423.

WANG, M.; BUIST, G.; DIJL, J.M. VAN. *Staphylococcus aureus* cell wall maintenance - the multifaceted roles of peptidoglycan hydrolases in bacterial growth, fitness, and virulence. **FEMS microbiology reviews**, v.46, p.fuac025, 2022. DOI: 10.1093/femsre/fuac025.

WARUWU, Y.K.K.; KHAIRULLAH, A.R.; EFFENDI, M.H.; LUKISWANTO, B.S.; AFNANI, D.A.; KURNIAWAN, S.C.; SILAEN, O.S.M.; RIWURIWU, K.H.P.; WIDODO, A.; RAMANDINIANTO, S.C. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and multidrug resistance isolated from cats in animal clinic at Sidoarjo District, East Java, Indonesia. **Biodiversitas Journal of Biological Diversity**, v.24, 2023. DOI: 10.13057/biodiv/d240114.

WEESE, J.S.; DUIJKEREN, E. VAN. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. **Veterinary Microbiology**, v.140, p.418–429, 2010. DOI: 10.1016/j.vetmic.2009.01.039.

WEESE, S.J.; NICHOLS, J.; JALALI, M.; LITSTER, A. The oral and conjunctival microbiotas in cats with and without feline immunodeficiency virus infection. **Veterinary Research**, v.46, p.21, 2015. DOI: 10.1186/s13567-014-0140-5.

WEISS, S.; KADLEC, K.; FESSLER, A.T.; SCHWARZ, S. Identification and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* and *Staphylococcus pettenkoferi* from a small animal clinic. **Veterinary Microbiology**, v.167, p.680–685, 2013. DOI: 10.1016/j.vetmic.2013.07.036.

WESTBERG, R.; STEGGER, M.; SÖDERQUIST, B. Molecular Epidemiology of Neonatal-Associated *Staphylococcus haemolyticus* Reveals Endemic Outbreak. **Microbiology Spectrum**, p.e0245222, 2022. DOI: 10.1128/spectrum.02452-22.

WHYTE, A.; GRACIA, A.; BONASTRE, C.; TEJEDOR, M.T.; WHYTE, J.; MONTEAGUDO, L.V.; SIMÓN, C. Oral Disease and Microbiota in Free-Roaming Cats. **Topics in Companion Animal Medicine**, SI: Oral disease and Gastroenterology: Focus on Probiotics. v.32, p.91–95, 2017. DOI: 10.1053/j.tcam.2017.07.003.

WORTHING, K.; PANG, S.; TROTT, D.J.; ABRAHAM, S.; COOMBS, G.W.; JORDAN, D.; MCINTYRE, L.; DAVIES, M.R.; NORRIS, J. Characterisation of *Staphylococcus felis* isolated from cats using whole genome sequencing. **Veterinary Microbiology**, v.222, p.98–104, 2018. DOI: 10.1016/j.vetmic.2018.07.002.

XENOULIS, P.G.; FRACASSI, F. Feline Comorbidities: Clinical perspective on diabetes mellitus and pancreatitis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.24, p.651–661, 2022. DOI: 10.1177/1098612X221106355.

XU, Z.; CAVE, R.; CHEN, L.; YANGKYI, T.; LIU, Y.; LI, K.; MENG, G.; NIU, K.; ZHANG, W.; TANG, N.; SHEN, J.; MKRTCHYAN, H.V. Antibiotic resistance and molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* recovered from hospital personnel in China. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v.22, p.195–201, 2020. DOI: 10.1016/j.jgar.2020.02.013.

YARBROUGH, M.L.; LAINHART, W.; BURNHAM, C.A. Epidemiology, Clinical Characteristics, and Antimicrobial Susceptibility Profiles of Human Clinical Isolates of

Staphylococcus intermedius Group. **Journal of Clinical Microbiology**, v.56, p.e01788-17, 2018. DOI: 10.1128/JCM.01788-17.

YOUN, J.-H.; PARK, Y.H.; HANG'OMBE, B.; SUGIMOTO, C. Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from companion animals and environment in the veterinary teaching hospital in Zambia, Africa. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v.37, p.123–130, 2014. DOI: 10.1016/j.cimid.2014.01.003.

ZHANG, Y.; MIN, S.; SUN, Y.; YE, J.; ZHOU, Z.; LI, H. Characteristics of population structure, antimicrobial resistance, virulence factors, and morphology of methicillin-resistant *Macrococcus caseolyticus* in global clades. **BMC microbiology**, v.22, p.266, 2022. DOI: 10.1186/s12866-022-02679-8.

ANEXOS

ANEXO 1



49 Spadina Ave. Suite 200
Toronto ON M5V 2J1 Canada
www.biorender.com

Confirmation of Publication and Licensing Rights

September 9th, 2023
Science Suite Inc.

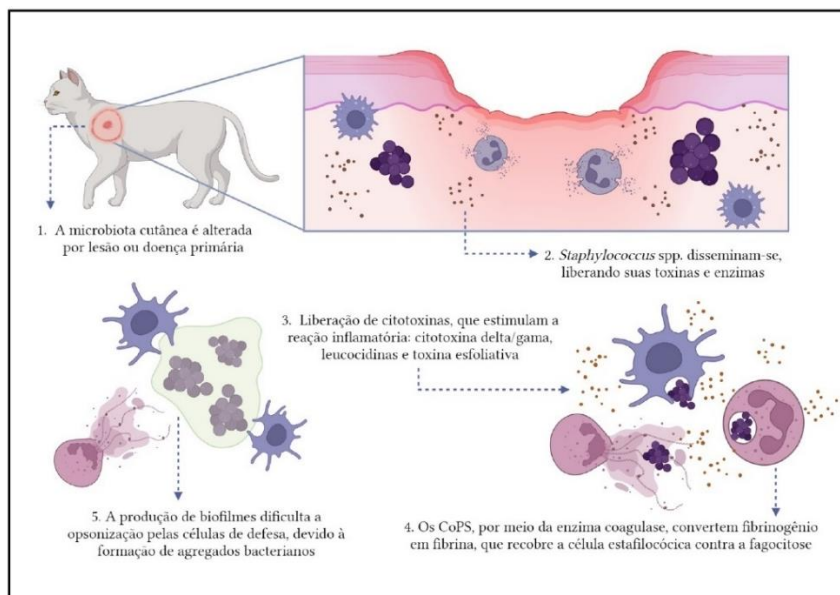
Subscription: Individual
Agreement number: PX25U06IV8
Journal name: Dissertation

To whom this may concern,

This document is to confirm that Rodrigo otavio Silva has been granted a license to use the BioRender content, including icons, templates and other original artwork, appearing in the attached completed graphic pursuant to BioRender's [Academic License Terms](#). This license permits BioRender content to be sublicensed for use in journal publications.

All rights and ownership of BioRender content are reserved by BioRender. All completed graphics must be accompanied by the following citation: "Created with BioRender.com".

BioRender content included in the completed graphic is not licensed for any commercial uses beyond publication in a journal. For any commercial use of this figure, users may, if allowed, recreate it in BioRender under an Industry BioRender Plan.



For any questions regarding this document, or other questions about publishing with BioRender refer to our [BioRender Publication Guide](#), or contact BioRender Support at support@biorender.com.

ANEXO 2



CERTIFICADO DE RELEVÂNCIA ACADÊMICA

A Comissão Organizadora do Colóquio tem a grande satisfação de conferir este certificado de Relevância Acadêmica pelo brilhante resumo científico, apresentado no **XI Colóquio Técnico Científico de Saúde Única, Ciências Agrárias e Meio Ambiente:**

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

De autoria de

Ana Carolina Coelho Costa, Clara Alcântara Lara de Mesquita, Thayanne Gabryelle Viana de Souza, Victor Santos do Amarante, Rafael Gariglio Clark Xavier, Rodrigo Otávio Silveira Silva


PRHISCYLLA SADANÃ PIRES
Gestora acadêmica de Ciências Agrárias e Meio Ambiente do Ecossistema Ânima


GABRIEL ALMEIDA DUTRA
Coordenador Regional MG/GO de Ciências Agrárias e Meio Ambiente do Ecossistema Ânima



APÊNDICES
APÊNDICE A

Tabela 9. Espécies estafilocócicas identificadas e seu perfil de resistência a antimicrobianos de gatos não hospitalizados em Belo Horizonte, Minas Gerais, entre junho a outubro de 2022.

| Espécies | Nº isolados | OXA | CFO | PEN | GEN | ERI | CLI | CIP | NIT | STX | CLO | RIF | TET | MDR | MRS |
|----------------------------|--------------------|--------------|-------------|--------------|------------|--------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|
| <i>S. felis</i> | 16 (28,1) | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 3 (5,3) | 0 (0,0) | 3 (5,3) | 4 (7,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (1,7) | 3 (1,7) | 0 (0,0) |
| <i>S. epidermidis</i> | 10 (17,5) | 1 (1,7) | 3 (5,3) | 8 (14) | 2 (3,5) | 3 (5,3) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (1,7) | 1 (1,7) | 1 (1,7) |
| <i>S. pseudintermedius</i> | 2 (3,5) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 1 (1,7) | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (1,7) | 1 (1,7) | 1 (1,7) | 1 (1,7) | 1 (1,7) | 0 (0,0) |
| <i>S. haemolyticus</i> | 3 (5,3) | 1 (1,7) | 1 (1,7) | 3 (5,3) | 0 (0,0) | 2 (3,5) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (1,7) | 1 (1,7) | 1 (1,7) |
| <i>S. aureus</i> | 5 (8,8) | 4 (7,0) | 0 (0,0) | 5 (8,8) | 0 (0,0) | 3 (5,3) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) |
| <i>S. capitis</i> | 5 (8,8) | 1 (1,7) | 1 (1,7) | 4 (7,0) | 1 (1,7) | 2 (3,5) | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (1,7) | 1 (1,7) | 1 (1,7) |
| <i>S. xylosus</i> | 4 (7,0) | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 4 (7,0) | 0 (0,0) | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 0 (0,0) |
| <i>S. warneri</i> | 3 (5,3) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 2 (3,5) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) |
| <i>S. pettenkoferi</i> | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (1,7) |
| <i>S. pseudoxylosus</i> | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) |
| <i>S. simulans</i> | 2 (3,5) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) |
| <i>S. lentus</i> | 2 (3,5) | 2 (3,5) | 2 (3,5) | 2 (3,5) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 2 (3,5) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 2 (3,5) | 2 (3,5) | 2 (3,5) |
| <i>S. lugnudensis</i> | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) |
| <i>S. sciuri</i> | 1 (1,7) | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) |
| <i>Staphylococcus spp.</i> | 1 (1,7) | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 1 (1,7) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) |
| Total (%) | 57 (100) | 13 (22,8) | 8 (14,0) | 35 (61,4) | 3 (5,3) | 17 (29,8) | 8 (14,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 2 (3,5) | 1 (1,7) | 1 (1,7) | 8 (14,0) | 9 (12,3) | 6 (10,5) |

APÊNDICE B

Tabela 10. Espécies estafilocócicas identificadas e seu perfil de resistência a antimicrobianos de gatos hospitalizados na clínica MedVet em Belo Horizonte, Minas Gerais, entre junho a outubro de 2022.

| Espécies | Nº isolados | OXA | CFO | PEN | GEN | ERI | CLI | CIP | NIT | STX | CLO | RIF | TET | MDR | MRS |
|----------------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|--------------|--------------|-------------|
| <i>S. felis</i> | 4 (16,7) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (4,2) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) |
| <i>S. epidermidis</i> | 1 (4,2) | 1 (4,2) | 1 (4,2) | 1 (4,2) | 0 (0,0) | 1 (4,2) | 0 (0,0) | 1 (4,2) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (4,2) | 1 (4,2) | 1 (4,2) |
| <i>S. pseudintermedius</i> | 6 (25,0) | 5 (20,8) | 5 (20,8) | 5 (20,8) | 3 (12,5) | 5 (20,8) | 6 (25,0) | 5 (20,8) | 0 (0,0) | 5 (20,8) | 0 (0,0) | 4 (16,7) | 5 (20,8) | 5 (20,8) | 5 (20,8) |
| <i>S. haemolyticus</i> | 4 (16,7) | 4 (16,7) | 4 (16,7) | 3 (12,5) | 3 (12,5) | 4 (16,7) | 3 (12,5) | 3 (12,5) | 0 (0,0) | 3 (12,5) | 0 (0,0) | 3 (12,5) | 3 (12,5) | 4 (16,7) | 3 (12,5) |
| <i>S. aureus</i> | 1 (4,2) | 0 (0,0) | 1 (4,2) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (4,2) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (4,2) | 1 (4,2) | 0 (0,0) |
| <i>S. xylosum</i> | 1 (4,2) | 1 (4,2) | 1 (4,2) | 1 (4,2) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) |
| <i>S. warneri</i> | 1 (4,2) | 1 (4,2) | 0 (0,0) | 1 (4,2) | 0 (0,0) | 1 (4,2) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) |
| <i>S. pettenkoferi</i> | 2 (8,3) | 1 (4,2) | 0 (0,0) | 1 (4,2) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (4,2) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (4,2) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (4,2) | 0 (0,0) |
| <i>S. pseudoxylum</i> | 1 (4,2) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (4,2) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) |
| <i>S. hominis</i> | 1 (4,2) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) |
| <i>S. nepalensis</i> | 1 (4,2) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) |
| <i>S. saprophyticus</i> | 1 (4,2) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) |
| Total (%) | 24 (100) | 13 (54,2) | 12 (50,0) | 14 (58,3) | 6 (25,0) | 12 (50,0) | 10 (41,7) | 9 (37,5) | 0 (0,0) | 9 (37,5) | 0 (0,0) | 7 (29,2) | 10 (41,7) | 12 (45,8) | 9 (37,5) |