

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “Júlio de Mesquita Filho”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU – SP

**RESISTÊNCIA *IN VITRO* AOS ANTIMICROBIANOS E
MICROBIOTA BUCAL E DE LEITO UNGUEAL DE GATOS
DIAGNOSTICADAS POR SEQUENCIAMENTO GENÉTICO EM
LARGA ESCALA E ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

FÁBIO VINÍCIUS RAMOS PORTILHO

Botucatu – SP
Novembro, 2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “Júlio de Mesquita Filho”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU – SP

**RESISTÊNCIA *IN VITRO* AOS ANTIMICROBIANOS E
MICROBIOTA BUCAL E DE LEITO UNGUEAL DE GATOS
DIAGNOSTICADAS POR SEQUENCIAMENTO GENÉTICO EM
LARGA ESCALA E ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

FÁBIO VINÍCIUS RAMOS PORTILHO

Tese apresentada junto ao Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária para
obtenção de título de Doutor.

Orientador: Prof. Titular Márcio Garcia Ribeiro
Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva,
FMVZ-UNESP/Botucatu, SP

Botucatu – SP
Novembro, 2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS.
TRATAMENTO DA INFORM. DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E
DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-
CRB 8/10188

Portilho, Fábio Vinícius Ramos.

Resistência *in vitro* aos antimicrobianos e microbiota bucal e de leito ingueal de gatos diagnosticadas por sequenciamento genético em larga escala e espectromia de massas / Fábio Vinícius Ramos Portilho. - Botucatu, 2023

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Márcio Garcia Ribeiro

Capes: 50502000

1. RNA Ribossômico 16S. 2. Boca. 3. Espectrometria de Massas. 4. Meticilina. 5. Microbiota.

Palavras-chave: 16S rRNA; Cavidade oral; MALDI-TOF MS; MecA; Região subungueal.

Nome do autor: Fábio Vinícius Ramos Portilho

Título: RESISTÊNCIA *IN VITRO* AOS ANTIMICROBIANOS E MICROBIOTA BUCAL E DE LEITO UNGUEAL DE GATOS DIAGNOSTICADAS POR SEQUENCIAMENTO GENÉTICO EM LARGA ESCALA E ESPECTROMETRIA DE MASSAS

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Titular Márcio Garcia Ribeiro
Presidente e Orientador
Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva
FMVZ - UNESP – Botucatu, SP

Prof. Titular Helio Langoni
Membro
Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva
FMVZ - UNESP – Botucatu, SP

Prof^a Assistente Doutora Camila Michele Appolinário
Membro
Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva
FMVZ - UNESP – Botucatu, SP

Prof. Adjunto III Marconi Rodrigues de Farias
Membro
Departamento de Medicina Veterinária
Escola de Ciências da Vida - Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)

Doutora Marília Masello Junqueira Franco
Membro
Chefe de Seção Técnica da Inspeção de Defesa Agropecuária de Taquarituba
Coordenadoria de Defesa Agropecuária

Data da defesa: 22 de novembro de 2023

AGRADECIMENTOS

À minha família, em especial meus pais, Marcos e Eliane, por estarem sempre presentes me acompanhando de perto e por sempre me darem suporte em quaisquer circunstâncias. O amor incondicional e apoio de vocês em prol do meu crescimento pessoal e profissional foram fundamentais para a construção dos valores e caráter que tenho hoje. Esta conquista também é de vocês.

Ao meu orientador, Márcio Garcia Ribeiro, por toda dedicação e ajuda durante estes quase oito anos de orientação. Obrigado pela confiança em meu potencial e por ser um exemplo de orientador e profissional a ser seguido. Agradeço por todas as conversas e trocas de experiências, que foram fundamentais em minha trajetória pessoal e profissional. A você, toda minha admiração.

Ao meu querido companheiro de vida, Juliano Nóbrega, pelo incentivo e participação em cada etapa desta pesquisa. Agradeço imensamente por vibrar comigo a cada pequena conquista e pelo carinho que me serviu de porto seguro ao longo destes anos. Obrigado.

Ao Fernando Listoni que, além de técnico de laboratório e exemplo de pessoa e profissional, se mostrou um grande amigo ao longo destes oito anos. Agradeço muito por todo conhecimento compartilhado e por ter sempre acreditado em meu potencial, desde a época dos estágios curriculares. A você, toda minha admiração e respeito.

À minha querida amiga Beatriz, por me relembrar diariamente o significado da expressão “amizade verdadeira”. Agradeço imensamente, não apenas por toda ajuda na execução desta pesquisa, mas por todo carinho e apoio que tem me dado ao longo destes anos. Ter você ao meu lado, vibrando comigo a cada etapa concluída e obstáculo vencido, com certeza me faz uma pessoa mais feliz.

A todos os amigos e companheiros de laboratório e residência, em especial Carolina Lechinski, André Mota, Joyce Cappa, Lucieny Sierra, Natália Paschoal, Isabelle Placca e Thaís Bello. A presença, ajuda e companhia de vocês ao longo destes anos trouxeram leveza ao ambiente trabalho e fizeram com que tudo fosse mais tranquilo. A todos vocês, meu carinho eterno.

Aos servidores e docentes do Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva da FMVZ/UNESP, Botucatu, em especial ao professor José Carlos de Figueiredo Pantoja, por tamanha dedicação em despertar meu interesse no mundo da microbiologia e da pesquisa durante a iniciação científica na graduação, e aos professores Antonio Carlos Paes e Jane Megid que, juntos com meu orientador Márcio

Garcia Ribeiro, me despertaram a paixão pelo mundo das doenças infecciosas dos animais. Vocês serão lembrados para sempre com muito respeito e carinho, além de servirem de inspiração para mim e para gerações futuras.

Aos colegas responsáveis pelos laboratórios e serviços colaboradores desta pesquisa, professores Vera Lúcia Mores Rall, Sandra de Moraes Gimenes Bosco, Marcos Veiga dos Santos, Rogério Giuffrida e pós-graduanda Alana Lucena.

Aos funcionários e supervisão do Canil Municipal de Botucatu, pela disponibilidade e auxílio na realização da pesquisa, pelo respeito, carinho e amizade, além de sempre me receberem de braços abertos nos dias de coletas de amostras.

A todos os servidores do Hospital Veterinário e do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da FMVZ/UNESP, Botucatu, pela companhia e oportunidade de aprendizado ao longo destes anos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP; processo 2020/09162-7).

A todos os animais que participaram desta pesquisa.

Muito obrigado.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Genes, sequências de nucleotídeos e tamanho dos produtos para identificação de estafilococos meticilina-resistentes isolados da cavidade oral e leito ungueal de gatos.	p.14
Tabela 2.	Frequência de micro-organismos de origem bacteriana obtidos de suabes de cavidade oral de 100 gatos aparentemente hígidos, diagnosticados por espectrometria de massas (MALDI-TOF MS).	p.16
Tabela 3.	Grupos de bactérias identificadas por espectrometria de massas em amostras de cavidade oral de 100 gatos aparentemente hígidos.	p.18
Tabela 4.	Frequência de micro-organismos de origem bacteriana obtidos de suabes de leito ungueal de 100 gatos aparentemente hígidos, diagnosticados por espectrometria de massas (MALDI-TOF MS).	p.19
Tabela 5.	Grupos de bactérias identificadas por espectrometria de massas em amostras de leito ungueal de 100 gatos aparentemente hígidos.	p.21
Tabela 6.	Gêneros bacterianos identificados por NGS* em amostras de cavidade oral de 20 gatos aparentemente hígidos.	p.23
Tabela 7.	Família ¹ e gêneros ² bacterianos identificados por NGS* em amostras de leito ungueal de 20 gatos aparentemente hígidos.	p.26
Tabela 8.	Perfil de sensibilidade microbiana <i>in vitro</i> , pelo método de difusão de discos, em 671 bactérias isoladas de cavidade oral (n = 343) e leito ungueal (n = 328) de 100 gatos aparentemente hígidos.	p.31
Anexo II.	Relação de fármacos selecionados para testes de sensibilidade <i>in vitro</i> aos antimicrobianos para cada grupo de patógenos isolados da cavidade oral e leito ungueal de gatos hígidos, segundo recomendações do <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i> – CLSI, 2020 (a) e CLSI VET08, 2018 (b).	p.47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Abundância relativa dos gêneros de micro-organismos mais frequentes identificados por NGS em amostras de cavidade oral de 20 gatos aparentemente hígidos.	p.25
Figura 2.	Abundância relativa da família e gêneros de micro-organismos mais frequentes identificadas por NGS em amostras de leito ungueal de 20 gatos aparentemente hígidos.	p.28
Anexo I.	Atestado de aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA).	p.46

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 Microbioma / microbiota.....	3
2.2 Micro-organismos envolvidos em agressões por felinos	3
2.3 Implicações dos acidentes por mordeduras e/ou arranhaduras	4
2.4 Diagnóstico molecular da microbiota oral e de leito ungueal de gatos.....	6
2.4.1 MALDI-TOF MS	6
2.4.2 Sequenciamento genético em larga escala (NGS).....	6
2.5 Tratamento de humanos agredidos por mordeduras e arranhaduras de gatos.....	7
2.6 Considerações sobre a multirresistência aos antimicrobianos e estafilococos metecilina-resistentes	8
3. OBJETIVOS	9
4. MATERIAIS E MÉTODOS	9
4.1 Comitê de Ética e Uso dos Animais (CEUA)	9
4.2 Animais e colheita de amostras.....	9
4.3 Cultivo microbiológico e fúngico	10
4.4 <i>Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry</i> – MALDI-TOF MS.....	11
4.5 Sequenciamento genético em larga escala (NGS)	12
4.6 Perfil de sensibilidade microbiana <i>in vitro</i>	13
4.7 Isolamento seletivo de MRSA e MRSP e detecção dos genes de resistência <i>mecA</i> e <i>mecC</i> para identificação de isolados metecilina-resistentes	13
5. RESULTADOS	15
5.1 Isolamento de micro-organismos de origem bacteriana e fúngica.....	15
5.2 Sequenciamento genético em larga escala	22
5.3 Teste de sensibilidade microbiana <i>in vitro</i> dos isolados	29
5.4 Identificação de <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>S. pseudintermedius</i> metecilina- resistentes	30
6. DISCUSSÃO	33
7. CONCLUSÕES	41
8. REFERÊNCIAS.....	42
ANEXO I.	46
ANEXO II.....	46

PORTILHO, F.V.R. Resistência *in vitro* aos antimicrobianos e microbiota bucal e de leito ungueal de gatos diagnosticadas por sequenciamento genético em larga escala e espectrometria de massas. Botucatu, 2023. 60p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, Universidade Estadual Paulista - UNESP.

2 RESUMO

3 O estreitamento do contato entre gatos e humanos aumenta o risco de transmissão de
4 patógenos, incluindo por mordeduras e arranhaduras, devido à complexidade de micro-
5 organismos presentes nas microbiotas orais e ungueais dos felinos. Neste contexto, o
6 presente estudo investigou micro-organismos de origem bacteriana e fúngica na
7 cavidade oral e leito ungueal de 100 gatos aparentemente hígidos utilizando técnicas
8 convencionais e seletivas de cultivo microbiológico, sequenciamento genético em larga
9 escala (NGS) e espectrometria de massas (MALDI-TOF MS), bem como avaliou o
10 perfil de sensibilidade/resistência *in vitro* dos isolados bacterianos aos antimicrobianos.
11 No total, 671 bactérias e 33 leveduras foram identificadas por MALDI-TOF MS. As
12 bactérias mais frequentes na cavidade oral (n=343) foram *Neisseria animaloris*
13 (37/343=10,8%), *Staphylococcus felis* (29/343=8,5%) e *Pasteurella multocida*
14 (24/343=7%), enquanto a principal levedura (n=19) foi *Candida albicans*
15 (13/19=68,4%). No leito ungueal (n=328), predominaram *Staphylococcus pettenkoferi*
16 (44/328=13,4%), *Staphylococcus felis* (21/328=6,4%) e *Staphylococcus simulans*
17 (19/328=5,8%), enquanto *Rhodotorula mucilaginosa* (8/14=57,2%) foi a levedura mais
18 frequente (n=14). O NGS identificou predominantemente os gêneros *Moraxella*,
19 *Neisseria*, *Pasteurella* e *Fusobacterium* nas amostras de cavidade oral, e enterobactérias
20 e estafilococos nas amostras de leito ungueal, além da identificação em menor
21 frequência de espécies dos gêneros *Capnocytophaga* e *Bartonella*, relacionadas a
22 infecções em humanos. Levofloxacino, marbofloxacino e amoxicilina/ácido clavulânico
23 foram os fármacos mais eficazes para os principais grupos de bactérias identificados. A
24 multirresistência aos antimicrobianos foi observada em 17% (114/671) dos isolados,
25 além de três estafilococos carreadores do gene de resistência à meticilina (*mecA*).
26 Infere-se a elevada complexidade de micro-organismos nas microbiotas bucal e
27 ungueal, o potencial zoonótico das agressões por mordeduras e arranhaduras dos felinos
28 domésticos e a elevada resistência dos isolados aos antimicrobianos convencionais.

29

30 **Palavras-chave:** 16S rRNA, região subungueal, cavidade oral, MALDI-TOF MS,
31 *mecA*, microbioma.

32

33 PORTILHO, F.V.R. *In vitro* antimicrobial resistance and oral/nail bed microbiota of
34 cats diagnosed by next-generation sequencing and mass spectrometry. Botucatu, 2023.
35 60p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu,
36 Universidade Estadual Paulista - UNESP.

37 **ABSTRACT**

38 The close contact between cats and humans increases the risk of transmission of
39 pathogens through bites and scratches, due to the complexity of microorganisms in
40 feline oral and nail microbiota. The present study investigated the microorganisms of
41 bacterial and fungal origin in the oral cavity and claws of 100 apparently healthy cats
42 using conventional and selective microbiological culture approaches, next-generation
43 sequencing (NGS), and mass spectrometry (MALDI-TOF MS), as well as the *in vitro*
44 susceptibility pattern of bacterial isolates to antimicrobials. In total, 671 bacteria and 33
45 yeasts were identified by MALDI-TOF MS. *Neisseria animaloris* (37/343=10.8%),
46 *Staphylococcus felis* (29/343=8.5%), and *Pasteurella multocida* (24/343=7%) were the
47 most prevalent bacteria in oral cavity samples (n=343), while the main yeast (n=19) was
48 *Candida albicans* (13/19=68.4%). *Staphylococcus pettenkoferi* (44/328=13.4%),
49 *Staphylococcus felis* (21/328=6.4%), and *Staphylococcus simulans* (19/328=5.8%) were
50 the most frequent bacteria identified in claws samples (n=328), while *Rhodotorula*
51 *mucilaginosa* (8/14=57.2%) was the most common yeast (n=14). NGS predominantly
52 identified the genera *Moraxella*, *Neisseria*, *Pasteurella*, and *Fusobacterium* in oral
53 cavity samples, and enterobacteria and staphylococci in nail bed samples, in addition to
54 the less frequent identification of the genera *Capnocytophaga* and *Bartonella*, which
55 have been identified in human infections. Levofloxacin, marbofloxacin, and
56 amoxicillin/clavulanic acid were the most effective drugs against the main groups of
57 bacteria identified. Multidrug resistance was observed in 17% (114/671) bacterial
58 isolates, in addition to three staphylococci carrying the methicillin resistance gene
59 (*mecA*). We highlight a high complexity of microorganisms in oral/claws microbiota of
60 cats, the zoonotic risks of aggression caused by bites and scratches from domestic cats,
61 as well as the high resistance of the isolates to conventional antimicrobials.

62

63 **Key-words:** 16S rRNA, oral cavity, claws, MALDI-TOF MS, *mecA*, microbiome.

64 1. INTRODUÇÃO

65 No mundo contemporâneo, os animais de companhia desenvolvem papel
66 fundamental na saúde física e mental dos tutores, considerados, por vezes, “membros
67 das famílias” (ARAHORI et al., 2017).

68 Estima-se que a população mundial de gatos domésticos seja da ordem de 600 a
69 900 milhões animais (EGN, 2023). Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e
70 Estatística (IBGE) divulgados em 2023 pelo Instituto Pet Brasil (IPB) referiram que a
71 população de gatos no Brasil seja de aproximadamente 27 milhões de animais,
72 excluindo-se animais errantes. Ainda, estima-se que, em poucos anos, a população
73 felina irá superar a canina no Brasil, visto que esta apresentou maior crescimento
74 populacional nos domicílios brasileiros nos últimos anos (IPB, 2023).

75 Tendo em vista a relação cada vez mais estreita entre os gatos domésticos e
76 tutores, torna-se fundamental a prevenção da transmissão de micro-organismos dos
77 animais de companhia para os humanos (PORTILHO et al., 2023). Assim, é lícito
78 afirmar que ataques por mordeduras e arranhaduras de gatos são importantes formas de
79 transmissão de patógenos para humanos (DENENBERG, 2015). As regiões corpóreas
80 mais acometidas em humanos agredidos são as extremidades altas (braços e mãos) e
81 rosto (KRAVETZ e FEDERMAN, 2002).

82 Complicações graves ocorrem em cerca de 20% das agressões de felinos em
83 humanos, principalmente quando acometem regiões próximas a ossos e articulações
84 (FLEISHER, 1999). Nas mordeduras e arranhaduras provocadas por gatos, a presença
85 de complicações como abscessos profundos e osteomielite são mais comuns quando
86 comparadas aos acidentes envolvendo cães (OEHLER et al., 2009). Neste contexto,
87 *Pasteurella multocida* foi identificada como agente causal de infecções graves em
88 pacientes humanos agredidos por gatos domésticos no Brasil (KREWER et al., 2008),
89 Espanha (MIRANDA et al., 2013) e França (HONNORAT et al., 2016).

90 O refinamento das técnicas moleculares possibilitou, nas últimas décadas, o
91 diagnóstico microbiológico mais rápido e com elevada acurácia. Neste contexto, a
92 espectrometria de massas (*Matrix-assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight*
93 *Mass Spectrometry* - MALDI-TOF MS) e o sequenciamento genético em larga escala
94 (NGS, do inglês *Next-generation sequencing*) têm possibilitado a identificação de
95 populações de micro-organismos em diferentes tecidos e mucosas de animais

96 (PORTILHO et al., 2023) e humanos, e de diferentes biomas (GILBERT et al., 2010,
97 2014; THOMPSON et al., 2017). Em humanos, o sequenciamento genético em larga
98 escala de mucosas gastrintestinal, oronasal e cutânea tem proporcionado melhor
99 conhecimento da microbiota humana (URSELL et al., 2012) e o estudo de patógenos
100 em ambientes hospitalares (THOMPSON et al., 2017). No entanto, o reconhecimento de
101 populações de micro-organismos em mucosas de animais domésticos e suas aplicações
102 em saúde ainda são incipientes. Na literatura consultada, não foi encontrado nenhum
103 estudo utilizando o sequenciamento genético em larga escala para caracterização da
104 microbiota de leito ungueal em felinos domésticos, tampouco da microbiota bucal de
105 gatos no Brasil.

106 Como efeito, o conhecimento da microbiota da cavidade oral e ungueal de gatos,
107 assim como a multirresistência bacteriana *in vitro* diante dos antimicrobianos
108 convencionais de uso em gatos e/ou humanos agredidos por felinos domésticos, tornam-
109 se necessários para avaliar o risco zoonótico de agressões por mordeduras e
110 arranhaduras de gatos, bem como auxiliar no tratamento de humanos e felinos agredidos
111 (na impossibilidade de isolamento microbiano e testes de sensibilidade *in vitro* aos
112 antimicrobianos), bem como na vigilância da resistência em bactérias de origem animal.

113 2. REVISÃO DA LITERATURA

114

115 2.1 Microbioma / microbiota

116 Entende-se por microbioma o conjunto de informações genéticas de micro-
117 organismos que habitam determinado bioma, como ambientes aquáticos e terrestres
118 (DAVIS e WEESE, 2022), enquanto o termo microbiota se refere à diversidade de
119 agentes bacterianos, fúngicos e parasitários encontrados em cavidades naturais de
120 organismos vivos, comumente dinâmica e passível de mudanças de acordo com
121 alterações ambientais e nutricionais (SHANAHAN et al., 2021).

122 A cavidade oral dos felinos, bem como outras mucosas e regiões corpóreas, é
123 colonizada por bactérias aeróbicas, anaeróbicas e microaerófilas, além de leveduras e
124 fungos (GRZEŚKOWIAK et al., 2015). Espécies de estafilococos, estreptococos,
125 pasteurelas e enterobactérias são identificadas frequentemente na cavidade oral e pele
126 de gatos hígidos (OLDER et al., 2019), bem como micro-organismos anaeróbicos dos
127 gêneros *Fusobacterium*, *Porphyromonas* e *Peptostreptococcus* (STURGEON et al.,
128 2014), frequentes na mucosa oral.

129 Em animais e humanos hígidos, a coexistência entre estes micro-organismos na
130 cavidade oral auxilia na prevenção de doenças como cáries e periodontite, mantendo o
131 equilíbrio entre micro-organismos comensais e patogênicos (WEESE, 2013). No
132 entanto, alterações nas condições imunológicas podem favorecer a multiplicação de
133 agentes patogênicos ou oportunistas, resultando em resposta inflamatória e eventual
134 desenvolvimento de doenças (DAVIS e WEESE, 2022). Ainda, devido à microbiota
135 abundante presente na cavidade oral e leito ungueal dos gatos, as agressões por
136 mordeduras e arranhaduras tornam-se importantes vias de transmissão de patógenos
137 oportunistas para os humanos (OEHLER et al., 2009).

138

139 2.2 Micro-organismos envolvidos em agressões por felinos

140 Assim como nos casos de agressões por mordedura de cães, o vírus rábico
141 representa a maior preocupação em humanos agredidos por mordeduras ou arranhaduras
142 de gatos (GOWDA et al., 2014). No entanto, na espécie felina, *Bartonella henselae* tem
143 sido objeto de relatos da “doença da arranhadura do gato”, bem como *Sporothrix*
144 *schenkii* e *S. brasiliensis* têm merecido atenção em regiões endêmicas devido à
145 relevância zoonótica (OSKOUIZADEH et al., 2010; MACÊDO-SALES et al., 2018).

Outros micro-organismos de origem bacteriana e fúngica, habitantes da microbiota bucal e ungueal dos felinos, por vezes são relegados ao segundo plano, apesar de estarem diretamente relacionados com infecções de pacientes humanos agredidos por mordedura ou arranhadura de gatos, como espécies de *Pasteurella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* e certos anaeróbios (OEHLER et al., 2009).

Diante do hábito dos felinos de lambedura das garras, a complexidade de micro-organismos habitantes da microbiota oral de gatos encontra reflexo também no leito ungueal destes animais (VERALDI e MINUTI, 2018). É comum a identificação na microbiota bucal e ungueal de *Pasteurella multocida*, *Bartonella henselae*, *Moraxella* sp., estafilococos, estreptococos e anaeróbios dos gêneros *Fusobacterium* e *Porphyromonas* (WEINBERG e BRANDA, 2010), além de *Staphylococcus aureus* meticilina-resistentes (OEHLER et al., 2009). Em geral, os principais agentes encontrados nestas microbiotas têm sido descritos, também, em humanos agredidos por gatos, indicando o comportamento oportunista destes micro-organismos.

160

2.3 Implicações dos acidentes por mordeduras e/ou arranhaduras

Os gatos representam a segunda espécie animal com maior número de envolvimento em agressões aos tutores, variando de 5 a 20% dos acidentes com animais domésticos nos EUA, com incidência anual de cerca de 400.000 casos (OEHLER et al., 2009; AZIZ et al., 2015). Nos EUA e Europa, acidentes por mordedura de cães e gatos representam 1% das emergências médicas, com custos hospitalares e ambulatoriais avaliadas em aproximadamente 850 milhões de dólares/ano (AZIZ et al., 2015; DARVISHI et al., 2022).

As lesões causadas por mordedura de gatos comumente promovem aspecto menos destrutivo da pele íntegra, o que muitas vezes induz as vítimas a subestimarem a gravidade do ferimento (PATRONEK e SLAVINSKI, 2009). No entanto, o formato pontiagudo dos dentes dos felinos resulta em feridas profundas, aumentando as chances de abscessos e infecções secundárias, incluindo pela multiplicação de agentes anaeróbios (OEHLER et al., 2009).

Complicações secundárias às mordeduras e arranhaduras de gatos como celulite, endocardite, meningite e sepse são mais frequentes em indivíduos imunocomprometidos, como pacientes esplenectomizados ou sob quimioterapia

178 (VERALDI e MINUTI, 2018), além de serem mais comuns nas agressões próximas às
179 articulações e ossos (OEHLER et al., 2009).

180 No Brasil, na cidade de Belo Horizonte, MG, foram registrados 2.589 casos de
181 agressões envolvendo felinos entre 2007 e 2016 (ARAÚJO, 2017). Os acidentes têm
182 sido mais comuns em indivíduos adultos ou idosos e, principalmente, do sexo feminino
183 (AZIZ et al., 2015; ARAÚJO, 2017). No entanto, é provável que ocorra subnotificação
184 dos casos de agressões posto que, por vezes, os ferimentos são aparentemente pequenos
185 e a maioria dos humanos agredidos busca atendimento médico somente quando as
186 lesões apresentam maior gravidade ou evoluem para complicações secundárias. Com
187 efeito, aproximadamente 6% dos casos de agressões por gatos requerem hospitalização
188 do paciente (GRIEGO et al., 1995).

189 Estudo retrospectivo de 20 casos de agressões por felinos entre 2014 e 2018, no
190 Reino Unido, revelou que o tempo para procurar atendimento médico está diretamente
191 relacionado com o prognóstico das lesões nas mãos. Pacientes que procuraram
192 atendimento especializado em até 48 horas depois do acidente permaneceram, em
193 média, três dias no hospital. Em contraste, nove dias de internação foram observados,
194 em média, em indivíduos que procuraram o atendimento após 48 horas da agressão.
195 Entre as vítimas do segundo grupo, sete precisaram passar por múltiplas cirurgias
196 reconstrutivas secundárias à artrite séptica, osteomielite e necrose no local da lesão,
197 incluindo amputação de dígito em quatro pacientes (KHEIRAN et al., 2019).

198 Acidentes por arranhaduras também não devem ser negligenciados, visto que o
199 leito ungueal dos gatos possui grande diversidade de micro-organismos, inclusive
200 telúricos (GOLDSTEIN e ABRAHAMIAN, 2015). Complicações secundárias às
201 arranhaduras estão geralmente associadas ao desenvolvimento de doenças sistêmicas
202 como esporotricose, que se apresenta como lesões cutâneas e em mucosas, além de
203 acometimento de vasos linfáticos (SCHUBAH et al., 2008), e febre da arranhadura dos
204 gatos (*Bartonella henselae*) que, em casos graves, pode causar neuropatias ópticas
205 (LATANZA et al., 2015; ABDELHAKIM e RASOOL, 2018), angiomatose bacilar e
206 peliose hepática (HOZÁKOVÁ et al., 2017).

207

208 **2.4 Diagnóstico molecular da microbiota oral e de leite ungual de gatos**

209 A maioria dos estudos envolvendo a identificação da microbiota oral e de leite
210 ungual de gatos se restringe à utilização de técnicas convencionais de cultivo
211 microbiológico (OEHLER et al., 2009). No entanto, o avanço de técnicas de biologia
212 molecular, como a espectrometria de massas e NGS, tem se mostrado promissor na
213 identificação microbiológica de micro-organismos, em nível de espécie, com maior
214 precisão e em tempo reduzido (STURGEON et al., 2014; PORTILHO et al., 2023).

215

216 **2.4.1 MALDI-TOF MS**

217 A espectrometria de massas (MALDI-TOF MS) é uma técnica de proteômica
218 analítica que se fundamenta na ionização de compostos químicos sob a forma de
219 moléculas carregadas, cuja proporção de massa/carga e espectro de massa podem ser
220 aferidos (SINGHAL et al., 2015). O espectro bacteriano resultante da análise é
221 comparado com o banco de dados do aparelho e a similaridade entre eles fornece
222 diagnóstico em nível de espécie ou gênero (BARREIRO et al., 2010). Em animais, a
223 técnica vem sendo empregada no diagnóstico de agentes causadores de mastite em
224 vacas leiteiras em vários países (NONNEMANN et al., 2019), inclusive no Brasil
225 (BARREIRO et al., 2010; GONÇALVES et al., 2014). Recentemente, foi utilizada no
226 diagnóstico de micro-organismos de origem bacteriana e leveduras na mucosa oral de
227 cães aparentemente hígidos (PORTILHO et al., 2023).

228

229 **2.4.2 Sequenciamento genético em larga escala (NGS)**

230 O NGS consiste no sequenciamento de todo material genético presente em
231 determinada amostra a partir de um gene ribossomal de interesse (16S RNA, no caso
232 das bactérias) e tem possibilitado, nos últimos anos, a identificação e caracterização de
233 populações de micro-organismos em diferentes habitats, além de estimular o
234 desenvolvimento de projetos em escala global como o Projeto Microbioma Terrestre e o
235 Projeto Microbioma Oceânico, que objetivam identificar a complexidade de micro-
236 organismos, ecologia e diferentes biomas em todo o mundo (GILBERT et al., 2010,
237 2014; THOMPSON et al., 2017).

238 Em humanos, a técnica tem sido utilizada no estudo de populações microbianas
239 nas cavidades gastrointestinal, oronasal e cutânea, com perspectivas promissoras em
240 medicina preventiva, a partir do conhecimento da microbiota dos indivíduos e de
241 ambientes hospitalares (THOMPSON et al., 2017).

242 Em medicina veterinária, o NGS foi utilizado nos EUA (OIKONOMOU et al.,
243 2012; QUIGLEY et al., 2013; OIKONOMOU et al., 2014) para o diagnóstico de
244 populações microbianas em vacas saudáveis e com mastite, em amostras de fezes de
245 cães na Inglaterra (HAND et al., 2013) e para o estudo da microbiota bucal de gatos no
246 Canadá (STURGEON et al., 2014; WEESE et al., 2015) e EUA (OLDER et al., 2019;
247 RODRIGUES et al., 2019).

248 No Brasil, a técnica foi utilizada em amostras de conteúdo uterino de vacas
249 recém paridas (MACHADO et al., 2012), em leite caprino (LEON, 2018) e, mais
250 recentemente, no reconhecimento da microbiota bucal de cães aparentemente hígidos
251 (PORTILHO et al., 2023). No entanto, nenhum estudo similar foi encontrado, na
252 literatura consultada, investigando a microbiota de leite ungueal de felinos domésticos,
253 tampouco a microbiota bucal de gatos no Brasil.

254

255 **2.5 Tratamento de humanos agredidos por mordeduras e arranhaduras de gatos**

256 As primeiras medidas adotadas diante de agressões por mordeduras ou
257 arranhaduras de gatos em humanos estão relacionadas à profilaxia antirrábica e
258 antitetânica (MEGID e ITO, 2016). Além disso, recomenda-se a administração de
259 antimicrobianos de amplo espectro para evitar complicações locais ou sistêmicas em
260 pacientes com lesões graves, visto que as feridas provocadas por mordeduras ou
261 arranhaduras de felinos são de natureza polimicrobiana (OEHLER et al., 2009).

262 Amoxicilina/ácido clavulânico é a associação de escolha para os casos de
263 ferimentos cutâneos graves em humanos secundários às agressões por cães e gatos,
264 podendo ser substituída por doxiciclina em pacientes alérgicos às penicilinas
265 (GOUGEON et al., 2007; OEHLER et al., 2009). Cefalosporinas como ceftriaxona,
266 cefuroxima e cefpodoxima constituem alternativas no tratamento de pacientes agredidos
267 por animais de companhia (OEHLER et al., 2009; SCHNEIDER et al., 2012). Em
268 indivíduos que desenvolvem linfadenites e complicações neuro-oftalmológicas por
269 *Bartonella henselae*, recomenda-se a associação de rifampicina com macrolídeos ou

270 tetraciclinas, visto que a primeira atinge concentrações terapêuticas no sistema nervoso
271 central (ABDELHAKIM e RASOOL, 2018).

272

273 **2.6 Considerações sobre a multirresistência aos antimicrobianos e estafilococos** 274 **metecilina-resistentes**

275 Nas últimas décadas, o uso indiscriminado e não racional de antimicrobianos em
276 cães e gatos provavelmente tem aumentado a pressão seletiva para bactérias resistentes
277 aos antimicrobianos convencionais (RIBEIRO, 2008). A ocorrência de isolados
278 multirresistentes, ou seja, resistentes a fármacos de diferentes classes de
279 antimicrobianos, representa preocupação emergente de ordem mundial, notadamente no
280 contexto atual de Saúde Única (*One Health*) (CDC, 2013; WHO, 2014; McEWEN e
281 COLLIGNON, 2018).

282 Idealmente, o tratamento de humanos agredidos por mordeduras e arranhaduras
283 de gatos deveria ser respaldado na identificação microbiana e testes de
284 sensibilidade/resistência *in vitro* dos isolados. O tratamento baseado em testes de
285 sensibilidade microbiana *in vitro* favorece a escolha do fármaco adequado para a
286 infecção, aumenta as chances de sucesso, evita o uso em isolados resistentes e
287 possibilita monitorar a ocorrência de bactérias multirresistentes aos antimicrobianos
288 (McEWEN e COLLIGNON, 2018).

289 Ainda, a emergência de estafilococos metecilina-resistentes (do inglês
290 *methicillin-resistant Staphylococcus* – MRS) em animais e humanos também tem sido
291 objeto de estudos em diferentes países (KING et al., 2006). O gene de resistência à
292 metecilina (*mecA*) codifica uma proteína ligadora de penicilina alternativa (PBP) com
293 baixa afinidade à oxacilina e outros antimicrobianos do grupo dos β -lactâmicos,
294 reconhecido como um dos principais mecanismos de resistência destas bactérias. Mais
295 recentemente, Paterson et al. (2012) identificaram gene homólogo ao *mecA*,
296 denominado *mecC*, em isolados de *S. aureus* obtidos de diversos animais, incluindo cão
297 doméstico. Como efeito, bactérias que expressam os genes *mecA* e *mecC* determinam
298 dificuldades no tratamento de pacientes infectados, com longos períodos de
299 hospitalização, gastos com internações e altos índices de mortalidade (ROZGONYI et
300 al., 2007; PATERSON et al., 2012). Neste contexto, Faires et al. (2009) e Oehler et al.

301 (2009) referiram o potencial risco de transmissão de estafilococos meticilina-resistentes
302 de gatos domésticos para humanos.

303 3. OBJETIVOS

304 **Geral:**

305 ✓ Investigar a microbiota de origem bacteriana e fúngica da cavidade oral e leito
306 ungueal de gatos aparentemente hígidos por métodos tradicionais de cultivo
307 microbiológico e moleculares (espectrometria de massas e sequenciamento genético em
308 larga escala) e o perfil de sensibilidade *in vitro* dos isolados bacterianos aos
309 antimicrobianos.

310

311 **Específicos:**

312 ✓ Avaliar o perfil de sensibilidade/resistência *in vitro* e a multirresistência dos
313 isolados de origem bacteriana diante dos principais antimicrobianos recomendados para
314 gatos e/ou no tratamento de humanos agredidos por mordeduras e arranhaduras;

315 ✓ Investigar a ocorrência de estafilococos meticilina-resistentes, particularmente *S.*
316 *aureus* e *S. pseudintermedius*.

317

318

319 4. MATERIAIS E MÉTODOS

320

321 **4.1 Comitê de Ética e Uso dos Animais (CEUA)**

322 O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais
323 (CEUA) da FMVZ-UNESP/Botucatu, SP, protocolo número 0078/2021 (Anexo I).

324

325 **4.2 Animais e colheita de amostras**

326 Foram colhidas, por conveniência, 100 amostras de secreção oral e 100 de leito
327 ungueal, do mesmo animal, de gatos aparentemente hígidos e não domiciliados (ferais,
328 comunitários ou que conviviam em colônias) do município de Botucatu, SP, destinados
329 ao Canil Municipal da cidade para realização de castração eletiva ou outros
330 procedimentos compatíveis com o serviço, sob a responsabilidade dos médicos
331 veterinários Juliano Nóbrega e Sabrina Moreira.

332 Os animais encontravam-se sedados para o procedimento de castração
333 (acepromazina 0,2%, 0,05mg/kg; xilazina 20mg/mL, 1mg/kg; morfina 10mg/mL,
334 0,3mg/kg; midazolam 5mg/mL, 0,15mg/kg; cetamina 10%, 15mg/kg) durante a coleta
335 de material.

336 As amostras de cavidade oral foram colhidas utilizando suabes esterilizados,
337 friccionando a extremidade do suabe na região da gengiva, língua, palato, dentes e
338 mucosa jugal (PORTILHO et al., 2023) dos gatos. As amostras de leito ungueal foram
339 colhidas friccionando suabes esterilizados na base das dez unhas dos membros
340 anteriores (*pool*), após exposição manual das garras. Em seguida, os suabes foram
341 acondicionados em meio de transporte de Stuart (Oxoid®, São Paulo, Brasil), mantidos
342 em temperatura de refrigeração (4-8°C), e encaminhados imediatamente ao Laboratório
343 de Microbiologia, do Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária
344 Preventiva da FMVZ-UNESP/Botucatu, SP, para os cultivos microbiológicos.

345 Os critérios para inclusão dos animais no estudo foram: 1) ausência de
346 administração de antimicrobianos, por qualquer via de administração, nos últimos 30
347 dias (tomando-se como base a data da coleta); 2) ausência de doença periodontal grave
348 ou limpeza dentária nos últimos 60 dias; 3) ausência de sinais clínicos de enfermidades
349 sistêmicas ou tegumentares concomitantes.

350 A amostragem de conveniência, a realização da técnica de NGS em apenas 20%
351 dos gatos amostrados e a impossibilidade de investigação de certas doenças
352 imunossupressoras dos felinos (imunodeficiência felina – FIV e leucemia viral felina –
353 FeLV) podem ser consideradas limitações do estudo.

354

355 4.3 Cultivo microbiológico e fúngico

356 As amostras de cavidade oral e leito ungueal foram cultivadas em condições de
357 aerobiose simultaneamente nos meios de ágar sangue (Oxoid®, São Paulo, Brasil)
358 acrescido de sangue bovino (5-7%) e ágar MacConkey (Oxoid®, São Paulo, Brasil),
359 mantidos em incubação por 72 horas, a 37°C. As amostras foram cultivadas também em
360 meio de ágar Sabouraud (Oxoid®, São Paulo, Brasil), incubadas por dez dias, a 37°C.

361 Todas as amostras foram submetidas ao isolamento seletivo de patógenos de
362 interesse, como *Pasteurella* sp. e *Staphylococcus* sp. utilizando, respectivamente, os
363 meios de ágar sangue (Oxoid®, São Paulo, Brasil) acrescido de 6 µg de vancomicina

364 (VIANA et al., 2007) e Manitol-Salt Agar (Oxoid®, São Paulo, Brasil), incubados por
365 72h, a 37°C.

366 Os agentes bacterianos e leveduras isolados em condições de aerobiose foram
367 preliminarmente classificados de acordo com características fenotípicas (QUINN et al.,
368 2011). Os fungos filamentosos foram submetidos a identificação de gênero e espécies
369 por técnicas microbiológicas (LACAZ et al., 1998) no Laboratório de Microbiologia da
370 Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), sob responsabilidade do professor
371 Rogério Giuffrida.

372

373 ***4.4 Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry –*** 374 **MALDI-TOF MS**

375 Todos os isolados bacterianos e leveduras que apresentaram, no mínimo, cinco
376 unidades formadoras de colônias (UFC) (PORTILHO et al., 2023) nos cultivos
377 convencionais e seletivos foram submetidos à espectrometria de massas no laboratório
378 de Pesquisa de Qualidade do Leite (QUALILEITE), do Departamento de Nutrição e
379 Produção Animal da FMVZ-USP/Pirassununga, SP, para confirmação diagnóstica, sob
380 responsabilidade do Prof. Titular Marcos Veiga dos Santos.

381 Para tanto, os isolados obtidos nos meios de cultura primários foram
382 recultivados em novas placas com o objetivo de purificar e individualizar as colônias,
383 além de obter massa bacteriana de reisolamento recente. Para a técnica de MALDI-TOF
384 MS, três a quatro colônias recém isoladas (24 a 48h) foram submetidas à extração com
385 20-40µL de ácido fórmico (70%) e centrifugadas, visando a lise bacteriana e liberação
386 de proteínas (predominantemente de origem ribossomal) e formação de íons,
387 necessários para a formação dos espectros bacterianos. Cerca de 15 minutos depois, foi
388 adicionado em cada amostra 20-40µL de acetromil (100% P.A.) na mesma proporção
389 do ácido fórmico (1:1), seguido de nova centrifugação.

390 Em seguida, 1µL da solução de cada amostra foi adicionado em placas
391 específicas contendo 96 poços (Bruker e Daltonics™, Bremen, Alemanha), que foram
392 mantidas em temperatura ambiente por ~15 minutos para secagem. Os poços com as
393 amostras secas foram cobertos com 1µL de solução matriz (ácido 2-ciano-4-
394 hidroxicinâmico diluído a 50% de acetromil e 2,5% de ácido trifluoracético). As placas

395 foram dispostas no receptáculo do equipamento MALDI-TOF MS™ (Bruker e
396 Daltonics™, Bremen, Alemanha), operado com 337-nm de laser.

397 Os dados dos espectros foram analisados entre 2.000-20.000m/z, usando o
398 *software FlexControl 3.3*. A caracterização de gênero e espécie foi considerada para
399 espectros $\geq 1,7$ e $\geq 2,0$, respectivamente (BARREIRO et al., 2010; GONÇALVES et al.,
400 2014).

401

402 **4.5 Sequenciamento genético em larga escala (NGS)**

403 O NGS foi realizado em amostras de cavidade oral e de leito ungueal (*pool* das
404 dez falanges anteriores) de 20 gatos selecionados aleatoriamente (um a cada cinco),
405 utilizando suabes e tubos com solução tampão próprios cedidos pelo fabricante. As
406 amostras foram armazenadas em temperatura ambiente e encaminhadas ao laboratório
407 Neopropecta - *Microbiome Technologies*®, Florianópolis, SC, em até 30 dias pós-
408 colheita.

409 Foram realizadas duas etapas de PCR, utilizando *primers* das regiões V3-V4 do
410 gene 16S rRNA em aparelho Illumina (Illumina, Inc., San Diego, EUA). As reações
411 foram realizadas em triplicata utilizando Platinum Taq (Invitrogen, Foster, EUA), com
412 as seguintes condições de ciclos: 95°C por 5 minutos, 25 ciclos a 95°C por 45 segundos,
413 55°C por 30 segundos e 72°C por 2 minutos (PCR1); 95°C por 5 minutos, 10 ciclos a
414 95°C por 45 segundos, 66°C por 30 segundos e 72°C por 2 minutos (PCR2). Para
415 comparação foi usado o protocolo Illumina 16S (*Illumina Technical Note 15044223*
416 Rev. B).

417 A reação final de PCR foi purificada usando esferas AMPureXP (Beckman
418 Coulter, Brea, EUA) e as amostras agrupadas nas bibliotecas de sequenciamento para
419 quantificação. As amplificações foram realizadas com Picogreen dsDNA (Invitrogen,
420 Foster, EUA). As bibliotecas agrupadas foram diluídas para quantificação precisa de
421 qPCR utilizando o KAPA *Library Quantification Kit* para plataformas Illumina (KAPA
422 Biosystems, Woburn, EUA) e sequenciadas em sistema MiSeq com *primers* fornecidos
423 no kit.

424

425 **4.6 Perfil de sensibilidade microbiana *in vitro***

426 Os isolados de origem bacteriana foram submetidos ao teste de sensibilidade
427 microbiana *in vitro* pelo método de difusão com discos e as leituras realizadas seguindo
428 as recomendações do *Clinical Laboratory Standards Institute – CLSI* (CLSI, 2020).

429 Para cada grupo de micro-organismos foram testados diferentes antimicrobianos
430 (Oxoid, Basingstoke, Reino Unido) respeitando o mínimo de um fármaco pertencente a
431 cada classe de antimicrobianos recomendados para o grupo ou espécies dos isolados
432 (CLSI, 2020). Ademais, foram adicionados antimicrobianos recomendados para
433 infecções em felinos, pertencentes aos mesmos grupos de fármacos supracitados (CLSI
434 VET, 2018) (Anexo II). Os grupamentos foram realizados de acordo com a
435 classificação taxonômica dos agentes, particularmente em nível de família e ordem
436 (NCBI, 2023).

437 Foram considerados multirresistentes os isolados de origem bacteriana que
438 apresentaram resistência ≥ 3 classes diferentes de antimicrobianos recomendados para o
439 grupo ou espécie, pelo método de difusão com discos (MAGIORAKOS et al., 2012).
440 Resultados intermediários não foram considerados na análise de multirresistência dos
441 isolados.

442

443 **4.7 Isolamento seletivo de MRSA e MRSP e detecção dos genes de resistência *mecA*** 444 **e *mecC* para identificação de isolados meticilina-resistentes**

445 Todos os isolados identificados como *Staphylococcus aureus* e *S.*
446 *pseudintermedius* pela espectrometria de massas foram submetidos ao cultivo seletivo
447 em placas com meio ágar cromogênico MRSA (Probac, São Paulo, Brasil). As colônias
448 que apresentaram isolamento no meio seletivo foram submetidas à detecção dos genes
449 *mecA* (NAKAGAWA et al., 2005) e *mecC* (PATERSON et al., 2012) para confirmação
450 diagnóstica molecular de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus pseudintermedius*
451 meticilina-resistentes (Tabela 1) no Laboratório de Microbiologia do Instituto de
452 Biociências da UNESP/Botucatu, SP, pela técnica de PCR, sob responsabilidade da
453 Profa. Associada Vera Lúcia Mores Rall.

454 Em todas as reações, amostras ATCC® 43300 *S. aureus* subespécie *aureus* e
455 Água Livre de DNA (QIAGEN, Hilden, Alemanha) foram utilizadas como controle
456 positivo e negativo, respectivamente (SILVA et al., 2023).

457 Tabela 1. Genes, sequências de nucleotídeos e tamanho dos produtos para identificação
 458 de estafilococos meticilina-resistentes isolados da cavidade oral e leito ungueal de
 459 gatos.

460

Gene	Primer	Sequência (5'-3')	Tamanho do produto (bp)	Referência
<i>mecA</i>	<i>mecA</i> -F	TGG TAT GTG GAA GTT AGA TTG GGA T	155	NAKAGAWA et al. (2005)
	<i>mecA</i> -R	CTA ATC TCA TAT GTG TTC CTG TAT TGG C		
<i>mecC</i>	<i>mecC</i> -F	CAT TAA AAT CAG AGC GAG GC	188	PATERSON et al. (2012)
	<i>mecC</i> -R	TGG CTG AAC CCA TTT TTG AT		

461

462

463

464

465 5. RESULTADOS

466

467 5.1 Isolamento de micro-organismos de origem bacteriana e fúngica

468 No total, 866 micro-organismos de origem bacteriana e 33 leveduras isolados
 469 nas amostras de cavidade oral ($476/866 = 55\%$ e $19/33 = 57,6\%$, respectivamente) e
 470 leito ungueal ($390/866 = 45\%$ e $14/33 = 42,4\%$, respectivamente) foram encaminhados
 471 para identificação por espectrometria de massas. Do total de isolados bacterianos,
 472 22,5% ($195/866$) não foram passíveis de identificação pelo banco de dados de espectros
 473 do aparelho de espectrometria de massas, dos quais 133 isolados das secreções orais e
 474 62 das secreções ungueais, resultando em 343 e 328 isolados identificados,
 475 respectivamente.

476 Os principais micro-organismos identificados por MALDI-TOF MS nas
 477 amostras de cavidade oral ($n=343$) foram: *Neisseria animaloris* ($37/343 = 10,8\%$),
 478 *Staphylococcus felis* ($29/343 = 8,5\%$), *Pasteurella multocida* ($24/343 = 7\%$),
 479 *Streptococcus minor* ($20/343 = 5,8\%$) e *Pasteurella dagmatis* ($19/343 = 5,5\%$) (Tabelas
 480 2 e 3), e nas amostras de leito ungueal ($n=328$) prevaleceram: *Staphylococcus*
 481 *pettenkoferi* ($44/328 = 13,4\%$), *Staphylococcus felis* ($21/328 = 6,4\%$), *Staphylococcus*
 482 *simulans* ($19/328 = 5,8\%$), *Staphylococcus epidermidis* ($18/328 = 5,5\%$) e *Pantoea* sp.
 483 ($17/328 = 5,2\%$) (Tabelas 4 e 5).

484 Leveduras foram isoladas em 19 amostras de cavidade oral: *Candida albicans*
 485 ($13/19 = 68,4\%$), *Candida parapsilosis* ($2/19 = 10,5\%$), *Rhodotorula mucilaginosa*
 486 ($2/19 = 10,5\%$), *Candida tropicalis* ($1/19 = 5,3\%$) e *Naganishia liquefaciens* ($1/19 =$
 487 $5,3\%$) e em 12 amostras de leito ungueal, sendo que duas apresentaram duas espécies
 488 distintas, totalizando 14 isolados: *Rhodotorula mucilaginosa* ($8/14 = 57,2\%$), *Candida*
 489 *parapsilosis* ($3/14 = 21,5\%$), *Candida orthopsilosis* ($1/14 = 7,1\%$), *Malassezia*
 490 *pachydermatis* ($1/14 = 7,1\%$) e *Yarrowia galli* ($1/14 = 7,1\%$).

491 Fungos filamentosos foram isolados em 9 amostras de cavidade oral: *Aspergillus*
 492 *niger* ($5/9 = 55,6\%$), *A. fumigatus* ($2/9 = 22,2\%$), *A. flavus* ($1/9 = 11,1\%$) e *A. terreus*
 493 ($1/9 = 11,1\%$), e em 35 amostras de leito ungueal: *Aspergillus niger* ($15/35 = 42,8\%$), *A.*
 494 *fumigatus* ($8/35 = 22,9\%$), *A. flavus* ($4/35 = 11,4\%$), *A. terreus* ($4/35 = 11,4\%$),
 495 *Arthroderma benhamiae* ($2/35 = 5,7\%$), *Curvularia* sp. ($1/35 = 2,9\%$) e *Microsporum*
 496 sp. ($1/35 = 2,9\%$).

497 TABELA 2. Frequência de micro-organismos de origem bacteriana obtidos de suabes
 498 de cavidade oral de 100 gatos aparentemente hígidos, diagnosticados por espectrometria
 499 de massas (MALDI-TOF MS).

500

Micro-organismo	N	%
<i>Neisseria animaloris</i>	37	10,8
<i>Staphylococcus felis</i>	29	8,5
<i>Pasteurella multocida</i>	24	7,0
<i>Streptococcus minor</i>	20	5,8
<i>Pasteurella dagmatis</i>	19	5,5
<i>Frederiksenia canicola</i>	13	3,8
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	3,5
<i>Pasteurella stomatis</i>	11	3,2
<i>Staphylococcus xylosus</i>	10	2,9
<i>Enterococcus faecalis</i>	8	2,3
<i>Escherichia coli</i>	8	2,3
<i>Enterococcus hirae</i>	5	1,5
<i>Pantoea agglomerans</i>	5	1,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5	1,5
<i>Staphylococcus pettenkoferi</i>	5	1,5
<i>Aeromonas hydrophila</i>	4	1,2
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	4	1,2
<i>Enterococcus faecium</i>	4	1,2
<i>Escherichia vulneris</i>	4	1,2
<i>Staphylococcus hominis</i>	4	1,2
<i>Staphylococcus sciuri</i>	4	1,2
<i>Staphylococcus simulans</i>	4	1,2
<i>Streptococcus pyogenes</i>	4	1,2
<i>Streptococcus suis</i>	4	1,2
Outros ¹	96	28,0
Total	343	100

501

502 MALDI-TOF MS = Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization – Time-of-flight Mass Spectrometry;

503 N = Número de isolados;

504 % = Frequência dos isolados;

505 ¹ = *Acinetobacter* sp. (n=3), *Pseudomonas stutzeri* (n=3), *Staphylococcus pseudintermedius* (n=3),
 506 *Acinetobacter johnsonii* (n=2), *Acinetobacter lwoffii* (n=2), *Aeromonas caviae* (n=2), *Canibacter oris*
 507 (n=2), *Corynebacterium felinum* (n=2), *Enterobacter cloacae* (n=2), *Enterococcus casseliflavus* (n=2),
 508 *Leclercia adecarboxylata* (n=2), *Moraxella osloensis* (n=2), *Neisseria canis* (n=2), *Pseudomonas*
 509 *koreensis* (n=2), *Pseudomonas mendocina* (n=2), *Pseudomonas* sp. (n=2), *Rothia nasimurium* (n=2),
 510 *Staphylococcus arlettae* (n=2), *Staphylococcus fleurettii* (n=2), *Staphylococcus haemolyticus* (n=2),
 511 *Staphylococcus saprophyticus* (n=2), *Staphylococcus warneri* (n=2), *Achromobacter xylosoxidans* (n=1),
 512 *Acinetobacter baumannii* (n=1), *Acinetobacter calcoaceticus* (n=1), *Acinetobacter haemolyticus* (n=1),
 513 *Acinetobacter radioresistens* (n=1), *Acinetobacter schindleri* (n=1), *Acinetobacter ursingii* (n=1),
 514 *Actinomyces oris* (n=1), *Aerococcus viridans* (n=1), *Bacillus megaterium* (n=1), *Carnobacterium*
 515 *maltaromaticum* (n=1), *Citrobacter freundii* (n=1), *Corynebacterium* sp. (n=1), *Enterobacter asburiae*
 516 (n=1), *Haemophilus parainfluenzae* (n=1), *Klebsiella oxytoca* (n=1), *Klebsiella pneumoniae* (n=1),

517 *Lactobacillus pentosus* (n=1), *Lactobacillus salivarius* (n=1), *Macrococcus canis* (n=1), *Micrococcus*
518 *luteus* (n=1), *Neisseria zoodegmatidis* (n=1), *Pantoea ananatis* (n=1), *Pantoea* sp. (n=1), *Pasteurella oralis*
519 (n=1), *Phytobacter ursingii* (n=1), *Proteus hauseri* (n=1), *Providencia alcalifaciens* (n=1), *Providencia*
520 *rettgeri* (n=1), *Pseudescherichia* sp. (n=1), *Pseudomonas aeruginosa* (n=1), *Pseudomonas alcaligenes*
521 (n=1), *Pseudomonas fluorescens* (n=1), *Pseudomonas putida* (n=1), *Pseudomonas synxantha* (n=1),
522 *Psychrobacter immobilis* (n=1), *Psychrobacter pulmonis* (n=1), *Psychrobacter sanguinis* (n=1), *Rahnella*
523 *aquaticilis* (n=1), *Raoultella ornithinolytica* (n=1), *Raoultella planticola* (n=1), *Staphylococcus capitis*
524 (n=1), *Staphylococcus chromogenes* (n=1), *Staphylococcus equorum* (n=1), *Staphylococcus lugdunensis*
525 (n=1), *Staphylococcus nepalensis* (n=1), *Streptococcus oralis* (n=1), *Streptococcus* sp. (n=1), *Weissella*
526 *cibaria* (n=1).
527

528 TABELA 3. Grupos de bactérias identificadas por espectrometria de massas em
 529 amostras de cavidade oral de 100 gatos aparentemente hígidos.
 530

Ordem (Famílias)*	Espécies	N	%
Enterobacterales (Enterobacteriaceae ¹ , Morganellaceae ² , Yersiniaceae ³)			
	¹ <i>Citrobacter freundii</i>	1	0,3
	¹ <i>Enterobacter asburiae</i> , <i>E. cloacae</i>	3	0,9
	¹ <i>Escherichia coli</i> , <i>E. vulneris</i>	12	3,5
	¹ <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>K. pneumoniae</i>	2	0,6
	¹ <i>Leclercia adecarboxylata</i>	2	0,6
	¹ <i>Pantoea agglomerans</i> , <i>P. ananatis</i> , <i>Pantoea</i> sp.	7	2,0
	¹ <i>Phytobacter ursingii</i>	1	0,3
	¹ <i>Pseudescherichia</i> sp.	1	0,3
	¹ <i>Raoultella ornithinolytica</i> , <i>R. planticola</i>	2	0,6
	² <i>Proteus hauseri</i>	1	0,3
	² <i>Providencia alcalifaciens</i> , <i>P. rettgeri</i>	2	0,6
	³ <i>Rahnella aquatilis</i>	1	0,3
Subtotal		35	10,2
Moraxellales (Moraxellaceae ¹); Neisseriales (Neisseriaceae ²); Pasteurellales (Pasteurellaceae ³)			
	¹ <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>A. calcoaceticus</i> , <i>A. haemolyticus</i> , <i>A. johnsonii</i> , <i>A. lwoffii</i> , <i>A. radioresistens</i> , <i>A. schindleri</i> , <i>Acinetobacter ursingii</i> , <i>Acinetobacter</i> sp.	13	3,8
	¹ <i>Moraxella osloensis</i>	2	0,6
	¹ <i>Psychrobacter immobilis</i> , <i>P. pulmonis</i> , <i>P. sanguinis</i>	3	0,9
	² <i>Neisseria animaloris</i> , <i>N. canis</i> , <i>N. zoodegmatidis</i>	40	11,7
	³ <i>Frederiksenia canicola</i>	13	3,8
	³ <i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1	0,3
	³ <i>Pasteurella dagmatis</i> , <i>P. multocida</i> , <i>P. oralis</i> , <i>P. stomatis</i>	55	16,0
Subtotal		127	37,0
Aeromonadales (Aeromonadaceae ¹); Burkholderiales (Alcaligenaceae ²); Pseudomonadales (Pseudomonadaceae ³)			
	¹ <i>Aeromonas caviae</i> , <i>A. hydrophila</i>	6	1,7
	² <i>Achromobacter xylosoxidans</i>	1	0,3
	² <i>Bordetella bronchiseptica</i>	4	1,2
	³ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>P. alcaligenes</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>P. koreensis</i> , <i>P. mendocina</i> , <i>P. putida</i> , <i>P. stutzeri</i> , <i>P. synxantha</i> , <i>Pseudomonas</i> sp.	14	4,1
Subtotal		25	7,3
Bacillales (Bacillaceae ¹ , Staphylococcaceae ²)			
	¹ <i>Bacillus megaterium</i>	1	0,3
	² <i>Macroccoccus canis</i>	1	0,3
	² <i>Staphylococcus arlettae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. capitis</i> , <i>S. chromogenes</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. equorum</i> , <i>S. felis</i> , <i>S. fleurettii</i> , <i>S. haemolyticus</i> , <i>S. hominis</i> , <i>S. lugdunensis</i> , <i>S. nepalensis</i> , <i>S. pettenkoferi</i> , <i>S. pseudintermedius</i> , <i>S. saprophyticus</i> , <i>S. sciuri</i> , <i>S. simulans</i> , <i>S. warneri</i> , <i>S. xylosus</i>	91	26,5
Subtotal		93	27,1
Actinomycetales (Actinomycetaceae ¹ , Corynebacteriaceae ²); Lactobacillales (Aerococcaceae ³ , Carnobacteriaceae ⁴ , Enterococcaceae ⁵ , Lactobacillaceae ⁶ , Streptococcaceae ⁷); Micrococcales (Microbacteriaceae ⁸ , Micrococcaceae ⁹)			
	¹ <i>Actinomyces oris</i>	1	0,3
	² <i>Corynebacterium felinum</i> , <i>Corynebacterium</i> sp.	3	0,9
	³ <i>Aerococcus viridans</i>	1	0,3
	⁴ <i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	1	0,3
	⁵ <i>Enterococcus casseliflavus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>E. hirae</i>	19	5,5
	⁶ <i>Lactobacillus pentosus</i> , <i>L. salivarius</i>	2	0,6
	⁶ <i>Weissella cibaria</i>	1	0,3
	⁷ <i>Streptococcus minor</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>S. suis</i> , <i>Streptococcus</i> sp.	30	8,7
	⁸ <i>Canibacter oris</i>	2	0,6
	⁹ <i>Micrococcus luteus</i>	1	0,3
	⁹ <i>Rothia nasimurium</i>	2	0,6
Subtotal		63	18,4
Total Geral		343	100

531

532 * <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>

533 TABELA 4. Frequência de micro-organismos de origem bacteriana obtidos de suabes
 534 de leito ungueal de 100 gatos aparentemente hígidos, diagnosticados por espectrometria
 535 de massas (MALDI-TOF MS).

536

Micro-organismo	N	%
<i>Staphylococcus pettenkoferi</i>	44	13,4
<i>Staphylococcus felis</i>	21	6,4
<i>Staphylococcus simulans</i>	19	5,8
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	18	5,5
<i>Pantoea</i> sp.	17	5,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	3,0
<i>Staphylococcus xylosus</i>	10	3,0
<i>Bacillus megaterium</i>	8	2,4
<i>Escherichia coli</i>	8	2,4
<i>Pseudomonas</i> sp.	8	2,4
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	8	2,4
<i>Enterococcus faecium</i>	7	2,1
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	6	1,8
<i>Streptococcus lutetiensis</i>	6	1,8
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	5	1,5
<i>Pantoea agglomerans</i>	5	1,5
<i>Psychrobacter pulmonis</i>	5	1,5
<i>Staphylococcus nepalensis</i>	5	1,5
<i>Lactobacillus murinus</i>	4	1,2
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	3	0,9
<i>Bacillus cereus</i>	3	0,9
<i>Bacillus pumilus</i>	3	0,9
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	0,9
<i>Enterococcus hirae</i>	3	0,9
<i>Psychrobacter sanguinis</i>	3	0,9
<i>Staphylococcus capitis</i>	3	0,9
<i>Staphylococcus caprae</i>	3	0,9
<i>Staphylococcus cohnii</i>	3	0,9
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	3	0,9
<i>Staphylococcus warneri</i>	3	0,9
Outros ¹	81	24,7
Total	328	100

537

538 MALDI-TOF MS = Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization – Time-of-flight Mass Spectrometry;

539 N = Número de isolados;

540 % = Frequência dos isolados;

541 ¹ = *Acinetobacter* sp. (n=2), *Enterobacter cloacae* (n=2), *Escherichia vulneris* (n=2), *Jeotgalicoccus*
 542 *halotolerans* (n=2), *Lactococcus gavageae* (n=2), *Lysinibacillus fusiformis* (n=2), *Moraxella osloensis*
 543 (n=2), *Pseudomonas abietaniphila* (n=2), *Pseudomonas fulva* (n=2), *Pseudomonas koreensis* (n=2),
 544 *Pseudomonas mendocina* (n=2), *Pseudomonas putida* (n=2), *Psychrobacter* sp. (n=2), *Staphylococcus*
 545 *arlettae* (n=2), *Staphylococcus equorum* (n=2), *Staphylococcus haemolyticus* (n=2), *Staphylococcus*

546 *hominis* (n=2), *Achromobacter mucicolens* (n=1), *Acinetobacter baumannii* (n=1), *Acinetobacter*
 547 *johnsonii* (n=1), *Acinetobacter pittii* (n=1), *Acinetobacter radioresistens* (n=1), *Acinetobacter schindleri*
 548 (n=1), *Aerococcus viridans* (n=1), *Arthrobacter oxydans* (n=1), *Bacillus altitudinis* (n=1), *Bacillus*
 549 *licheniformis* (n=1), *Corynebacterium ammoniagenes* (n=1), *Corynebacterium singulare* (n=1),
 550 *Enterobacter cancerogenus* (n=1), *Enterobacter kobei* (n=1), *Exiguobacterium aurantiacum* (n=1),
 551 *Exiguobacterium mexicanum* (n=1), *Klebsiella oxytoca* (n=1), *Kocuria rhizophila* (n=1), *Lactobacillus*
 552 *coelohominis* (n=1), *Lactobacillus johnsonii* (n=1), *Lactobacillus salivarius* (n=1), *Massilia oculi* (n=1),
 553 *Massilia timonae* (n=1), *Moraxella canis* (n=1), *Moraxella* sp. (n=1), *Pantoea stewartii* (n=1),
 554 *Pasteurella multocida* (n=1), *Providencia alcalifaciens* (n=1), *Pseudomonas aeruginosa* (n=1),
 555 *Pseudomonas brassicacearum* (n=1), *Pseudomonas chlororaphis* (n=1), *Pseudomonas monteilii* (n=1),
 556 *Pseudomonas xanthomarina* (n=1), *Psychrobacter alimentarius* (n=1), *Psychrobacter faecalis* (n=1),
 557 *Roseomonas mucosa* (n=1), *Serratia plymuthica* (n=1), *Sporosarcina luteola* (n=1), *Staphylococcus*
 558 *gallinarum* (n=1), *Staphylococcus lentus* (n=1), *Staphylococcus lugdunensis* (n=1), *Staphylococcus*
 559 *schleiferi* (n=1), *Staphylococcus sciuri* (n=1), *Stenotrophomonas maltophilia* (n=1), *Streptococcus minor*
 560 (n=1), *Streptococcus salivarius* (n=1), *Weissella cibaria* (n=1).

561 TABELA 5. Grupos de bactérias identificadas por espectrometria de massas em
 562 amostras de leite ungual de 100 gatos aparentemente hígidos.

563

Ordem (Famílias)*	Espécies	N	%
Enterobacterales (Enterobacteriaceae ¹ , Morganellaceae ² , Yersiniaceae ³)			
	¹ <i>Enterobacter cancerogenus</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>E. kobei</i>	4	1,2
	¹ <i>Escherichia coli</i> , <i>E. vulneris</i>	10	3,0
	¹ <i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0,3
	¹ <i>Leclercia adecarboxylata</i>	5	1,5
	¹ <i>Pantoea agglomerans</i> , <i>P. stewartii</i> , <i>Pantoea</i> sp.	23	7,0
	² <i>Providencia alcalifaciens</i>	1	0,3
	³ <i>Serratia plymuthica</i>	1	0,3
Subtotal		45	13,7
Moraxellales (Moraxellaceae ¹); Pasteurellales (Pasteurellaceae ²)			
	¹ <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>A. johnsonii</i> , <i>A. lwoffii</i> , <i>A. pittii</i> , <i>A. radioresistens</i> , <i>A. schindleri</i> , <i>Acinetobacter</i> sp.	10	3,0
	¹ <i>Moraxella canis</i> , <i>M. osloensis</i> , <i>Moraxella</i> sp.	4	1,2
	¹ <i>Psychrobacter alimentarius</i> , <i>P. faecalis</i> , <i>P. pulmonis</i> , <i>P. sanguinis</i> , <i>Psychrobacter</i> sp.	12	3,7
	² <i>Pasteurella multocida</i>	1	0,3
Subtotal		27	8,2
Burkholderiales (Alcaligenaceae ¹ , Oxalobacteraceae ²); Pseudomonadales (Pseudomonadaceae ³); Rhodospirillales (Acetobacteraceae ⁴); Xanthomonadales (Xanthomonadaceae ⁵)			
	¹ <i>Achromobacter mucicolens</i>	1	0,3
	² <i>Massilia oculi</i> , <i>M. timonae</i>	2	0,6
	³ <i>Pseudomonas abietaniphila</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>P. brassicacearum</i> , <i>P. chlororaphis</i> , <i>P. fulva</i> , <i>P. koreensis</i> , <i>P. mendocina</i> , <i>P. monteilii</i> , <i>P. putida</i> , <i>P. stutzeri</i> , <i>P. xanthomarina</i> , <i>Pseudomonas</i> sp.	29	8,8
	⁴ <i>Roseomonas mucosa</i>	1	0,3
	⁵ <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0,3
Subtotal		34	10,4
Bacillales (Bacillaceae ¹ , Planococcaceae ² , Staphylococcaceae ³)			
	¹ <i>Bacillus altitudinis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>B. pumilus</i>	16	4,9
	¹ <i>Exiguobacterium aurantiacum</i> , <i>E. mexicanum</i>	2	0,6
	¹ <i>Lysinibacillus fusiformis</i>	2	0,6
	² <i>Sporosarcina luteola</i>	1	0,3
	³ <i>Jeotgalicoccus halotolerans</i>	2	0,6
	³ <i>Staphylococcus arlettae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. capitis</i> , <i>S. caprae</i> , <i>S. cohnii</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. equorum</i> , <i>S. felis</i> , <i>S. gallinarum</i> , <i>S. haemolyticus</i> , <i>S. hominis</i> , <i>S. lentus</i> , <i>S. lugdunensis</i> , <i>S. nepalensis</i> , <i>S. pettenkoferi</i> , <i>S. pseudintermedius</i> , <i>S. saprophyticus</i> , <i>S. schleiferi</i> , <i>S. simulans</i> , <i>S. warneri</i> , <i>S. xylosus</i>	163	49,7
Subtotal		186	56,7
Actinomycetales (Corynebacteriaceae ¹); Lactobacillales (Aerococcaceae ² , Enterococcaceae ³ , Lactobacillaceae ⁴ , Streptococcaceae ⁵); Micrococcales (Micrococcaceae ⁶)			
	¹ <i>Corynebacterium ammoniagenes</i> , <i>C. singulare</i>	2	0,6
	² <i>Aerococcus viridans</i>	1	0,3
	³ <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>E. hirae</i>	13	4,0
	⁴ <i>Lactobacillus coleohominis</i> , <i>L. johnsonii</i> , <i>L. murinus</i> , <i>L. salivarius</i>	7	2,1
	⁴ <i>Weissella cibaria</i>	1	0,3
	⁵ <i>Lactococcus gaviae</i>	2	0,6
	⁵ <i>Streptococcus lutetiensis</i> , <i>S. minor</i> , <i>S. salivarius</i>	8	2,4
	⁶ <i>Arthrobacter oxydans</i>	1	0,3
	⁶ <i>Kocuria rhizophila</i>	1	0,3
Subtotal		36	11,0
Total Geral		343	100

564

565 * <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>

566 **5.2 Sequenciamento genético em larga escala**

567 O NGS foi realizado em 40 amostras (20 de cavidade oral e 20 de leito ungueal).
568 Os resultados revelaram, além das espécies identificadas, o número total de unidades
569 taxonômicas operacionais (UTO) em cada amostra, que variou entre 229 e 116577 nas
570 amostras de cavidade oral (total = 354521; média = 17726) (Tabela 6 e Figura 1) e entre
571 11 e 18344 nas amostras de leito ungueal (total = 110335; média = 5516) (Tabela 7 e
572 Figura 2).

573

574 TABELA 6. Gêneros bacterianos identificados por NGS* em amostras de cavidade oral de 20 gatos aparentemente hígidos.

575

Identificação do gato (número total de UTOs)																				
Micro-organismo	Gato 5		Gato 10		Gato 15		Gato 20		Gato 25		Gato 30		Gato 35		Gato 40		Gato 45		Gato 50	
	(116577)		(1559)		(229)		(27515)		(5705)		(4739)		(18182)		(16342)		(6639)		(7257)	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Bergeyella</i>	1137	0,98	109	6,99	0	0	4060	14,76	191	3,35	509	10,74	52	0,29	481	2,94	116	1,75	37	0,51
<i>Capnocytophaga</i>	1625	1,39	47	3,01	8	3,49	1319	4,79	59	1,03	26	0,55	419	2,3	370	2,26	53	0,8	120	1,65
<i>Citrobacter</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Conchiformibius</i>	5420	4,65	401	25,72	0	0	3387	12,31	466	8,17	634	13,38	22	0,12	603	3,69	386	5,81	251	3,46
<i>Fusobacterium</i>	10756	9,23	278	17,83	34	14,85	1027	3,73	161	2,82	50	1,06	3015	16,58	1204	7,37	817	12,31	615	8,47
<i>Moraxella</i>	8397	7,2	238	15,27	52	22,71	4170	15,16	971	17,02	236	4,98	1159	6,37	2548	15,59	1423	21,43	1855	25,56
<i>Neisseria</i>	263	0,23	77	4,94	18	7,86	917	3,33	36	0,63	24	0,51	511	2,81	528	3,23	40	0,6	136	1,87
<i>Pasteurella</i>	7214	6,19	111	7,12	6	2,62	2763	10,04	1379	24,17	1710	36,08	657	3,61	4445	27,2	126	1,9	118	1,63
<i>Porphyromonas</i>	25029	21,47	222	14,24	71	31	1318	4,79	774	13,57	296	6,25	6912	38,02	1066	6,52	1458	21,96	1283	17,68
<i>Streptobacillus</i>	9726	8,34	6	0,38	0	0	26	0,09	11	0,19	5	0,11	9	0,05	1102	6,74	61	0,92	6	0,08

576

577 UTO = Unidade taxonômica operacional

578 * = mínimo de 4% de frequência em, pelo menos, uma amostra.

579 N = Número de UTOs pertencentes ao respectivo gênero.

580 % = Porcentagem do número de UTOs de um gênero em relação ao total de UTOs da respectiva amostra.

581

582 TABELA 6 (continuação). Gêneros bacterianos identificados por NGS* em amostras de cavidade oral de 20 gatos aparentemente hígidos.

583

Identificação do gato (número total de UTOs)																				
Micro-organismo	Gato 55		Gato 60		Gato 65		Gato 70		Gato 75		Gato 80		Gato 85		Gato 90		Gato 95		Gato 100	
	(14884)		(22283)		(14392)		(10914)		(21903)		(14392)		(23647)		(13607)		(6919)		(6836)	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Bergeyella</i>	115	0,77	592	2,66	53	0,37	73	0,67	25	0,11	272	1,89	37	0,16	877	6,45	587	8,48	130	1,9
<i>Capnocytophaga</i>	804	5,4	558	2,5	95	0,66	51	0,47	9	0,04	260	1,81	15	0,06	200	1,47	56	0,81	178	2,6
<i>Citrobacter</i>	3	0,02	1	0,01	4	0,03	2	0,02	5	0,02	1	0,01	18767	79,36	18	0,13	149	2,15	0	0
<i>Conchiformibius</i>	496	3,33	0	0	2031	14,11	4749	43,51	181	0,83	904	6,28	1845	7,8	501	3,68	2859	41,32	866	12,67
<i>Fusobacterium</i>	2649	17,8	3727	16,73	4245	29,5	343	3,14	640	2,92	1695	11,78	677	2,86	1663	12,22	474	6,85	579	8,47
<i>Moraxella</i>	2930	19,69	8934	40,1	879	6,11	301	2,76	173	0,79	4184	29,07	268	1,13	1293	9,5	752	10,87	1890	27,65
<i>Neisseria</i>	1260	8,47	530	2,38	40	0,28	116	1,06	28	0,13	248	1,72	15	0,06	321	3,83	26	0,38	52	0,76
<i>Pasteurella</i>	608	4,08	387	1,74	107	0,74	98	0,9	53	0,24	710	4,93	36	0,15	869	6,39	30	0,43	577	8,44
<i>Porphyromonas</i>	2651	17,81	5693	25,55	228	1,58	77	0,71	24	0,11	628	4,36	119	0,5	2942	21,62	39	0,56	854	12,49
<i>Streptobacillus</i>	17	0,11	0	0	440	3,06	25	0,23	169	0,77	877	6,09	183	0,77	630	4,63	71	1,03	166	2,43

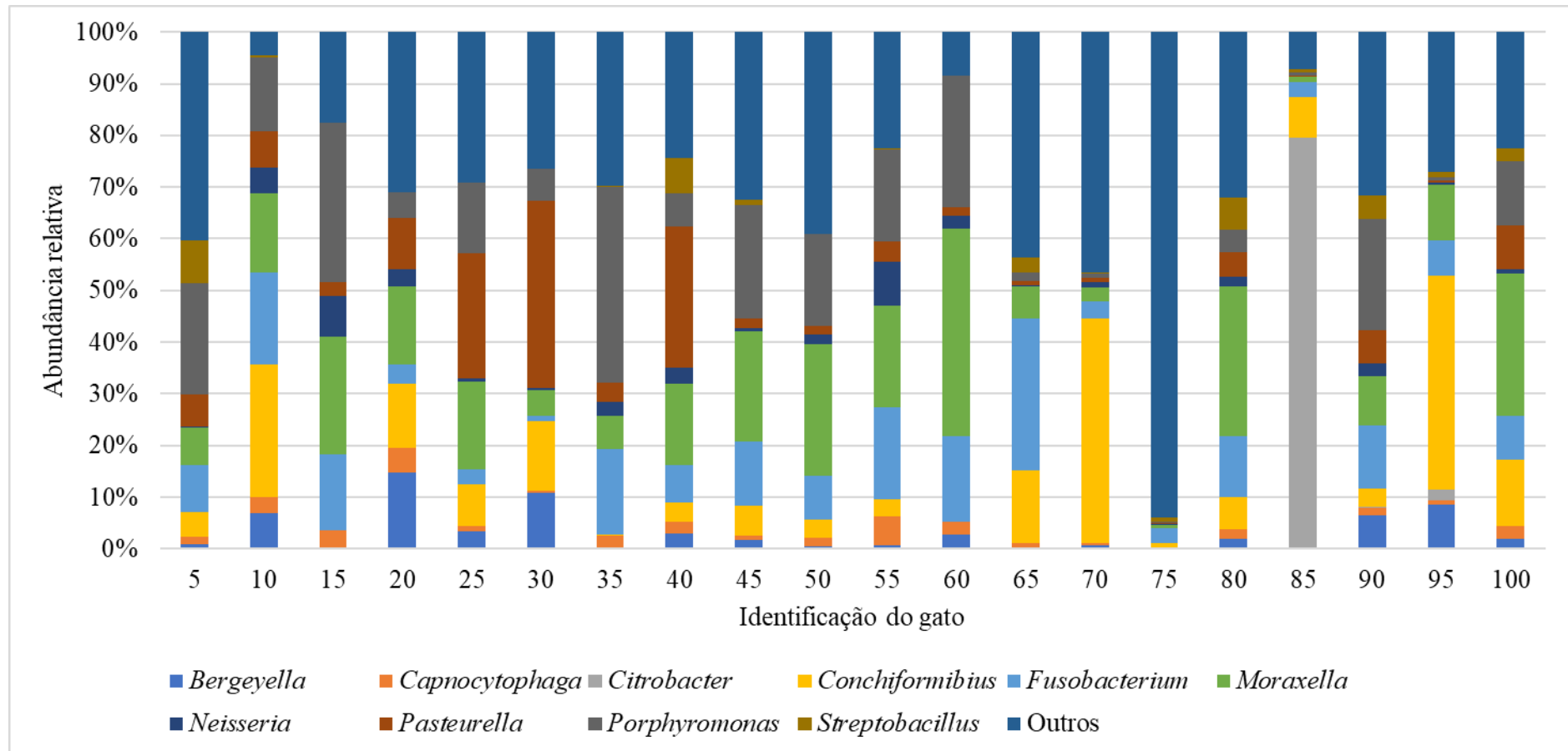
584

585 UTO = Unidade taxonômica operacional

586 * = mínimo de 4% de frequência em, pelo menos, uma amostra.

587 N = Número de UTOs pertencentes ao respectivo gênero.

588 % = Porcentagem do número de UTOs de um gênero em relação ao total de UTOs da respectiva amostra.



589

590

591 FIGURA 1. Abundância relativa dos gêneros de micro-organismos mais frequentes identificados por NGS em amostras de cavidade oral de 20
 592 gatos aparentemente hígidos.

593 *Outros = Gêneros menos frequentes: *Actinomyces*, *Bartonella*, *Campylobacter*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Mycoplasma* e
 594 *Streptobacillus*.

595 TABELA 7. Família¹ e gêneros² bacterianos identificados por NGS* em amostras de leite ungueal de 20 gatos aparentemente hígidos.

596

Micro-organismo	Identificação do gato (número total de UTOs)																			
	Gato 5		Gato 10		Gato 15		Gato 20		Gato 25		Gato 30		Gato 35		Gato 40		Gato 45		Gato 50	
	(493)		(7501)		(161)		(11)		(614)		(649)		(758)		(20)		(8347)		(8837)	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
² <i>Acinetobacter</i>	50	10,14	0	0	4	2,48	0	0	23	3,75	14	2,16	0	0	0	0	0	0	0	0
² <i>Bifidobacterium</i>	0	0	693	9,24	0	0	0	0	0	0	0	0	8	1,06	9	45	0	0	0	0
¹ Enterobacteriaceae	312	63,29	6	0,08	42	26,09	2	18,18	178	28,99	143	22,03	7	0,92	5	25	6	0,07	11	0,12
² <i>Fusobacterium</i>	0	0	5	0,07	27	16,77	0	0	198	32,25	0	0	0	0	0	0	1099	13,17	225	2,55
² <i>Lactobacillus</i>	14	2,84	3871	51,61	0	0	0	0	0	0	0	0	18	2,37	0	0	265	3,17	2	0,02
² <i>Lysinibacillus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2391	28,65	6072	68,71
² <i>Megasphaera</i>	0	0	727	9,69	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	30	0	0	0	0
² <i>Moraxella</i>	0	0	176	2,35	38	23,6	0	0	20	3,26	10	1,54	0	0	0	0	194	2,32	162	1,83
² <i>Neisseria</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	690	91,03	0	0	36	0,43	11	0,12
² <i>Porphyromonas</i>	4	0,81	9	0,12	30	18,63	0	0	18	2,93	0	0	0	0	0	0	1130	13,54	283	3,2
² <i>Staphylococcus</i>	11	2,23	1	0,01	14	8,7	0	0	77	12,54	209	32,2	0	0	0	0	20	0,24	119	1,35

597

598 UTO = Unidade taxonômica operacional

599 * = mínimo de 10% de frequência em, pelo menos, uma amostra.

600 N = Número de UTOs pertencentes ao respectivo gênero ou família.

601 % = Porcentagem do número de UTOs de um gênero ou família em relação ao total de UTOs da respectiva amostra.

602

603 TABELA 7 (continuação). Família¹ e gêneros² bacterianos identificados por NGS* em amostras de leite ungual de 20 gatos aparentemente
604 hígidos.

Identificação do gato (número total de UTOs)																				
Micro-organismo	Gato 55 (12414)		Gato 60 (18344)		Gato 65 (3828)		Gato 70 (8100)		Gato 75 (2358)		Gato 80 (6440)		Gato 85 (7221)		Gato 90 (3398)		Gato 95 (12908)		Gato 100 (7933)	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
² <i>Acinetobacter</i>	4	0,03	5	0,03	501	13,09	217	2,68	112	4,74	108	1,68	276	3,82	417	12,27	55	0,43	43	0,54
² <i>Bifidobacterium</i>	1457	11,74	2237	12,19	7	0,18	14	0,17	12	0,51	90	1,4	22	0,3	2	0,09	7	0,05	0	0
¹ Enterobacteriaceae	238	1,92	116	0,63	86	2,25	51	0,63	143	6,05	78	1,21	84	1,16	69	2,03	55	0,43	58	0,73
² <i>Fusobacterium</i>	83	0,67	9	0,05	26	0,68	84	1,04	4	0,17	741	11,49	261	3,61	33	0,97	4861	37,66	1723	21,72
² <i>Lactobacillus</i>	76	0,61	825	4,5	20	0,52	6	0,07	45	1,91	585	9,07	45	0,62	116	3,41	8	0,06	0	0
² <i>Lysinibacillus</i>	0	0	0	0	5	0,13	1	0,01	1	0,04	0	0	6	0,08	3	0,09	0	0	0	0
² <i>Megasphaera</i>	3082	24,83	8153	44,45	2	0,05	95	1,17	5	0,21	169	2,62	9	0,12	5	0,15	1	0,01	0	0
² <i>Moraxella</i>	45	0,36	2	0,01	36	0,94	20	0,25	48	2,03	212	3,29	235	3,25	32	0,94	503	3,9	249	3,14
² <i>Neisseria</i>	28	0,23	0	0	21	0,55	4	0,05	1	0,04	13	0,2	24	0,33	70	2,06	32	0,25	23	0,29
² <i>Porphyromonas</i>	110	0,89	7	0,04	22	0,57	27	0,33	24	1,02	21	0,33	52	0,72	40	1,18	333	2,58	433	5,46
² <i>Staphylococcus</i>	40	0,32	69	0,38	486	12,7	453	5,59	816	34,55	746	11,57	1693	23,44	263	7,74	54	0,42	115	1,45

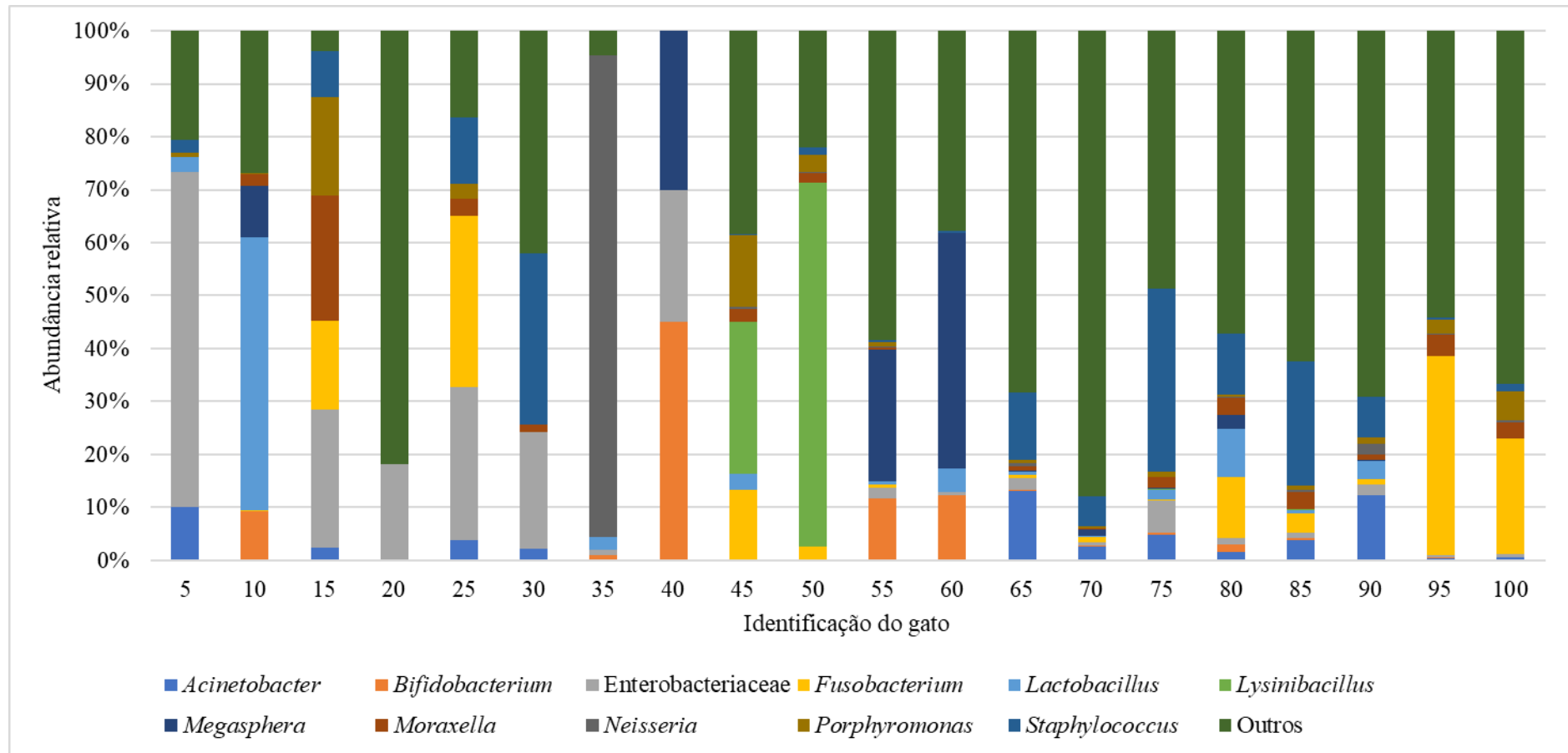
605

606 UTO = Unidade taxonômica operacional

607 * = mínimo de 10% de frequência em, pelo menos, uma amostra.

608 N = Número de UTOs pertencentes ao respectivo gênero ou família.

609 % = Porcentagem do número de UTOs de um gênero ou família em relação ao total de UTOs da respectiva amostra.



610

611

612 FIGURA 2. Abundância relativa da família e gêneros de micro-organismos mais frequentes identificadas por NGS em amostras de leite ungual
 613 de 20 gatos aparentemente hígidos.

614 *Outros = Gêneros menos frequentes: *Bacillus*, *Bartonella*, *Campylobacter*, *Capnocytophaga*, *Clostridium*, *Conchiformibius*, *Corynebacterium*,
 615 *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Mycobacterium*, *Pasteurella*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Streptococcus* e *Treponema*.

5.3 Teste de sensibilidade microbiana *in vitro* dos isolados

O perfil de sensibilidade aos antimicrobianos das principais famílias de bactérias identificadas nos gatos amostrados está sumariado na Tabela 8.

Cloranfenicol foi o fármaco mais eficaz diante das enterobactérias (76/80 = 95%), seguido de marbofloxacino (75/80 = 93,7%) e sulfametoxazol/trimetoprim (73/80 = 91,3%). Os demais antimicrobianos testados para estes micro-organismos apresentaram eficácia varável, porém nenhuma < 70%.

Em geral, as espécies dos gêneros *Moraxella*, *Neisseria* e *Pasteurella* apresentaram alta sensibilidade aos derivados β -lactâmicos (amoxicilina/ácido clavulânico, 153/154 = 99,4%; benzilpenicilina, 145/154 = 94,2% e cefotaxima, 138/154 = 89,6%). Em contraste, apresentaram resistência variável diante de sulfametoxazol/trimetoprim (46/154 = 29,9%) e ácido nalidíxico (38/154 = 22,8%).

Espécies do gênero *Pseudomonas* apresentaram alta sensibilidade para os aminoglicosídeos (amicacina, 57/59 = 96,6%; tobramicina, 53/59 = 89,8%), carbapenêmicos (imipenem, 55/59 = 93,2%; meropenem, 52/59 = 88,1%) e levofloxacino (54/59 = 91,5%). No entanto, os isolados apresentaram alta resistência para aztreonam (17/59 = 28,8%).

Em relação ao grupo representado pelos estafilococos, os antimicrobianos mais eficazes foram linezolida (268/279 = 96,1%) e fluoroquinolonas (levofloxacino, 263/279 = 94,3% e marbofloxacino, 258/279 = 92,5%). Em contraste, os isolados apresentaram maior resistência para cefoxitina (78/279 = 28%) e imipenem (78/279 = 28%).

As espécies de estreptococos e outros cocos gram-positivos apresentaram resistência variável aos diferentes antimicrobianos testados, como vancomicina (57/99 = 57,6%) e sulfametoxazol/trimetoprim (55/99 = 55,6%), enquanto os fármacos mais eficazes para estes micro-organismos foram linezolida (56/99 = 56,6%) e levofloxacino (55/99 = 55,6%).

A multirresistência foi observada em 17% (114/671) dos isolados bacterianos, dos quais 66 foram obtidos das amostras de cavidade oral (66/343 = 19,2%) e 48 de leito ungueal (48/328 = 14,6%). As espécies multirresistentes mais frequentes foram: *Enterococcus faecalis* (11/11 = 100%), *Enterococcus faecium* (10/11 = 90,9%),

648 *Pasteurella multocida* (9/25 = 36%), *Enterococcus hirae* (7/8 = 87,5%), *Streptococcus*
649 *lutetiensis* (6/6 = 100%) e *Escherichia coli* (5/16 = 31,2%).

650

651 **5.4 Identificação de *Staphylococcus aureus* e *S. pseudintermedius* meticilina-**
652 **resistentes**
653

654 Vinte e dois isolados de *S. aureus* e seis de *S. pseudintermedius* foram
655 identificados por MALDI-TOF MS nos gatos amostrados e cultivados no meio ágar
656 cromogênico MRSA. Após 24 horas de incubação, nove (9/28 = 32,1%) apresentaram
657 isolamento no meio seletivo, dos quais seis *S. aureus* (6/22 = 27,3) e três *S.*
658 *pseudintermedius* (3/6 = 50%), e foram submetidos à detecção dos genes de resistência
659 à meticilina.

660 A técnica de PCR detectou o gene *mecA* em três (3/9 = 33,3%) isolados
661 testados, dos quais um *S. aureus* (1/22 = 4,5%) e dois *S. pseudintermedius* (2/6 =
662 33,3%). O gene *mecC* não foi detectado em nenhum isolado.

663 TABELA 8. Perfil de sensibilidade microbiana *in vitro*, pelo método de difusão de discos, em 671 bactérias isoladas de cavidade oral (n = 343) e
 664 leite ungueal (n = 328) de 100 gatos aparentemente hígidos.

Famílias de micro-organismos (NCBI, 2023)																	
		Enterobacteriaceae ¹ Morganellaceae ² Yersiniaceae ³ (n = 80)			Moraxellaceae ⁴ Neisseriaceae ⁵ Pasteurellaceae ⁶ (n = 154)			Acetobacteraceae ⁷ Aeromonadaceae ⁸ Alcaligenaceae ⁹ Oxalobacteraceae ¹⁰ Pseudomonadaceae ¹¹ Xanthomonadaceae ¹² (n = 59)			Bacillaceae ¹³ Planococcaceae ¹⁴ Staphylococcaceae ¹⁵ (n = 279)			Actinomycetaceae ¹⁶ Aerococcaceae ¹⁷ Carnobacteriaceae ¹⁸ Corynebacteriaceae ¹⁹ Enterococcaceae ²⁰ Lactobacillaceae ²¹ Microbacteriaceae ²² Micrococcaceae ²³ Streptococcaceae ²⁴ (n = 99)			
Classe	Antimicrobiano	S (%)	I (%)	R (%)	S (%)	I (%)	R (%)	S (%)	I (%)	R (%)	S (%)	I (%)	R (%)	S (%)	I (%)	R (%)	
Aminoglicosídeos	Amicacina	70	28,8	1,2	-	-	-	96,6	1,7	1,7	90,7	0	9,3	-	-	-	
	Tobramicina	-	-	-	-	-	-	89,8	1,7	8,5	-	-	-	-	-	-	
Anfenicóis	Cloranfenicol	95	1,2	3,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Carbapenêmicos	Imipenem	76,2	20	3,8	-	-	-	93,2	3,4	3,4	72	0	28	-	-	-	
	Meropenem	-	-	-	-	-	-	88,1	5,1	6,8	-	-	-	-	-	-	
Cefalosporinas	Cefotaxima	-	-	-	89,6	0	10,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Cefovecin	-	-	-	70,1	7,1	22,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Cefoxitina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	72	0	28	-	-	-	
	Ceftazidima	-	-	-	-	-	-	81,4	0	18,6	-	-	-	-	-	-	
	Ceftriaxona	77,4	13,8	8,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	47,5	0	52,5	
Fluoroquinolonas	Ácido nalidíxico	-	-	-	75,3	0	24,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Ciprofloxacino	-	-	-	78,6	0	21,4	81,4	15,2	3,4	-	-	-	-	-	-	
	Enrofloxacino	-	-	-	-	-	-	69,5	23,7	6,8	84,9	11,5	3,6	28,3	21,2	50,5	
	Levofloxacino	83,8	11,2	5	78,6	0	21,4	91,5	6,8	1,7	94,3	3,2	2,5	55,6	20,2	24,2	
	Marbofloxacino	93,7	3,8	2,5	-	-	-	-	-	-	92,5	5	2,5	39,4	22,2	38,4	
Glicopeptídeos	Vancomicina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	42,4	0	57,6	
Macrolídeos	Eritromicina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	64,5	14,7	20,8	46,5	28,2	25,3	
Monobactâmicos	Aztreonam	90	2,5	7,5	-	-	-	57,6	13,6	28,8	-	-	-	-	-	-	
Oxazolidinonas	Linezolida	-	-	-	-	-	-	-	-	-	96,1	0	3,9	56,6	0	43,4	
Penicilinas	Amoxicilina/ác. clavulânico	83,8	11,2	5	99,4	0	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Benzilpenicilina	-	-	-	94,2	0	5,8	-	-	-	-	-	-	47,5	0	52,5	
Sulfonamidas	Sulfametoxazol/trimetoprim	91,3	1,2	7,5	70,1	0	29,9	-	-	-	-	-	-	34,3	10,1	55,6	
Tetraciclinas	Tetraciclina	-	-	-	88,3	0	11,7	-	-	-	87,5	2,5	10	35,4	19,1	45,5	

665 S = Sensível; I = Intermediário; R = Resistente;

666 ¹ = *Citrobacter freundii* (n=1), *Enterobacter asburiae* (n=1), *E. cancerogenus* (n=1), *E. cloacae* (n=4), *E. kobei* (n=1), *Escherichia coli* (n=16), *E. vulneris* (n=6), *Klebsiella oxytoca* (n=2), *K.*
667 *pneumoniae* (n=1), *Leclercia adecarboxylata* (n=7), *Pantoea* sp. (n=18), *P. agglomerans* (n=10), *P. ananatis* (n=1), *P. stewartii* (n=1), *Phytobacter ursingii* (n=1), *Pseudodescherichia* sp. (n=1),
668 *Raoultella ornithinolytica* (n=1), *R. planticola* (n=1); ² = *Proteus hauseri* (n=1), *Providencia alcalifaciens* (n=2), *P. rettgeri* (n=1); ³ = *Rahnella aquatilis* (n=1), *Serratia plymuthica* (n=1); ⁴ =
669 *Acinetobacter* sp. (n=5), *A. baumannii* (n=2), *A. calcoaceticus* (n=1), *A. haemolyticus* (n=1), *A. johnsonii* (n=3), *A. lwoffii* (n=5), *A. pittii* (n=1), *A. radioresistens* (n=2), *A. schindleri* (n=1), *A.*
670 *ursingii* (n=1), *Moraxella* sp. (n=1), *M. canis* (n=1), *M. osloensis* (n=4), *Psychrobacter* sp. (n=2), *P. alimentarius* (n=1), *P. faecalis* (n=1), *P. immobilis* (n=1), *P. pulmonis* (n=6), *P. sanguinis*
671 (n=4); ⁵ = *Neisseria animaloris* (n=37), *N. canis* (n=2), *N. zoodegmatis* (n=1); ⁶ = *Frederiksenia canicola* (n=13), *Haemophilus parainfluenzae* (n=1), *Pasteurella dagmatis* (n=19), *P. multocida*
672 (n=25), *P. oralis* (n=1), *P. stomatis* (n=11); ⁷ = *Roseomonas mucosa* (n=1); ⁸ = *Aeromonas caviae* (n=2), *A. hydrophila* (n=4); ⁹ = *Achromobacter mucicolens* (n=1), *A. xylosoxidans* (n=1),
673 *Bordetella bronchiseptica* (n=4); ¹⁰ = *Massilia oculi* (n=1), *M. timonae* (n=1); ¹¹ = *Pseudomonas* sp. (n=10), *P. abietaniphila* (n=2), *P. aeruginosa* (n=2), *P. alcaligenes* (n=1), *P. brassicacearum*
674 (n=1), *P. chlororaphis* (n=1), *P. fluorescens* (n=1), *P. fulva* (n=2), *P. koreensis* (n=4), *P. mendocina* (n=4), *P. monteilii* (n=1), *P. putida* (n=3), *P. stutzeri* (n=9), *P. synxantha* (n=1), *P.*
675 *xanthomarina* (n=1); ¹² = *Stenotrophomonas maltophilia* (n=1); ¹³ = *Bacillus altitudinis* (n=1), *B. cereus* (n=3), *B. licheniformis* (n=1), *B. megaterium* (n=9), *B. pumilus* (n=3), *Exiguobacterium*
676 *aurantiacum* (n=1), *E. mexicanum* (n=1), *Lysinibacillus fusiformis* (n=2); ¹⁴ = *Sporosarcina luteola* (n=1); ¹⁵ = *Jeotgaliococcus halotolerans* (n=2), *Macrococcus canis* (n=1), *Staphylococcus*
677 *arlettae* (n=4), *S. aureus* (n=22), *S. capitis* (n=4), *S. caprae* (n=3), *S. chromogenes* (n=1), *S. cohnii* (n=3), *S. epidermidis* (n=23), *S. equorum* (n=3), *S. felis* (n=50), *S. fleurettii* (n=1), *S.*
678 *gallinarum* (n=1), *S. haemolyticus* (n=4), *S. hominis* (n=6), *S. lentus* (n=1), *S. lugdunensis* (n=2), *S. nepalensis* (n=6), *S. pettenkoferi* (n=49), *S. pseudintermedius* (n=6), *S. saprophyticus* (n=10),
679 *S. schleiferi* (n=1), *S. sciuri* (n=5), *S. simulans* (n=23), *S. warneri* (n=5), *S. xylosus* (n=20); ¹⁶ = *Actinomyces oris* (n=1); ¹⁷ = *Aerococcus viridans* (n=2); ¹⁸ = *Carnobacterium maltaromaticum*
680 (n=1); ¹⁹ = *Corynebacterium* sp. (n=1), *C. ammoniagenes* (n=1), *C. felinum* (n=2), *C. singulare* (n=1); ²⁰ = *Enterococcus casseliflavus* (n=2), *E. faecalis* (n=11), *E. faecium* (n=11), *E. hirae*
681 (n=8); ²¹ = *Lactobacillus coleohominis* (n=1), *L. johnsonii* (n=1), *L. murinus* (n=4), *L. pentosus* (n=1), *L. salivarius* (n=2), *Weissella cibaria* (n=2); ²² = *Canibacter oris* (n=2); ²³ = *Arthrobacter*
682 *oxydans* (n=1), *Kocuria rhizophila* (n=1), *Micrococcus luteus* (n=1), *Rothia nasimurium* (n=2); ²⁴ = *Lactococcus gavageae* (n=2), *Streptococcus* sp. (n=1), *S. lutetiensis* (n=6), *S. minor* (n=21), *S.*
683 *oralis* (n=1), *S. pyogenes* (n=4), *S. salivarius* (n=1), *S. suis* (n=4).

684

685

686 6. DISCUSSÃO

687

688 O presente estudo identificou grande complexidade de micro-organismos de
689 origem bacteriana e fúngica na cavidade oral e leito ungueal de 100 gatos
690 aparentemente hígidos, incluindo agentes de potencial zoonótico, utilizando meios de
691 cultura convencionais e seletivos, além de técnicas moleculares de vanguarda, como a
692 espectrometria de massas e NGS. Revelou, ainda, potencial risco de transmissão de
693 micro-organismos oportunistas multirresistentes para os humanos e outros animais
694 secundária aos acidentes por mordeduras ou arranhaduras de gatos, visto que os isolados
695 bacterianos apresentaram alta multirresistência (17%) aos antimicrobianos
696 convencionais.

697 O uso de meios de cultura seletivos possibilitou o isolamento de espécies de
698 interesse dos gêneros *Pasteurella* e *Staphylococcus*. Para a caracterização em nível de
699 espécie dos isolados de origem bacteriana e leveduras foi utilizada a espectrometria de
700 massas (MALDI-TOF MS), que identificou espécies até então pouco descritas ou
701 mesmo relatadas pela primeira vez como habitantes da microbiota da cavidade oral e
702 leito ungueal de felinos domésticos.

703 Entre as espécies do gênero *Pasteurella*, habitantes normais do trato digestório e
704 respiratório de animais domésticos, *P. multocida* tem sido descrita como predominante
705 na microbiota da cavidade oral de gatos (OEHLER et al., 2009; BARSÍ et al., 2023). No
706 entanto, a utilização da espectrometria de massas nos isolados de cavidade oral dos
707 felinos amostrados revelou, também, alta frequência de *P. dagmatis*, pouco descrita
708 como habitante da cavidade oral de gatos, seguida de *P. stomatis*. A identificação destas
709 espécies na microbiota oral dos gatos amostrados merece atenção no que tange ao risco
710 zoonótico, após acidentes por mordedura de gatos, visto que já foram descritas em
711 complicações em humanos agredidos ou com contato estreito com animais. Neste
712 contexto, *P. multocida* tem sido relatada em infecções graves em humanos, como
713 observado em relato de osteomielite em paciente na Espanha, tratado com
714 antibioticoterapia inadequada, após mordedura de gato (VECILLA et al., 2023). *P.*
715 *dagmatis* foi isolada em hemocultura de paciente idoso, no Irã, com endocardite e na
716 amostra de secreção oral de seu gato de estimação (STRAHM et al., 2012). No mesmo
717 relato, apesar de não haver histórico de acidente por mordedura, técnicas moleculares de

718 sequenciamento genético e eletroforese confirmaram a assinatura genética idêntica entre
719 ambos os isolados obtidos do tutor e do gato doméstico.

720 Espécies do gênero *Neisseria*, como *N. animaloris* e *N. zoogedmatis*, também
721 têm sido descritas como habitantes normais da cavidade oral e trato respiratório de
722 felinos domésticos, e podem estar envolvidas em complicações clínicas em humanos
723 secundárias às agressões por mordeduras de gatos (HEYDECKE et al., 2013;
724 MERLINO et al., 2021), reforçando o potencial zoonótico destes micro-organismos.
725 Apesar de *N. zoodegmatis* predominar nos relatos de humanos agredidos por gatos
726 domésticos, a espécie mais frequente na cavidade oral dos animais amostrados foi *N.*
727 *animaloris*. Este micro-organismo foi descrito em infecção de ferida no braço de
728 paciente idoso que residia em área rural do México, decorrente de provável acidente por
729 mordedura após separar brigas de gatos errantes (HELMIG et al., 2020).

730 Entre as espécies do gênero *Staphylococcus*, consideradas habitantes comensais
731 da pele e mucosas de animais e humanos (WEESE, 2013), *S. felis* foi prevalente nas
732 secreções orais dos gatos amostrados, seguido de *S. xylosus*, *S. aureus* e, em menor
733 frequência, *S. pettenkoferi*, *S. epidermidis*, *S. pseudintermedius* e *S. simulans*. Apesar de
734 raras, foram descritas infecções secundárias à mordedura de felinos em humanos
735 causadas por estafilococos coagulase-negativos (como *S. felis* e *S. xylosus*). Na
736 Holanda, foi relatada contaminação de ferida cirúrgica em paciente idosa, da qual foi
737 isolado *S. felis* com assinatura genética idêntica (sequenciamento genético comparativo)
738 ao isolado da cavidade oral de seu gato doméstico, suportando a evidência de
739 transmissão zoonótica do agente (SIPS et al., 2023). Ainda, infecções secundárias após
740 mordeduras de gatos domésticos causadas por estafilococos coagulase-positivos, como
741 *S. aureus*, têm sido comumente relatadas em humanos (OEHLER et al., 2009;
742 KHEIRAN et al., 2019).

743 *Streptococcus* spp., particularmente *S. minor*, também foram isolados com alta
744 ocorrência nas secreções orais dos gatos amostrados. Estes micro-organismos também
745 são considerados habitantes comensais da pele e mucosas de gatos hígidos e com
746 doenças periodontais (WHYTE et al., 2017). Várias espécies de estreptococos foram
747 relatadas em casos graves em humanos. Nos EUA, foi descrita endoftalmite em mulher
748 agredida no olho por mordedura de gato (KISHORE et al., 2020) e fascite necrosante
749 em paciente imunocomprometido por uso prolongado de corticóides, secundária à
750 mordida de gato na mão (NAMBIAR et al., 2017). No entanto, apesar de evidenciarem

o comportamento oportunista e zoonótico do gênero *Streptococcus*, nenhum relato identificou os micro-organismos em nível de espécie, classificados apenas como *Streptococcus* α e β -hemolíticos, respectivamente.

Escherichia coli, habitante normal do trato gastrointestinal de animais e humanos, foi a bactéria da família Enterobacteriaceae isolada com maior frequência nas amostras de secreção oral dos gatos amostrados. A presença de micro-organismos dessa família na microbiota oral dos felinos aparentemente hígidos pode ser creditada ao hábito de lambedura dos animais para higiene da região perineal ou pela contaminação ambiental. Apesar da baixa frequência de isolamento, comparada aos demais micro-organismos citados anteriormente, o comportamento oportunista destes patógenos deve ser levado em consideração quanto ao risco de infecções secundárias em humanos agredidos por mordedura de gatos, visto que já foram descritos vários casos de septicemia por *E. coli* em humanos (RUIZ et al., 2018; LINCK et al., 2023; XIAO et al., 2023), embora nenhum diretamente relacionado à mordida de felinos domésticos.

Apesar de menor frequência, outros micro-organismos de origem bacteriana isolados no presente estudo merecem atenção no contexto de *One Health*, como espécies dos gêneros *Enterococcus*, *Moraxella* e *Pseudomonas*. A identificação destes micro-organismos na cavidade oral de gatos aparentemente hígidos reforça a necessidade de tratamento antimicrobiano adequado das mordeduras causadas por estes animais de companhia, visto que o fenômeno de multirresistência bacteriana é conhecido como problema emergente, de âmbito mundial, e, por vezes, tem sido relacionado a infecções por espécies de enterococos (JIN et al., 2023; SALAMANDANE et al., 2023) e *Pseudomonas aeruginosa* (LEE et al., 2023), importantes também em infecções hospitalares.

Assim como os acidentes por mordedura, as lesões provocadas por arranhadura de felinos também merecem atenção e tratamento adequado para evitar infecções secundárias, locais e sistêmicas (OEHLER et al., 2009). Neste contexto, não são raros os relatos de bartonelose (ou febre da arranhadura do gato, causada pela inoculação de *Bartonella henselae*, bacilo gram-negativo presente nas garras e saliva de gatos infectados) e esporotricose em humanos agredidos por arranhões de felinos (ZAWAWI et al., 2022; ZHU et al., 2022). No entanto, apesar de causarem doenças com graves manifestações cutâneas, linfáticas, vasculares e ópticas, *Bartonella henselae* e *Sporothrix* sp. não devem representar as únicas preocupações relacionadas aos ataques

784 por arranhadura de felinos domésticos, posto a grande variedade de micro-organismos
785 identificada no leito ungueal dos gatos amostrados.

786 O gênero *Staphylococcus* foi o principal representante dos micro-organismos
787 identificados nas amostras de leito ungueal, particularmente *S. pettenkoferi*, *S. felis*, *S.*
788 *simulans* e *S. epidermidis*. Este resultado era esperado, visto que as unhas estão em
789 íntimo contato com a pele e pontas dos dedos, regiões habitadas de forma comensal por
790 este grupo de micro-organismos (WEESE, 2013).

791 Enterobactérias como *Escherichia coli*, *Leclercia adecarboxylata* e *Pantoea* sp.,
792 também podem ser encontradas nas extremidades dos membros de animais devido à
793 contaminação fecal e/ou ambiental. No entanto, a inoculação traumática de
794 enterobactérias e estafilococos na pele e subcutâneo de humanos e outros animais
795 agredidos por arranhadura pode provocar graves complicações secundárias, como
796 celulite, osteomielite e sepse (OEHLER et al., 2009).

797 Curiosamente, apenas um isolado de *Pasteurella multocida* foi identificado nas
798 amostras de leito ungueal dos gatos do estudo, ainda que sejam descritas semelhanças
799 entre as microbiotas da cavidade oral e leito ungueal dos felinos, principalmente devido
800 ao hábito desta espécie de lambedura das garras (VERALDI e MINUTI, 2018). Este
801 resultado pode encontrar justificativa na baixa resistência de *P. multocida* em condições
802 ambientais (QUINN et al., 2011).

803 A identificação de leveduras e fungos filamentosos nas secreções orais e
804 ungueais dos gatos amostrados reforça o risco de infecções polimicrobianas em
805 ferimentos causados por mordeduras e arranhaduras de gatos, visto que espécies dos
806 gêneros *Candida* e *Aspergillus* têm sido descritos como agentes primários de infecções
807 oportunistas em humanos imunocomprometidos (CHEN et al., 2023). Curiosamente
808 nenhum isolado de *Sporothrix* sp. foi identificado, ao contrário do que se esperava, visto
809 que se trata de um micro-organismo causador de doença amplamente disseminada pela
810 arranhadura e, eventualmente, mordedura de felinos (LIU et al., 2020).

811 O sequenciamento genético em larga escala possibilitou a identificação de
812 grande complexidade de micro-organismos nas mucosas orais e ungueais dos gatos
813 amostrados, reforçando o risco de transmissão para humanos de agentes oportunistas
814 após agressões por mordeduras e arranhaduras de gatos domésticos.

815 Entre os gêneros bacterianos com maior abundância relativa nas 20 amostras de
816 cavidade oral de gatos submetidas ao NGS, destacam-se *Moraxella*, *Neisseria* e
817 *Pasteurella*, além de anaeróbios como *Fusobacterium* e *Porphyromonas*, resultado
818 similar ao encontrado em estudos com felinos domésticos no Canadá (STURGEON et
819 al., 2014) e EUA (OLDER et al., 2019; RODRIGUES et al., 2019). Relatos de
820 complicações em humanos causadas por espécies de *Moraxella*, *Neisseria* e *Pasteurella*
821 secundárias às mordeduras de gatos são relativamente comuns (HELMING et al., 2020;
822 VECILLA et al., 2023). No entanto, as espécies de anaeróbios também devem ser
823 consideradas nestas infecções, principalmente devido ao aspecto puntiforme dos dentes
824 dos felinos, que favorece a inoculação e multiplicação de agentes na ausência de
825 oxigênio nas camadas mais profundas da pele após mordeduras, como relatado na
826 Espanha em caso de osteomielite por *Fusobacterium russi* na mão de paciente agredido
827 por mordedura de gato (ZAMORA et al., 2022).

828 Outros gêneros importantes no contexto de infecções secundárias em humanos
829 decorrentes de mordeduras por animais de companhia, como *Capnocytophaga*, foram
830 identificados em menor frequência por NGS na cavidade oral dos gatos amostrados.
831 Apesar de serem encontradas naturalmente na cavidade oral de cães e gatos, este
832 resultado merece atenção pois certas espécies de *Capnocytophaga*, particularmente *C.*
833 *canimorsus*, têm sido identificadas como agentes causais primários de sepse e
834 síndromes fatais em humanos agredidos por mordeduras de animais domésticos,
835 incluindo gatos (TAKI et al., 2018).

836 Nas amostras de leito ungueal, o NGS revelou maior abundância relativa de
837 enterobactérias comparado com as amostras de cavidade oral, resultado esperado devido
838 ao contato direto das garras dos animais com o solo e matéria orgânica presente no
839 ambiente, incluindo fezes. Similar ao observado na microbiota bucal, ressalta-se o risco
840 de infecções oportunistas decorrentes da inoculação destes agentes em humanos
841 secundária às arranhaduras dos gatos domésticos (OEHLER et al., 2009). Ainda, na
842 literatura consultada, descreve-se pela primeira vez o uso de NGS na identificação de
843 micro-organismos no leito ungueal de gatos, incluindo agentes de potencial zoonótico.

844 Anaeróbios dos gêneros *Fusobacterium* e *Porphyromonas* também foram
845 identificados nas regiões periungueais dos felinos amostrados. Similar ao observado nas
846 mordeduras, ferimentos por arranhadura de gatos também favorecem a inoculação e

847 multiplicação destes micro-organismos em camadas mais profundas da pele, exigindo
848 cuidados adequados no manejo e tratamento das lesões (OEHLER et al., 2009).

849 *Capnocytophaga* spp. também foi identificada em baixa frequência nas amostras
850 de leito ungueal. Apesar de mais comuns os relatos de transmissão zoonótica deste
851 agente secundária às mordeduras de animais domésticos, recentemente Vecilla et al.
852 (2022) reportaram na Espanha caso de celulite e bacteremia transitória por *C. canis* em
853 paciente imunocompetente após arranhadura de gato.

854 Outros micro-organismos relevantes no contexto de medicina veterinária e *One*
855 *Health* foram identificados por NGS nas amostras de leito ungueal, incluindo
856 *Bartonella henselae* (causadora da febre da arranhadura dos gatos), *Rhodococcus equi*,
857 *Clostridium perfringens* e espécies de *Mycobacterium*, reforçando o risco de
858 transmissão de agentes oportunistas com potencial patogênico para os humanos em
859 acidentes por arranhaduras de gatos domésticos.

860 De maneira geral, levofloxacino, marbofloxacino, amicacina e amoxicilina/ácido
861 clavulânico foram os antimicrobianos mais efetivos diante dos principais grupos de
862 micro-organismos identificados. Com exceção da amicacina, os demais são
863 considerados antimicrobianos de amplo espectro e recomendados para o tratamento de
864 complicações clínicas graves em humanos e animais (OEHLER et al., 2009; ATTARD
865 et al., 2022). No entanto, apesar da eficácia *in vitro*, a administração de
866 fluoroquinolonas na prática médica humana e veterinária deve ser cautelosa, visto que
867 são descritos diferentes efeitos colaterais de seu uso em pacientes idosos, atletas e com
868 comorbidades, como disglícemia, alterações do sistema nervoso central, tendinopatias,
869 risco de ruptura de aneurismas, entre outros (HUSSEN et al., 2023).

870 Por outro lado, penicilinas semi-sintéticas continuam sendo amplamente
871 utilizadas no tratamento de afecções em animais e humanos (OEHLER et al., 2009).
872 Neste contexto, paciente idosa na Espanha necessitou de tratamento intravenoso com
873 amoxicilina/ácido clavulânico para resolução clínica de celulite e sepse após
874 arranhadura na perna por gato doméstico (VECILLA et al., 2022). Apesar da indicação
875 da amicacina para o tratamento de infecções causadas por bactérias gram-negativas
876 (PANG et al., 2023), este antimicrobiano apresentou, também, boa eficácia diante dos
877 estafilococos e outros isolados gram-positivos obtidos dos gatos amostrados. Com
878 efeito, estes fármacos constituem boas opções para o tratamento de feridas causadas por

879 mordeduras e arranhaduras de gatos, particularmente quando não for possível realizar o
880 isolamento do agente e testes de sensibilidade *in vitro* dos isolados aos antimicrobianos.
881 Ainda, recomenda-se a associação de antimicrobianos no tratamento, devido à natureza
882 polimicrobiana das lesões provocadas por mordeduras e arranhaduras de felinos
883 domésticos (CHEUNG and CHAN, 2023).

884 A resistência bacteriana elevada de alguns isolados ao imipenem merece atenção
885 pois tem se tornado uma preocupação crescente na área da saúde, visto que se trata de
886 um antimicrobiano relativamente recente e utilizado em afecções graves de humanos e,
887 ocasionalmente, animais de companhia (DAS et al., 2023a). A disseminação de
888 mecanismos de resistência entre os micro-organismos limita significativamente as
889 opções terapêuticas, destacando a necessidade urgente de estratégias inovadoras no
890 desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos e abordagens para conter a
891 propagação desses patógenos resistentes (DAS et al., 2023b).

892 A multirresistência bacteriana aos antimicrobianos é preocupação de ordem
893 mundial (McEWEN e COLLIGNON, 2018) e ocorre, em parte, ao uso não racional de
894 antibióticos em animais domésticos (BEAN e WIGMORE, 2016). A identificação de
895 bactérias multidroga-resistentes nos gatos amostrados, particularmente *Pasteurella*
896 *multocida*, *Streptococcus lutetiensis*, *Escherichia coli* e espécies de enterococos, reforça
897 o risco de transmissão de bactérias oportunistas e multirresistentes da microbiota oral e
898 ungueal de gatos para os humanos (FEßLER et al., 2022), além da necessidade de,
899 sempre que possível, nortear o tratamento de humanos e animais agredidos por
900 mordeduras e arranhaduras de gatos na identificação etiológica e testes de sensibilidade
901 *in vitro* dos isolados aos antimicrobianos.

902 A utilização do ágar cromogênico MRSA possibilitou a identificação de nove
903 isolados MRS (seis *Staphylococcus aureus* e três *S. pseudintermedius*) obtidos das
904 secreções orais e ungueais dos gatos amostrados, embora somente três isolados
905 carregavam o gene de resistência à meticilina *mecA* e nenhum o gene *mecC*. A
906 resistência fenotípica à meticilina dos demais isolados pode ser creditada a outros
907 mecanismos, como superexpressão de β -lactamases (CLSI, 2020; SILVA et al., 2023).

908 Apesar da baixa frequência, a identificação de isolados MRSA e MRSP
909 carreadores do gene *mecA* nos gatos amostrados merece atenção, devido ao risco de
910 transmissão aos humanos de bactérias resistentes aos antimicrobianos secundária às

911 agressões por mordeduras e arranhaduras de felinos domésticos, conforme descrito na
912 Alemanha por Fessler et al. (2018) que reportaram isolados MRSA e MRSP em
913 funcionários de hospital veterinário.

914

915

916 7. CONCLUSÕES

917

918 ✓ *Neisseria* spp., *Staphylococcus* spp., *Pasteurella* spp. e *Streptococcus* spp. foram
919 os principais micro-organismos identificados por espectrometria de massas na cavidade
920 oral dos animais amostrados, indicando a presença desses patógenos oportunistas na
921 boca de gatos aparentemente hígidos e, conseqüentemente, o risco de transmissão aos
922 humanos por mordeduras;

923 ✓ Espécies de estafilococos e enterobactérias foram os principais grupos de micro-
924 organismos identificados por espectrometria de massas no leito ungueal dos animais
925 amostrados, indicando a presença desses patógenos oportunistas nas garras de gatos
926 aparentemente hígidos e, conseqüentemente, o risco de transmissão aos humanos por
927 arranhaduras;

928 ✓ O sequenciamento genético em larga escala (microbioma) revelou grande
929 diversidade de bactérias aeróbias e anaeróbias na cavidade oral e leito ungueal de gatos
930 aparentemente hígidos, incluindo agentes não isolados em cultivos com meios
931 convencionais e seletivos, além de bactérias comumente envolvidas em complicações
932 graves em humanos agredidos por mordedura ou arranhadura de gatos domésticos;

933 ✓ A natureza polimicrobiana da cavidade oral e leito ungueal de gatos reitera a
934 necessidade de tratamento adequado com antimicrobianos em humanos agredidos por
935 mordeduras e arranhaduras, preferencialmente respaldado por exames de identificação
936 dos agentes e testes de sensibilidade *in vitro* aos antimicrobianos;

937 ✓ Apesar de menos frequentes, *Bartonella henselae*, *Rhodococcus equi* e os
938 gêneros *Clostridium* e *Mycobacterium* também foram identificados, ressaltando a
939 presença de agentes de potencial zoonótico na microbiota oral e de leito ungueal de
940 gatos domésticos aparentemente hígidos;

941 ✓ Os isolados bacterianos revelaram ~17% de multirresistência aos
942 antimicrobianos, alertando para o risco de transmissão de patógenos multirresistentes
943 em casos de mordeduras e/ou arranhaduras de gatos.

944

945

946 **8. REFERÊNCIAS**

- 947 ABDELHAKIM, A.; RASOOL, N. Neuroretinitis: a review. *Current Opinion in Ophthalmology*, v.29, n.6,
948 p.514-519, 2018.
- 949 ARAHORI, M.; KUROSHIMA, H.; HORI, Y.; TAKAGI, S.; CHIJIWA, H.; FUJITA, K. Owners' view
950 of their pets' emotions, intellect, and mutual relationship: Cats and dogs compared. *Behavioural*
951 *Processes*, v.141, n.3, p.316-321, 2017.
- 952 ARAÚJO, I.L. *Avaliação da profilaxia inicial pós-exposição da raiva humana, indicada em acidentes*
953 *notificados com gatos, em Belo Horizonte/MG, no período de 2007 a 2016*. 2017. 81p. Dissertação
954 (Mestrado em Epidemiologia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo
955 Horizonte.
- 956 ATTARD, S.; BUCCI, R.; PARRILLO, S.; PISU, M.C. Effectiveness of a Modified Administration
957 Protocol for the Medical Treatment of Feline Pyometra. *Veterinary Sciences*, v.9, n.517, 2022.
- 958 AZIZ, H.; RHEE, P.; PANDIT, V.; TANG, A.; GRIES, L.; JOSEPH, B. The current concepts in
959 management of animal (dog, cat, snake, scorpion) and human bite wounds. *Journal of Trauma and*
960 *Acute Cate Surgery*, v.78, n.3, p.641-648, 2015.
- 961 BARREIRO, J.R.; FERREIRA, C.R.; SANVIDO, G.B.; KOSTRZEWA, M.; MAIER, T.; WEGEMANN,
962 B.; BOTTCHEER, V.; EBERLIN, M.N.; SANTOS, M.V. Short communication: Identification of
963 subclinical cow mastitis pathogens in milk by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-
964 flight mass spectrometry. *Journal of Dairy Science*, v.93, p5661-7, 2010.
- 965 BARSÍ, Z.E.; ALLEN, J.; MEZA, A. More Than a Case of Cellulitis: *Pasteurella multocida* Bacteremia.
966 *Cureus*, v.15, n.3, 2023
- 967 BEAN, D.C.; WIGMORE, S.M. Carriage rate and antibiotic susceptibility of coagulase-positive
968 staphylococci isolated from healthy dogs in Victoria, Australia. *Australian Veterinary Journal*, v. 94,
969 p.456-460, 2016.
- 970 CENTERS FOR DISEASE CONTROL (CDC). 2013. Antibiotic resistance threats in the United States.
971 Centers of Disease Control and Prevention, Atlanta, EUA.
- 972 CHEN, R.; XIE, M.; WANG, S.; YU, F.; ZHANG, D.; YUAN, L.; ZHENG, J.; WANG, J.; ZHOU, J.; LI,
973 B.; ZHENG, S.; FAN, Y.; HAN, D. Secondary Infection Surveillance with Metagenomic Next-
974 Generation Sequencing in COVID-19 Patients: A Cross-Sectional Study. *Infection and Drug*
975 *Resistance*, v.16, p.6463-6472, 2023.
- 976 CHEUNG, K.T.; CHAN, H.Y. Oral flora of domestic cats in Hong Kong: Identification of antibiotic-
977 resistant strains. *Veterinary Medicine and Science*, v.9, n.1, 2023.
- 978 CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). In: *Performance Standards for*
979 *Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals*. 4th ed. CLSI
980 supplement VET08. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
- 981 CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). In: *Performance Standards for*
982 *Antimicrobial Susceptibility Testing*. 30th ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute;
983 2020.
- 984 DARVISHI, M.; NAVA, A.O.; KARIMI, E.; NOURI, M.; MEIGOONI, S.S.; HEJRIPOOR, S.Z. Human
985 and Animal Bites. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, v.21, n.2, p.445-456, 2022.
- 986 DAS, S.; KABIR, A.; CHOUHAN, C.S.; SHAHID, M.A.H.; HABIB, T.; RAHMAN, M.; NAZIR,
987 K.N.H. Domestic cats are potential reservoirs of multidrug-resistant human enteropathogenic *E. coli*
988 strains in Bangladesh. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v.10, 2023a.
- 989 DAS, S.; KABIR, A.; CHOUHAN, C.S.; SHAHID, M.A.H.; HABIB, T.; KOBIR, M.A.; HOSSAIN,
990 M.Z.; RAHMAN, M.; NAZIR, K.N.H. Antimicrobial resistance patterns of *Staphylococcus aureus*
991 isolated from apparently healthy pet cats of Bangladesh. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v.3,
992 2023b.
- 993 DAVIS, E.M.; WEESE, J.S. Oral microbiome in dogs and cats: dysbiosis and the utility of antimicrobial
994 therapy in the treatment of periodontal disease. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal*
995 *Practice*, v.52, p.107-119, 2022.
- 996 DENENBERG, S. Animal behaviour case of the month. *Journal of the American Veterinary Medical*
997 *Association*, v.246, n.2, p.194-196, 2015.
- 998 ECOLOGY GLOBAL NETWORK (EGN). Disponível em <[https://missionblue.org/category/ecology-](https://missionblue.org/category/ecology-global-network/)
999 [global-network/](https://missionblue.org/category/ecology-global-network/)>, 2023.
- 1000 FAIRES, M.C.; TATER, K.C.; WEESE, J.S. An investigation of methicillin-resistant *Staphylococcus*
1001 *aureus* colonization in people and pets in the same household with an infected person or infected pet.
1002 *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.235, n.5, p.540-543, 2009.

- 1003 FESSLER, A.T.; SCHUENEMANN, R.; KADLEC, K.; HENSEL, V.; BROMBACH, J.;
 1004 MURUGAIYAN, J.; OECHTERING, G.; BURGNER, I.A.; SCHWARZ, S. Methicillin-resistant
 1005 *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP)
 1006 among employees and in the environment of a small animal hospital. *Veterinary Microbiology*, v.221,
 1007 p.153-158, 2018.
- 1008 FLEISHER, G.R. The management of bite wounds. *The New England Journal of Medicine*, v.340, n.2,
 1009 p.138-140, 1999.
- 1010 GILBERT, J.A.; MEYER, F.; ANTONOPOULOS, D.; BALAJI, P.; BROWN, C.T.; BROWN, C.T.;
 1011 DESAI, N.; EISEN, J.A.; EVERS, D.; FIELD, D.; FENG, W.; HUSON, D.; JANSSEN, J.; KNIGHT,
 1012 R.; KNIGHT, J.; KOLKER, E.; KONSTANTINDIS, K.; KOSTKA, J.; KYRPIDES, N.;
 1013 MACKELPRANG, R.; MCHARDY, A.; QUINCE, C.; RAES, J.; SCZYRBA, A.; SHADE, A.;
 1014 STEVENS, R. Meeting Report: The Terabase Metagenomics Workshop and the Vision of an Earth
 1015 Microbiome Project. *Standards in Genomic Sciences*, v.3, n.3, p.243-8, 2010.
- 1016 GILBERT, J.A.; JANSSEN, J.K.; KNIGHT, R. The Earth Microbiome project: successes and aspirations.
 1017 *BMC Biology*, e.12:69, 2014.
- 1018 GOLDSTEIN, E.J.C.; ABRAHAMIAN, F.M. Diseases transmitted by cats. *Microbiology Spectrum*, v.3,
 1019 n.5, 2015.
- 1020 GONÇALVES, J.L.; TOMAZI, T.; BARREIRO, J.R.; BRAGA, P.A.C.; FERREIRA, C.R.; ARAÚJO
 1021 JUNIOR, J.P.; EBERLIN, M.N.; SANTOS, M.V. Identification of *Corynebacterium* spp. isolated
 1022 from bovine intramammary infections by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight
 1023 mass spectrometry. *Veterinary Microbiology*, v.173, p.147-151, 2014.
- 1024 GOUGEON, A.J.; SIXOU, J.L.; SHACOORI, Z.T.; MALLET, M.B. Antimicrobial treatment of
 1025 *Capnocytophaga* infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v.29, n.4, p.367-373,
 1026 2007.
- 1027 GOWDA, B. K.; BASAVARAJA, G.V.; REDDY, H.; RAMASWAMY, P. Paralytic rabies following cat
 1028 scratch and intra-dermal anti-rabies vaccination. *Journal of Pediatric Neurosciences*, v.9, n.2, p.154-
 1029 155, 2014.
- 1030 GRIEGO, R.D.; ROSEN, T.; ORENGO, I.F.; WOLF, J.E. Dog, cat, and human bites: A review. *Journal*
 1031 *of American Academy of Dermatology*, v.33, n.6, p.1019-1029, 1995.
- 1032 GRZEŚKOWIAK, L.; ENDO, A.; BEASLEY, S.; SALMINEN, S. Microbiota and probiotics in canine
 1033 and feline welfare. *Anaerobe*, v.34, p.14-23, 2015.
- 1034 HAND, D.; WALLIS, C.; COLYER, A.; PENN, C.W. Pyrosequencing the canine faecal microbiota:
 1035 breadth and depth of biodiversity. *Plos One*, v.8, n.1, p.1-10, 2013.
- 1036 HEYEDECKE, A.; ANDERSSON, B.; HOLMDAHL, T.; MELHUS, A. Human wound infections caused
 1037 by *Neisseria animaloris* and *Neisseria zoodegmatis*, former CDC Group EF-4^a and EF-4b. *Infection*
 1038 *Ecology & Epidemiology*, v.3, n.1, 2013.
- 1039 HELMIG, K.C.; ANDERSON, M.S.; BYRD, T.F.; AUBIN-LEMAY, C.; MONEIM, M.S. A rare case of
 1040 *Neisseria animaloris* Hand Infection and Associated Nonhealing Wound. *Journal of Hand surgery*
 1041 *Global Online*, v.2, p.113-115, 2020.
- 1042 HONNORAT, E.; SENG, P.; SAVINI, H.; PINELLI, P.O.; SIMON, F.; STEIN, A. Prosthetic joint
 1043 infection caused by *Pasteurella multocida*: a case series and review of literature. *BMC Infectious*
 1044 *Diseases*, v.16, n.435, 2016.
- 1045 HOZÁKOVÁ, L.; ROZNOVSKÝ, L.; JANOUT, V. Cat scratch disease – a neglected zoonosis.
 1046 *Epidemiologie, Mikrobiologie, Immunologie*, v.66, n.2, p.99-104, 2017.
- 1047 HUSSEN, N.H.A.; QADIR, S.H.; RAHMAN, H.S.; HAMALAW, Y.Y.; KAREEM, P.S.S.; HAMZA,
 1048 B.A. Long-term toxicity of fluoroquinolones: a comprehensive review. *Drug and Chemical*
 1049 *Toxicology*, p.1-12, 2023.
- 1050 INSTITUTO PET BRASIL (IPB) Disponível em: <institutopetbrasil.com>, 2023. Acesso em 08/05/2023.
- 1051 JIN, X.; CAI, R.; WANG, R.; CAO, Y.; DAI, Z.; HU, Z.; GE, X.; TAO, L.; ZHANG, L. Antibiotic
 1052 Resistance Characterization and Molecular Characteristics of Enterococcus Species Isolated from
 1053 Combination Probiotic Preparations in China. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2023.
- 1054 KHEIRAN, A.; PALIAL, V.; ROLLETT, R.; WILDIN, C.J.; CHATTERJI, U.; SINGH, H.P. Cat bite: an
 1055 injury not to underestimate. *Journal of Plastic Surgery and Hand Surgery*, v.53, n.6, p.341-346, 2019.
- 1056 KING, M.D.; HUMPHREY, B.J.; WANG, Y.F.; KOURBATOVA, E.V.; RAY, S.M.; BLUMBERG,
 1057 H.M. Emergence of Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* USA 300
 1058 Clone as the Predominant Cause of Skin and Soft-Tissue Infections. *Annals of Internal Medicine*,
 1059 v.144, n.5, p.309-317, 2006.
- 1060 KISHORE, K.; MCGOWAN, D.S.; PODE, R.P. Successful Treatment of Acute Endophthalmitis after Cat
 1061 Bite: A Case Report and Review of the Literature. *Case Reports in Ophthalmology*, v.11, p.574-581,
 1062 2020.

- KRAVETZ, J.D.; FEDERMAN, D.G. Cat-associated zoonoses. *Archives of Internal Medicine*, v.162, p.1945-1952, 2002.
- KREWER, C.C.; MABONI, F.; WITT, N.M.; ALVES, S.H.; VARGAS, A.P.C. Transmissão de *Pasteurella multocida* para humano através de mordida de gato – Relato de caso. *Veterinária Notícias – Veterinary News*, v.14, n.1, p.77-80, 2008.
- LACAZ, C.S.; PORTO, E.; HEINS-VACCARI, E.M.; TAKAHASHI DE MELO, N. *Guia para Identificação de Fungos*. 1. ed. São Paulo: Sarvier, 1998.
- LATANZA, L.; VISCOGLIOSI, F.; SOLIMEO, A.; CALABRÒ, F.; DE ANGELIS, V.; DE ROSA, P. Choroidal neovascularisation as an unusual ophtalmic manifestation of cat-scratch disease in an 8-year-old girl. *International Ophtalmology*, v.35, n.5, p.709-716, 2015.
- LEE, J.H.; KIM, N.H.; JANG, K.M.; JIN, H.; SHIN, K.; JEONG, B.C.; KIM, D.W.; LEE, S.H. Prioritization of Critical Factors for Surveillance of the Dissemination of Antibiotic Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: A Systematic Review. *Interntional Journal of Molecular Sciences*, v.24, 2023.
- LEON, C.M.C.G. *Metataxonomia bacteriana do leite caprino por sequenciamento do gene 16S rRNA*. 2018. 97p. Tese (Doutorado Integrado em Zootecnia) – Universidade Federal da Paraíba, Areia.
- LINCK, J.H.; TORRES, W.I.; DAYAL, S.T. Post-hysteroscopy Ruptured Tubo-Ovarian Abscess With Atypical Bacteremia: A Case Report. *Cureus*, v.15, n.9, 2023.
- LIU, Y.; LIU, L.; KANG, M.; ZONG, Z. An unhealing wound and subcutaneous nodules due to *Sporothrix globosa* after a cat bite. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v.14, n.12, 2020.
- MACÊDO-SALES, P.A.; SOUTO, S.R.L.S.; DESTEFANI, C.A.; LUCENA, R.P.; MACHADO, R.L.D.; PINTO, M.R.; RODRIGUES, A.M.; LOPES-BEZERRA, L.M.; ROCHA, E.M.S.; BAPTISTA, A.R.S. Domestic feline contribution in the transmission of *Sporothrix* in Rio de Janeiro State, Brazil: a comparison between infected and non-infected populations. *BMC Veterinary Research*, v.14, n.19, 2018.
- MACHADO, V.S.; OIKINOMOU, G.; BICALHO, M.L.S.; KNAUER, W.A.; GILBERT, R.; BICALHO, R.C. Investigation of postpartum dairy cows' uterine microbial diversity using metagenomic pyrosequencing of the 16S rRNA gene. *Veterinary Microbiology*, v.159, n.3-4, p.460-469, 2012.
- MAGIORAKOS, A.P.; SRINIVASAN, A.; CAREY, R.B. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, v.18, n.3, p.268-281, 2012.
- MCEWEN, S.A.; COLLIGNON, P.J. Antimicrobial resistance: a One Health perspective. *Microbiology Spectrum*, v.6, n.2, 2018.
- MEGID, J.; ITO, F.H. Raiva. In: MEGID, J.; RIBEIRO, M.G.; PAES, A.C. *Doenças Infeciosas em Animais de Produção e de Companhia*. Roca: Rio de Janeiro, 2016. p.799-824.
- MERLINO, J.; GRAY, T.; BERESFORD, R.; BASKAR, S.R.; GOTTLIEB, T.; BIRDSALL, J. Wound infection caused by *Neisseria zoodegmatis*, a zoonotic pathogen: a case report. *Access Microbiology*, v.3, 2021.
- MIRANDA, I.; ÂNGULO, M.; AMAYA, J.V. Infección aguda de prótesis total de rodilla tras mordedura y arañazo de gato: caso clínico y revisión de la bibliografía. *Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología*, v.57, n.13, 300-305, 2013.
- NAKAGAWA, S.; TANEIKE, I.; MIMURA, D.; IWAKURA, N.; NAKAYAMA, T.; EMURA, T.; KITATSUJI, M.; FUJIMOTO, A.; YAMAMOTO, T. Gene sequences and specific detection for Panton-Valentine leucocidin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v.328, n.4, p.995-1002, 2005.
- NAMBIAR, S.; KARIPPOT, A.; DEVASAHAYAM, J.; OLIVER, T. Group A Streptococci-Associated Necrotizing Fasciitis following Cat Bite in an Immunocompromised Patient. *Case Reports in Critical Care*, 2017.
- NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI) Disponível em: <ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy>, 2023. Acesso em 30/10/2023.
- NONNEMANN, B.; LYHS, U.; SVENNESEN, L.; KRISTENSEN, K.A.; KLAAS, I.C.; PEDERSEN, K. Bovine mastitis bacteria resolved by MALDI-TOF mass spectrometry. *Journal of Dairy Science*, v.102, n.3, p.2515-2524, 2019.
- OEHLER, R.L.; VELEZ, A.P.; MIZRACHI, M.; LAMARCHE, J.; GOMPF, S. Bite-related and septic syndromes caused by cats and dogs. *The Lancet Infectious Diseases*, v.9, n.7, p.439-447, 2009.
- OIKONOMOU, G.; MACHADO, V.S.; SANTISTEBAN, C.; SCHUKKEN, Y.H.; BICALHO, R.C. Microbial diversity of bovine mastitic milk as described by pyrosequencing of metagenomic 16S rDNA. *Plos One*, v.7, n.10, 2012.
- OIKONOMOU, G.; BICALHO, M.L.; MEIRA, E.; ROSSI, R.E.; FODITSCH, C.; MACHADO, V.S.; TEIXEIRA, A.G.V.; SANTISTEBAN, C.; SCHUKKEN, Y.H.; BICALHO, R.C. Microbiota of cow's

- 1123 milk; distinguishing healthy, sub-clinically and clinically diseased quarters. *Plos One*, v.9, n.1, p.1-11,
1124 2014.
- 1125 OLDER, C.E.; DIESEL, A.B.; LAWHON, S.D.; QUEIROZ, C.R.R.; HENKER, L.C.; HOFFMAN, A.R.
1126 The feline cutaneous and oral microbiota are influenced by breed and environment. *PlosOne*, v.14,
1127 n.7, 2019.
- 1128 OSKOUZADEH, K.; ZAHRAEI-SALEHI, T.; ALEDAVOOD, S.J. Detection of *Bartonella henselae* in
1129 domestic cats' saliva. *Iranian Journal of Microbiology*, v.2, n.2, p.80-84, 2010.
- 1130 PANG, A.H.; GREEN, K.D.; TSODIKOV, O.V.; GARNEAU-TSODIKOVA, S. Discovery and
1131 development of inhibitors of acetyltransferase Eis to combat *Mycobacterium tuberculosis*. *Methods in*
1132 *Enzymology*, 2023.
- 1133 PATERSON, G.K.; LARSEN, A.R.; ROBB, A.; EDWARDS, G.E.; PENNYCOTT, T.W.; FOSTER, G.;
1134 MOT, D.; HERMANS, K.; BAERT, K.; PEACOCK, S.J.; PARKHILL, J.; ZADOKS, R.N.;
1135 HOLMES, M.A. The newly described *mecA* homologue, *mecA_{LGA251}*, is present in methicillin-
1136 resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a diverse range of host species. *Journal of*
1137 *Antimicrobial and Chemotherapy*, v.67, p.2809-2813, 2012.
- 1138 PATRONEK, G.J.; SLAVINSKI, S.A. Animal bites. *Journal of the American Veterinary Medical*
1139 *Association*, v.234, n.3, p.336-345, 2009.
- 1140 PORTILHO, F.V.R.; NOBREGA, J.; DE ALMEIDA, B.O.; MOTA, A.R.; DE PAULA, C.L.; LISTONI,
1141 F.J.P.; BOSCO, S.M.G.; OLIVEIRA, A.L.; CUNHA, M.L.R.S.; RIBEIRO, M.G. Microbial
1142 complexity of oral cavity of healthy dogs identified by mass spectrometry and next-generation
1143 sequencing. *Animals*, v.13, n.2467, 2023.
- 1144 QUIGLEY, L.; MCCARTHY, R.; O'SULLIVAN, O.; BERESFORD, T.P.; FITZGERALD, G.F.; ROSS,
1145 R.P.; STANTON, C.; COTTER, P.D. The microbial content of raw and pasteurized cow milk as
1146 determined by molecular approaches. *Journal of Dairy Science*, v.96, n.8, p.4928-4937, 2013.
- 1147 QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; LEONARD, F.C.; FITZPATRICK, E.S.; FANNING, S.; HARTIGAN,
1148 P.J. *Veterinary Microbiology and Microbial Diseases*. 2.ed., UK: Wiley-Blackwell, 2011. 1231p.
- 1149 RIBEIRO, M.G. Princípios Terapêuticos na Mastite em Animais de Produção e de Companhia. In: Sílvia
1150 Franco Andrade. (Org.). *Manual de Terapêutica Veterinária*. 3ed. Roca: São Paulo, 2008. v. 1, p. 759-
1151 771.
- 1152 RODRIGUES, M.X.; BICALHO, R.C.; FIANI, N.; LIMA, S.F.; PERALTA, S. The subgingival
1153 microbial community of feline periodontitis and gingivostomatitis: characterization and comparison
1154 between diseased and healthy cats. *Scientific Reports*, v.9, 2019.
- 1155 ROZGONYI, F.; KOCSIS, E.; KRISTÓF, K.; NAGY, K. Is MRSA more virulent than MSSA? *Clinical*
1156 *Microbiology and Infection*, v.13, n.9, p.843-845, 2007.
- 1157 RUIZ, A.A.; CASTILLO, T.R.A.; SÁNCHEZ, J.M. Púrpura fulminante aguda infecciosa secundaria a
1158 una herida por mordedura de perro. *Emergencia*, v.30, n.1, 2018.
- 1159 SALAMANDANE, A.; CAHANGO, G.; MUETANENE, B.A.; MALFEITO-FERREIRA, M.; BRITO,
1160 L. Multidrug Resistance in Enterococci Isolated from Cheese and Capable of Producing
1161 Benzalkonium Chloride-Resistant Biofilms, *Biology*, v.12, n.1353, 2023.
- 1162 SCHNEIDER, J.R.; WHITE, G.W.; DEJESUS, E.F. *Pasteurella multocida*-infected expanded
1163 polytetrafluoroethylene hemodialysis access graft. *Annals of Vascular Surgery*, v.26, n.8, 2012.
- 1164 SCHUBAH, A.; BARROS, M.B.L.; WANKE, B. Epidemic sporotrichosis. *Current Opinion in Infectious*
1165 *Diseases*, v.21, n.2, p.129-133, 2008.
- 1166 SHANAHAN, F.; GHOSH, T.S.; O'TOOLE, P.W. The healthy microbiome – What is the definition of a
1167 healthy gut microbiome? *Gastroenterology*, v.160, p.483-494, 2021.
- 1168 SILVA, A.T.F.; GONÇALVES, J.L.; DANTAS, S.T.A.; RALL, V.L.M.; OLIVEIRA, P.R.F.; SANTOS,
1169 M.V.; PEIXOTO, R.M.; MOTA, R.A. Genetic and Phenotypic Characterization of Subclinical
1170 Mastitis-Causing Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics*, v.12, 2023.
- 1171 SINGHAL, N.; KUMAR, M.; KANAUIA, P.K.; VIRDI, J.S. MALDI-TOF mass spectrometry: an
1172 emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Frontiers in Microbiology*, v.6, p.1-
1173 16, 2015.
- 1174 SIPS, G.J.; VAN DIJK, M.A.M.; VAN WESTREENEN, M.; VAN BLOOIS, L.V.D.G.; DUIM, B.;
1175 BROENS, E.M. Evidence of cat-to-human transmission of *Staphylococcus felis*. *Journal of Medical*
1176 *Microbiology*, v.72, 2023.
- 1177 STRAHM, C.; GOLDENBERGER, D.; GUTMANN, M.; KUHNERT, P.; GRABER, P. Prosthetic Valve
1178 Endocarditis Caused by a *Pasteurella dagmatis*-Like Isolate Originating from a Patient's Cat. *Journal*
1179 *of Clinical Microbiology*, v.50, n.8, p.2818-2819, 2012.
- 1180 STURGEON, A.; PINDER, S.L.; COSTA, M.C.; WEESE, J.S. Characterization of the oral microbiota of
1181 healthy cats using next-generation sequencing. *The Veterinary Journal*, v.201, n.2, p.223-229, 2014.

- TAKI, M.; SHIMOJIMA, Y.; NOGAMI, A.; YOSHIDA, T.; SUZUKI, M.; IMAOKA, K.; MOMOI, H.; HANYU, N. Sepsis Caused by Newly Identified *Capnocytophaga canis* Following Cat Bites: *C. canis* Is the Third Candidate along with *C. canimorsus* and *C. cynodegmi* Causing Zoonotic Infection. *Internal Medicine*, v.57, n.2, p.273-277, 2018.
- THOMPSON, L.R.; SANDERS, J.G.; MCDONALD, D.; AMIR, A.; LADAU, J.; LOCEY, K.J.; PRILL, R.J.; TRIPATHI, A.; GIBBONS, S.M.; ACKERMANN, G.; NAVAS-MOLINA, J.A.; JANSSEN, S.; KOPYLOVA, E.; VÁZQUEZ-BAEZA, Y.; GONZÁLEZ, A.; MORTON, J.T.; MIRARAB, S.; XU, Z.Z.; JIANG, L.; HAROON, M.F.; KANBAR, J.; ZHU, Q.; SONG, S.J.; KOSCIOLEK, T.; BOKULICH, N.A.; LEFLER, J.; BRISLAWN, C.J.; HUMPHREY, G.; OWENS, S.M.; HAMPTON-MARCELL, J.; BERG-LYONS, D.; MCKENZIE, V.; FIERER, N.; FUHRMAN, J.A.; CLAUSET, A.; STEVENS, R.L.; SHADE, A.; POLLARD, K.S.; GOODWIN, K.D.; JANSSON, J.K.; GILBERT, J.A.; KNIGHT, R. The Earth Microbiome Project Consortium. A communal catalogue reveals Earth's multiscale microbial diversity. *Nature*, v.551, p.457-463, 2017.
- URSELL, L.K.; METCALF, J.L.; PARFREY, L.W.; KNIGHT, R. Defining the human microbiome. *Nutrition reviews*, v.70, p.38-44, 2012.
- VECILLA, D.F.; ZARRAGA, E.U.; URRUTIKOECHEA-GUTIÉRREZ, M.J.; RENZI, F.; DEL ARCO, J.L.D.T. Cellulitis and transient bacteremia by *Capnocytophaga canis* after a cat scratch in an immunocompetent patient. *Access Microbiology*, 2022.
- VECILLA, D.F.; MATHEUS, M.P.R.; HIDALGO, G.I.; DEL ARCO, J.L.D.T. Osteomyelitis caused by *Pasteurella multocida* and *Bacteroides pyogenes* after cat bite. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, v.42, p.125-128, 2023.
- VERALDI, S.; MINUTI, A. Severe streptococcal infection following cat scratch. *Wounds*, v.30, n.5, p.E57-E59, 2018.
- VIANA, L.; GONÇALVES, R.C.; OLIVEIRA FILHO, J.P.; PAES, A.C.; AMORIM, R.M. Ocorrência de *Mannheimia haemolytica* e de *Pasteurella multocida* em ovinos sadios e com enfermidade respiratória. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.59, n.6, p.1579-1582, 2007.
- WEESE, J.S. The canine and feline skin microbiome in health and disease. *Veterinary Dermatology*, v.24, p.137-141, 2013.
- WEESE, J.S.; NICHOLS, J.; JALALI, M.; LITSTER, A. The oral and conjunctival microbiotas in cats with and without immunodeficiency virus infection. *Veterinary Research*, v.46, n.21, 2015.
- WEINBERG, A.N.; BRANDA, J.A. Case records of the Massachusetts General Hospital. Case 31-2010. A 29-year-old woman with fever after a cat bite. *The New England Journal of Medicine*, v.363, n.22, p.1560-1568, 2010.
- WHYTE, A.; GARCIA, 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*, v.32, p.91-95, 2017.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2014. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. WHO, Geneva, Suíça.
- XIAO, H.; ZHANG, H.; WANG, G.; WANG, Y.; TAN, Z.; SUN, X.; ZHOU, J.; DUAN, M.; ZHI, D.; HANG, C.; ZHANG, G.; LI, Y.; WU, C.; ZHANG, H.; XIE, M.; LI, C. Comparison among presepsin, procalcitonin, and C-reactive protein in predicting blood culture positivity and pathogen in sepsis patients. *Shock*, 2023.
- ZAMORA, P.C.; CABELLO, M.R.; GARCIA, P.A.; CANAL, E.V. Osteomielitis polimicrobiana en extremidad de la mano tras mordedura de gato. *Revista Española de Quimioterapia*, v.35, n.5, p.498-499, 2022.
- ZAWAWI, R.D.; DING, C.H.; TZAR, M.N. An unsuspected and unusual case of zoonotic sporotrichosis. *The Malaysian Journal of Pathology*, v.44, n.2, p.295-300, 2022.
- ZHU, M.; ZHANG, S.; SHI, Q.; SUN, X.; ZHANG, X.; WANG, H.; LIU, Y.; SUN, M. Swollen inguinal lymph nodes with low fever and night sweat: diagnosis and treatment of case of cat-scratch disease lymphadenitis with sinus formation. *Heliyon*, v.8, 2022.

1232

1233 **ANEXO I** – Atestado de aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA).

1234

1235



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



ATESTADO

Atesto que o Projeto "Resistência in vitro aos antimicrobianos e microbiota bucal e de leite ungueal de gatos diagnosticadas por sequenciamento genético em larga escala e espectrometria de massas" **Protocolo CEUA 0078/2021**, a ser conduzido por Fábio Vinícius Ramos Portilho, responsável/orientador Prof. Associado Márcio Garcia Ribeiro, para fins de pesquisa científica/ensino - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.

Finalidade	PESQUISA CIENTÍFICA
Vigência do projeto	01/07/2021 a 31/12/2022
Nome Comum / Espécie / Linhagem	FELINA / FELIS CATUS /
Raça	Variadas
Nº de animais machos	0
Nº de animais fêmeas	0
Nº de animais sexo indefinido	140
Peso médio de animais machos	0
Peso médio de animais fêmeas	0
Peso médio de animais sexo indefinido	3kg
Idade	2 ano(s) e 0 mes(es) e 0 dia(s).
Procedência	Canil Municipal de Botucatu

Projeto de Pesquisa aprovado em reunião da CEUA em 22/06/2021

JOSÉ NICOLAU PRÓSPERO PUOLI FILHO
Presidente da CEUA da FMVZ, UNESP - Campus de Botucatu

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Seção Técnica Acadêmica
Rua Prof. Dr. Walter Maurício Corrêa, s/n
UNESP - Campus de Botucatu/SP - Cep 18618-681
(14) 3880-2176 - patrizia@fmvz.unesp.br - www.fmvz.unesp.br

ANEXO II – Relação de fármacos selecionados para testes de sensibilidade *in vitro* aos antimicrobianos para cada grupo de patógenos isolados da cavidade oral e leito ungueal de gatos hígidos, segundo recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI, 2020 (a) e CLSI VET08, 2018 (b).

Enterobacteriaceae, Morganellaceae, Yersiniaceae	
Classe	Antimicrobiano
Penicilinas	Amoxicilina + Ácido clavulânico ^a
Cefalosporinas	Ceftriaxona ^a
Carbapenêmicos	Imipenem ^a
Monobactâmicos	Aztreonam ^a
Fluoroquinolonas	Levofloxacino ^a
	Marbofloxacino ^b
Aminoglicosídeos	Amicacina ^a
Anfenicóis	Cloranfenicol ^a
Sulfonamidas	Sulfametoxazol + Trimetoprim ^a

^a = Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI, 2020

^b = Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI, 2018 (VET08)

Moraxellaceae, Neisseriaceae, Pasteurellaceae	
Classe	Antimicrobiano
Penicilinas	Benzilpenicilina ^a
	Amoxicilina + Ácido clavulânico ^a
Cefalosporinas	Cefotaxima ^a
	Cefovecin ^b
Fluoroquinolonas	Ácido nalidíxico ^a
	Ciprofloxacino ^a
	Levofloxacino ^a
Tetraciclinas	Tetraciclina ^a
Sulfonamidas	Sulfametoxazol + Trimetoprim ^a

^a = Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI, 2020

^b = Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI, 2018 (VET08)

Acetobacteraceae, Aeromonadaceae, Alcaligenaceae, Oxalobacteraceae, Pseudomonadaceae, Xanthomonadaceae	
Classe	Antimicrobiano
Cefalosporinas	Ceftazidima ^a
Carbapenêmicos	Imipenem ^a
	Meropenem ^a
Monobactâmicos	Aztreonam ^a
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacino ^a
	Enrofloxacin ^b
	Levofloxacino ^a
Aminoglicosídeos	Amicacina ^a
	Tobramicina ^a

1254

1255 ^a = *Clinical and Laboratory Standards Institute* – CLSI, 20201256 ^b = *Clinical and Laboratory Standards Institute* – CLSI, 2018 (VET08)

1257

Bacillaceae, Planococcaceae, Staphylococcaceae	
Classe	Antimicrobiano
Cefalosporinas	Cefoxitina ^a
Carbapenêmicos	Imipenem ^{a,1}
Fluoroquinolonas	Enrofloxacin ^b
	Levofloxacino ^a
	Marbofloxacino ^b
Aminoglicosídeos	Amicacina ^a
Macrolídeos	Eritromicina ^a
Tetraciclinas	Tetraciclina ^a
Oxazolidinonas	Linezolida ^a

1258

1259 ^a = *Clinical and Laboratory Standards Institute* – CLSI, 20201260 ^b = *Clinical and Laboratory Standards Institute* – CLSI, 2018 (VET08)1261 ¹ = A sensibilidade dos estafilococos ao imipenem é inferida a partir da sensibilidade à cefoxitina.

1262

1263

1264

1265

1266

1267

1268

1269

1270

Actinomycetaceae, Aerococcaceae, Carnobacteriaceae, Corynebacteriaceae, Enterococcaceae, Lactobacillaceae, Microbacteriaceae, Micrococcaceae, Streptococcaceae	
Classe	Antimicrobiano
Penicilinas	Benzilpenicilina ^a
Cefalosporinas	Ceftriaxona ^a Enrofloxacino ^b
Fluoroquinolonas	Levofloxacino ^a Marbofloxacino ^b
Glicopeptídeos	Vancomicina ^a
Macrolídeos	Eritromicina ^a
Tetraciclinas	Tetraciclina ^a
Oxazolidinonas	Linezolida ^a
Sulfonamidas	Sulfametoxazol + Trimetoprim ^b

1271

1272 ^a = Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI, 20201273 ^b = Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI, 2018 (VET08)

1274