

Suscetibilidade à azitromicina de agentes bacterianos isolados de processos infecciosos em diferentes sítios de animais de companhia

[Azithromycin susceptibility pattern of bacterial isolated from different sites of infections in pet animals]

I.A. Pereira¹, L.C. Soares¹, S.M.O. Coelho¹, F.A. Balbino², B.R. Pribul², M.M.S. Souza^{3*}

¹Aluno de pós-graduação - UFRRJ – Seropédica, RJ

²Aluno de graduação - UFRRJ – Seropédica, RJ

³Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária - UFRRJ
23890-000 – Seropédica, RJ

RESUMO

Avaliou-se o perfil de suscetibilidade bacteriana de diferentes sítios infecciosos frente aos antimicrobianos de eleição e determinaram-se o perfil de atividade *in vitro* e a concentração inibitória mínima (CIM) da azitromicina. Diferentes testes fenotípicos detectaram resistência à azitromicina em 45% de *Staphylococcus* spp. e 65% dos bastonetes Gram-negativo. A CIM₅₀ para *S. aureus* foi 4,0µg/mL para *S. intermedius* 1,0µg/mL, *Staphylococcus* spp. coagulase-negativo ≥512µg/mL e bastonetes Gram-negativo 256µg/mL. Investigou-se, também, uma possível resistência cruzada entre oxacilina e azitromicina por meio da detecção do gene *mecA* em *Staphylococcus* spp. Foi possível detectar resistência à azitromicina em nove (15%) isolados de *Staphylococcus* spp. *mecA* positivo.

Palavras-chave: cão, gato, resistência bacteriana, azitromicina

ABSTRACT

Antimicrobials susceptibility pattern of bacterial isolated from different sites of infection, in vitro azithromycin activity pattern, and its minimum inhibitory concentration (MIC) values were evaluated. Different phenotypic tests detected azithromycin resistance in 45% of Staphylococcus spp. and 65% of resistant Gram-negative rods. MIC₅₀ was 4.0µg/mL for Staphylococcus aureus, 1.0µg/mL for S. intermedius, ≥512.0µg/mL for coagulase negative Staphylococcus, and 256.0µg/mL for Gram-negative rods. In addition, it was investigated the possible cross-resistance between oxacillin and azithromycin, by detection of mecA gen in Staphylococcus spp. Nine (15%) mecA-positive Staphylococcus spp. were also phenotypically resistant to azithromycin.

Keywords: dog, cat, antimicrobial resistance, azithromycin

INTRODUÇÃO

A azitromicina é amplamente utilizada no tratamento de infecções em humanos e está disponível, atualmente, no mercado veterinário, como alternativa de tratamento em processos infecciosos dos sistemas genito-urinário, respiratório, oral e pele (Retsema, 1999). Seu mecanismo de ação é bacteriostático e consiste na ligação à subunidade 50S do ribossomo, inibindo, assim, a síntese proteica. Apresenta atividade contra bactérias aeróbias e anaeróbias Gram-positivo, com exceção de enterococos, e contra

Gram-negativo (Girard et al., 1990; Neu, 1991). A reorganização estrutural deste fármaco confere características farmacocinéticas e microbiológicas diferenciais, podendo ser absorvida por via oral e parenteral em dose única diária e em ciclos de tratamento curtos, fato este que favorece seu amplo uso na terapêutica veterinária.

O uso indiscriminado de antibióticos na clínica veterinária, sem execução de testes de sensibilidade que possibilitem a utilização do fármaco ideal, contribui para o aumento do espectro de microrganismos com habilidade de suplantar os mecanismos de ação desses fármacos.

Recebido em 2 de julho de 2008

Aceito em 8 de abril de 2009

*Autor para correspondência (corresponding author)

E-mail: miliane@ufrj.br

A conduta clínica veterinária colabora com o aumento do uso de antimicrobianos de amplo espectro, favorecendo casos de resistência (Prescott et al., 2002). Nesse contexto, a azitromicina tem sido amplamente utilizada, porém a maioria dos estudos que avaliaram o desenvolvimento de sua resistência foi realizada a partir de isolados bacterianos de origem humana. Assim, são necessários estudos que avaliem o espectro de atividade da azitromicina frente a bactérias provenientes de infecções animais.

O aumento da pressão seletiva na população bacteriana também induz alguns mecanismos de resistência cruzada como os observados em *S. aureus* e *Staphylococcus* spp. coagulase-negativos eritromicina e oxacilina-resistentes (Neu, 1991). O mecanismo envolvido na resistência à oxacilina pode ser definido pela expressão do gene *mecA* que codifica uma nova proteína-alvo para a penicilina a qual foi denominada PBP2a ou PBP2'. A transferência horizontal do gene *mecA* em *Staphylococcus* spp. resultou na disseminação mundial de clones oxacilina e multidroga-resistentes. A literatura aponta a presença deste gene como um possível mecanismo comum de resistência à oxacilina e à azitromicina.

O presente estudo teve como objetivos avaliar o espectro de atividade da azitromicina frente a diversos processos infecciosos bacterianos de animais de companhia, e avaliar a concentração inibitória mínima (CIM) e a possível resistência cruzada entre oxacilina e azitromicina em isolados de *Staphylococcus* spp.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram obtidas 151 amostras de diferentes processos infecciosos, 128 de cães e 23 de gatos, por meio do acompanhamento da rotina de atendimento clínico do Departamento de Clínica Médica de Pequenos Animais da Universidade Estácio de Sá e de visitas periódicas ao Instituto Veterinário Municipal Jorge Waitsman, no período de outubro de 2005 a março de 2006. Dentre os processos infecciosos avaliados, foram coletadas amostras em: 33 cães com otite externa; 25 cães e oito gatos com lesões e secreções da pele; 34 cães e 15 gatos clinicamente suspeitos de infecção urinária; seis cadelas com piometra; cinco cães que apresentavam quadros de infecção do trato respiratório; 12 cães com periodontites, lesões pustulares e fistulares provocadas por infecção dos dentes pré-molares e molares superiores e em 13 cães com alterações patológicas

da mucosa conjuntival, tais como: secreções purulentas e úlceras de córnea.

As amostras foram enviadas, sob refrigeração, para o laboratório, para análises microbiológicas. As amostras clínicas foram inoculadas em ágar sangue (5% de sangue de carneiro) e em meios seletivos e diferenciais. As colônias isoladas foram submetidas ao método de Gram, teste da catalase e hidróxido de potássio a 3% e processadas de acordo com os testes de identificação específicos para cada grupo bacteriano (Koneman et al., 2001). Posteriormente, foram realizados os testes de suscetibilidade aos fármacos pela técnica de difusão em disco¹ (Methods..., 2005) tendo sido a escolha dos antimicrobianos¹ realizada segundo indicações terapêuticas para cada um dos sítios de infecção.

Para a realização dos ensaios de suscetibilidade à azitromicina, empregou-se, primeiro, o teste de difusão em disco, sendo utilizados discos de azitromicina de 15µg¹. De acordo com o padrão estabelecido pelo CLSI (Methods..., 2005), os halos de inibição correspondem a diâmetros ≤13mm para isolados resistentes, ≥18mm para sensíveis e o intervalo de 14-17mm para isolados com grau de inibição intermediário. Os testes de microdiluição em caldo e em ágar também foram aplicados para a avaliação da atividade inibitória e para a determinação da CIM da azitromicina. Dessa maneira, foram estabelecidas as seguintes concentrações de azitromicina: 1,0µL/mL; 2,0µL/mL; 4,0µL/mL; 8,0µL/mL; 16,0µL/mL; 32,0µL/mL; 64,0µL/mL; 128,0µL/mL; 256,0µL/mL e 512,0µL/mL. Os isolados que apresentaram CIM maior ou igual a 8,0µg/mL foram considerados resistentes (Methods..., 2005). As amostras padrão de *S. aureus* sensível (ATCC 25923) e resistente à oxacilina (ATCC 29213) foram utilizadas como controle dos testes.

Para avaliar a possível resistência cruzada entre oxacilina e azitromicina em isolados de *Staphylococcus* spp., foi realizada a detecção do gene *mecA*, frequentemente associado à resistência à oxacilina em *Staphylococcus* spp., utilizando-se a técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR) descrita por Coelho et al. (2007).

Análises estatísticas foram aplicadas para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) da azitromicina. Aplicou-se a regressão logística, conforme Ritz e Streibig (2005),

¹Sensifar-Cefar, Brasil.

utilizando o software R2.4.1/2006 e análise estatística multivariada (correlação canônica), para estabelecer a correspondência entre os resultados dos testes fenotípicos e determinar quais isolados realmente foram resistentes (Hair et al., 2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se prevalência de 36,8% de *Staphylococcus* spp. coagulase-positivo (ECP), seguidos pelas enterobactérias, 30,5%, *Staphylococcus* spp. coagulase-negativo, 8,3%, e *Pseudomonas* spp., 6,9% (Tab. 1). *Staphylococcus intermedius* foi prevalente em casos de otite externa e pioderma canino, seguidos por *S. aureus* e *S. schleiferi*, sendo essas as espécies frequentemente apontadas na etiologia desses processos infecciosos (Pelerim et al., 1998; Hariharan et al., 2006). Dentre as enterobactérias, *Escherichia coli* foi prevalente nas infecções urinárias e apresentou percentuais de isolamento significativos nas infecções da pele e do conduto auditivo. Outras

espécies isoladas foram: *Proteus* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter freundii*, *Yersinia* spp., *Enterobacter* spp. e *Salmonella* spp. Estudos anteriores também relataram o isolamento de ampla diversidade de espécies bacterianas em processos infecciosos de cães (Kogika et al., 1995; Çetin et al., 2003; Coggan et al., 2004). *Listeria* spp. foi isolada em amostras de dois cães que, após envolvimento em uma briga, desenvolveram processos infecciosos como uveíte traumática, secreção nasal mucopurulenta e lesões fistulares. O isolamento de *Listeria* spp., em todos os sítios avaliados, permite estabelecer o envolvimento e a via de contaminação. A condição higiênico-sanitária do local de alojamento desses cães deve ter associação direta com a presença desse agente, uma vez que *Listeria* spp. pode ser isolada a partir de solos, silagem, esgoto, água corrente e fezes (Hirsh e Zee, 2003). A diversidade de espécies bacterianas isoladas aponta para a importância do diagnóstico microbiológico como fator limitante das falhas de conduta terapêutica.

Tabela 1. Percentual de microrganismos isolados a partir dos processos infecciosos de animais de companhia

Número de isolados/ sítio infeccioso avaliado	Otite	Pele	Trato urinário	Trato respiratório	Trato reprodutivo	Mucosa oral	Mucosa ocular
	n=49	n=40	n=29	n=5	n=10	n=6	n=8
<i>Staphylococcus</i> spp. coagulase-positivo							
<i>S. intermedius</i>	26,5	27,5	17,2	-	10	16,7	25
<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	8,2	15	-	-	10	-	25
<i>S. aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i>	-	-	-	-	10	-	-
<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i>	4,1	10	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus</i> spp. coagulase-negativo							
<i>S. xylosum</i>	8,2	5	-	-	-	16,7	-
<i>S. hominis</i>	-	5	-	-	10	-	-
<i>S. epidermidis</i>	-	-	-	40	-	-	-
<i>Micrococcus</i> spp.	14,3	7,5	-	-	-	-	-
<i>Streptococcus</i> spp.	-	-	-	-	-	16,7	-
Bastonetes Gram-positivo							
<i>Corynebacterium</i> spp.	2,1	2,5	3,4	20	20	16,7	-
<i>Listeria</i> spp.	-	-	3,4	40	-	16,7	25
<i>Bacillus</i> spp.	-	-	10,3	-	-	-	-
Bastonetes Gram-negativo							
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14,3	2,5	-	-	10	-	12,5
<i>E. coli</i>	6,1	5	24,1	-	-	-	-
<i>P. mirabilis</i>	6,1	5	13,8	-	-	16,7	-
<i>P. vulgaris</i>	-	2,5	-	-	-	-	-
<i>S. marcescens</i>	6,1	7,5	3,4	-	10	-	-
<i>S. liquefaciens</i>	-	-	-	-	-	-	12,5
<i>C. freundii</i>	-	2,5	10,3	-	10	-	-
<i>Y. enterocolitica</i>	-	2,5	6,9	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> spp.	-	-	3,4	-	-	-	-
<i>Enterobacter</i> spp.	-	-	-	-	10	-	-
Levedura	4,1	-	3,4	-	-	-	-

O perfil de suscetibilidade antimicrobiana observado variou em relação aos sítios de infecção investigados. No caso dos isolados provenientes de otite externa canina, os antibióticos mais eficientes foram a associação de ampicilina+sulbactam, cefalotina e gentamicina (Tab. 2). Nas infecções do trato urinário, os melhores resultados obtidos foram para ampicilina+sulbactam, gentamicina e

fluoroquinolonas, como norfloxacina e ciprofloxacina. Nas infecções da pele, ampicilina+sulbactam, ciprofloxacina, cefotaxima e cefalexina apresentaram menores percentuais de resistência. Foram detectados altos percentuais de resistência em relação à penicilina e à oxacilina em todos os isolados.

Tabela 2. Percentual de suscetibilidade de antimicrobianos dos principais grupos bacterianos isolados de infecções de animais de companhia

Antimicrobiano	Otite externa canina					Infecções de pele			UTI	
	ECP	ECN	MIC	PSD	ENT	ECP	ECN	ENT	ECP	ENT
Beta-lactâmicos										
Cefoxitina	5,3	25	0	42,8	0	5,8	0	54,5	-	-
Cefalotina	5,3	25	0	57,1	11,1	-	-	-	-	-
Ceftriaxona	-	-	-	-	-	0	0	54,5	0	41,2
Oxacilina	36,8	100	14,3	100	100	17,6	25	90,9	100	100
Ampicilina	78,4	75	14,3	100	88,9	76,5	100	72,7	100	100
Amp+sulbactam	0	25	0	14,3	0	0	0	0	0	4
Penicilina G	78,4	75	42,8	100	88,9	82,5	100	90,9	100	100
Vancomicina	26,3	50	0	57,1	88,9	11,8	0	90,9	33,3	100
Amoxicilina	47,4	50	28,5	57,1	66,7	-	-	-	66,7	15
Aminoglicosídeos										
Gentamicina	0	25	0	0	0	-	-	-	0	0
Neomicina	42,1	25	14,3	42,8	55,5	-	-	-	-	-
Macrolídeos										
Azitromicina	42,1	50	28,5	42,8	44,4	52,9	50	100	-	-
Eritromicina	-	-	-	-	-	88,2	100	100	-	-
Quinolonas										
Enrofloxacina	26,3	25	28,5	14,3	44,4	17,6	0	27,3	100	35,3
Norfloxacina	-	-	-	-	-	-	-	-	0	35,3
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	17,6	0	18,2	0	29,4
Outros										
Cloranfenicol	5,3	0	0	42,8	22,2	0	50	36,4	-	-
Clindamicina	-	-	-	-	-	23,5	25	100	-	-
Nitrofurantoína	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0

ECP: *Staphylococcus* spp. coagulase-positivo; ECN: *Staphylococcus* spp. coagulase-negativo; MIC: *Micrococcus* spp.; PSD: *Pseudomonas* spp.; ENT; enterobactérias.

O perfil de atividade da azitromicina, segundo o teste de difusão em disco, detectou 48,6% (52/107) de isolados resistentes à azitromicina. O percentual de resistência em *S. intermedius* correspondeu a 40% (12/30), em *S. aureus* foi de 55,6% (10/18), em ECN 50% (6/12) e para bastonetes Gram-negativo, 55,3% (27/50). O teste de microdiluição em caldo detectou valores de CIM acima ou igual ao limite de resistência à azitromicina em 53,3% (16/30) dos isolados de *S. intermedius*, em 50% (9/18) de *S. aureus*, em

66,7% (8/12) de ECN e em 90% (45/50) dos bastonetes Gram-negativo. A técnica da diluição em ágar detectou 88,9% (16/18) dos isolados de *S. aureus* resistentes à azitromicina e 83,3% (25/30) e 75% (9/12) de *S. intermedius* e ECN, respectivamente. O percentual de resistência dos bastonetes Gram-negativo permaneceu inalterado em relação ao teste de microdiluição em caldo. Dados na literatura, a respeito do desenvolvimento de resistência à azitromicina, em clínica veterinária, são escassos até o

Suscetibilidade à azitromicina...

momento. No entanto, alguns estudos em populações humanas mostraram que cepas de *S. aureus* apresentaram aumento da CIM de três diluições, após serem submetidas a nove exposições consecutivas de azitromicina (Retsema, 1999).

A determinação da CIM₅₀, para a azitromicina obtida a partir da técnica de microdiluição em caldo para os isolados de *S. aureus*, apresentou valores de 4,0µg/mL, para *S. intermedius* foi de 1,0µg/mL e para ECN valores acima de 512,0µg/mL. A CIM₉₀ apresentou valores de 8,0µg/mL para *S. aureus* e valores maiores que 512,0µg/mL para *S. intermedius* e ECN, respectivamente (Fig. 1). Em relação aos bastonetes Gram-negativo, os resultados da

CIM_{50/90}, detectados pela técnica de microdiluição em caldo, foram de 256,0µg/mL e >512,0µg/mL (Fig. 1). Entretanto, os altos valores observados podem estar associados à presença de enterobactérias e *Pseudomonas* spp. reconhecidamente resistentes à azitromicina. A CIM_{50/90} também foi avaliada pela técnica de diluição em ágar, e os resultados obtidos foram: 16,0µg/mL e 64,0µg/mL para *S. aureus*, 16,0µg/mL e 32,0µg/mL para *S. intermedius*, 32,0µg/mL e 128,0µg/mL para ECN. Para os bastonetes Gram-negativo, a CIM_{50/90} foi de 256,0µg/mL e >512,0µg/mL, e o perfil de inibição só atingiu níveis significativos em alta concentração de azitromicina.

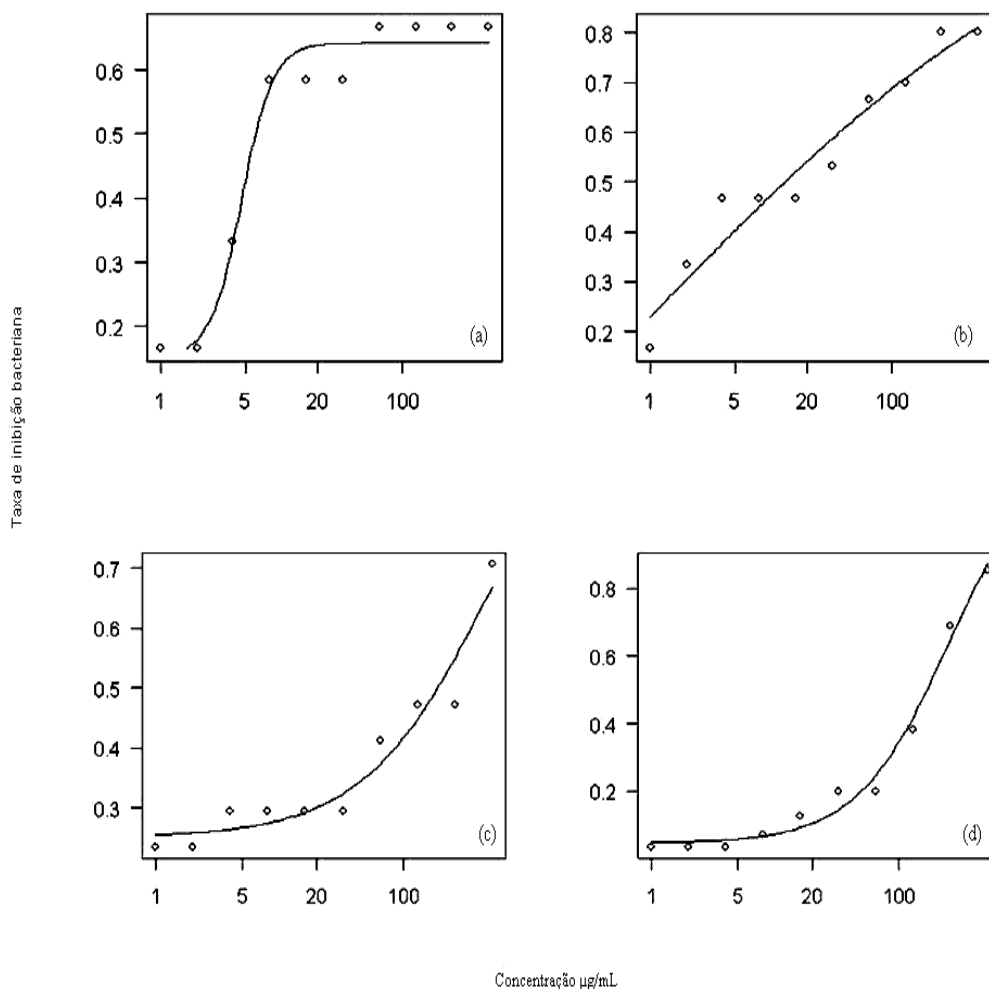


Figura 1. Perfil de atividade da azitromicina, segundo resultados obtidos no teste de microdiluição em caldo obtido e amostras isoladas de infecções de animais de companhia.

Modelo dose-resposta (concentração de azitromicina x inibição bacteriana) dos isolados, (a) *S. aureus*, (b) *S. intermedius*, (c) ECN, (d) bastonetes Gram-negativo avaliados pelo teste de microdiluição em caldo.

Os resultados de determinação da resistência à azitromicina, obtidos pelas três técnicas, foram submetidos à correlação canônica, para estabelecer a correspondência, de forma a determinar quais isolados foram realmente resistentes (Hair et al., 2005). Os isolados que apresentaram escores de correspondência acima de 0,5 são considerados potencialmente resistentes. Dessa maneira, 45% dos isolados de *Staphylococcus* spp. e 65,4% dos bastonetes Gram-negativo podem ser considerados verdadeiramente resistentes por apresentarem

grau de correspondência de 86,6% e 91,3% respectivamente. Em relação aos bastonetes Gram-negativo, 65,4% dos isolados apresentaram grau de correspondência de 91,3%. Os testes fenotípicos detectaram que 35% (21/60) dos isolados foram sensíveis e 5% (3/60) resistentes, em todos os testes fenotípicos.

Após análise fenotípica da resistência à oxacilina e azitromicina, as cepas foram avaliadas quanto à presença do gene *mecA*, pela técnica de PCR (Fig. 2). Do total de 60 isolados de *Staphylococcus* spp. avaliados, nove (15%) foram positivos para a presença do gene *mecA*, tendo estes apresentado variados perfis de suscetibilidade à oxacilina e à azitromicina nesses isolados (Tab. 3).

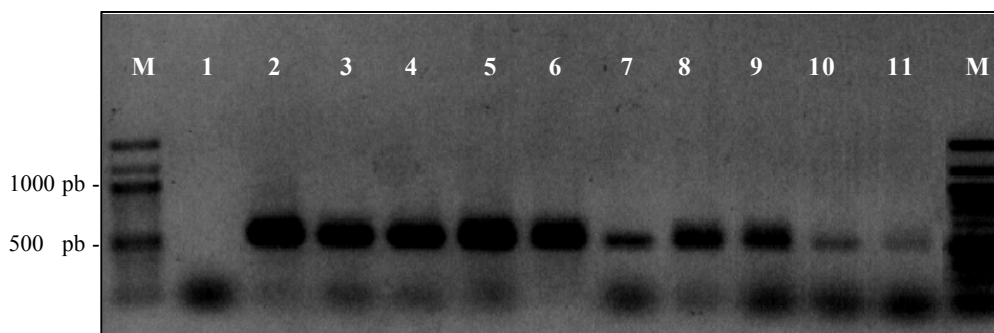


Figura 2. Eletroforese do fragmento do gene *mecA* (513pb) de amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de processos infecciosos de animais de companhia, em gel de agarose a 1,5%. (M) marcador de peso molecular (100pb), (1) controle negativo, (2) controle positivo, (3) até (11) *Staphylococcus* spp. *mecA* positivo.

Tabela 3. Perfil de suscetibilidade à azitromicina e à oxacilina dos *Staphylococcus* spp. *mecA* positivos obtido de amostras de infecções de animais de companhia

<i>Staphylococcus</i> spp. <i>mecA</i> positivo	Oxacilina					Azitromicina		
	DD	DDM	AS	MC	DA	DD	MC	DA
1	S	S	S	S	S	R	R	R
2	R	R	R	R	S	R	S	S
3	S	S	S	S	R	R	R	R
4	S	S	S	S	S	R	S	R
5	R	R	R	S	S	S	S	R
6	S	R	R	R	R	S	R	R
7	S	S	S	S	S	R	R	R
8	R	R	S	S	R	S	S	R
9	R	R	S	S	R	S	R	S

DD: difusão em disco, DDM: difusão em disco modificada, AS: ágar *screen*, MC: microdiluição em caldo, DA: diluição em ágar.

O perfil heterogêneo de resistência à oxacilina, observado nos isolados *mecA* positivo, é suportado pelas diferenças de características de crescimento em que, possivelmente, numa população heterorresistente, existem tanto organismos suscetíveis que exibem crescimento atípico de estafilococos não-heterorresistentes, quanto organismos resistentes (Aarestrup et al., 2001). Estudos relatam que espécies estafilocócicas *mecA* positivo apresentam instabilidade genética e podem perder o gene, resultando em subpopulações sensíveis. Logo, a diferença dos resultados de avaliação fenotípica da resistência à oxacilina deve ser utilizada como alerta para a comunidade científica, uma vez que inúmeros fatores de instabilidade das espécies devem ser levados em consideração antes de classificá-las como sensíveis ou resistentes ao antibiótico (Sakoulas et al., 2001). Além da presença do gene *mecA*, a expressão fenotípica heterogênea da resistência à oxacilina pode ser explicada pela hiperprodução de beta-lactamase ou pela modificação de afinidade a outras "PBPs", principalmente a PBP3 (Brown et al., 2001; Petinaki et al., 2001). Recentemente, a literatura aponta também para a detecção do gene *femA* que codifica um fator essencial para a resistência à meticilina, universalmente presente em *S. aureus* (Mehrotra et al., 2001). No entanto, foi possível observar que todos os nove isolados *mecA* positivo avaliados apresentaram, pelo menos em um dos testes fenotípicos realizados, resistência à azitromicina. Tais resultados corroboram com a ideia de uma possível resistência cruzada entre oxacilina e azitromicina em isolados de *Staphylococcus* spp., reduzindo, assim, a eficiência da azitromicina quando estes agentes estão envolvidos na etiologia de processos infecciosos de animais de companhia.

CONCLUSÕES

O perfil de suscetibilidade à azitromicina, que variou de 48,6% e 55% em relação aos sítios de infecção investigados, justifica a adoção de protocolos de identificação e antibiogramas, antes da eleição desse fármaco na terapêutica clínico-veterinária. Nove (15%) isolados de *Staphylococcus* spp. positivos para a presença do gene *mecA*, considerado padrão-ouro da resistência à oxacilina, foram resistentes à azitromicina nos testes fenotípicos avaliados; assim, é possível haver um mecanismo de resistência cruzada.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- AARESTRUP, F.M.; SEYFARTH, A.M.; EMBORG, H. et al. Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence of antimicrobial resistance in fecal enterococci from food animals in denmark. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.45. p.2054-2059, 2001.
- BROWN, D.F.J.; EDWARDS, D.I.; HAWKEY, P.M. et al. On behalf of the joint working party of the british, guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J. Antimicrob. Chemother.*, v.56, p.1000-1018, 2001.
- ÇETIN, C.; SENTÜRK, S.; KACABIYIK, A.L. et al. Bacteriological examination of urines samples from dogs with symptoms of urinary tract infection. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, v.23, p.1225-1229, 2003.
- COELHO, S.M.O.; MENEZES, R.A.; SOARES, L.C. et al. Mapeamento do perfil de resistência e detecção do gene *mecA* em *Staphylococcus aureus* e *S. intermedius* oxacilina-resistentes isolados de humanos e animais. *Cienc. Rural*, v.37, p.195-200, 2007.
- COGGAN, J.A.; OLIVEIRA, C.M.; FAUSTINO, M. et al. Estudo microbiológico de conteúdo intrauterino de cadelas com piometra e pesquisa de fatores de virulência em cepas de *Escherichia coli*. *Arq. Inst. Biol.*, v.71, supl., p.1-749, 2004.
- GIRARD, A.E.; GIRARD, D.; RETSEMA, J.A. Correlation of the extravascular pharmacokinetics of Azithromycin with in vivo efficacy in models of localized infection. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.25, suppl.A, p.61-71, 1990.
- HAIR, J.F.; ANDERSON, R.E.; TATHAM, R.L. et al. *Análise multivariada de dados*, 5.ed. Porto Alegre: Bookman, 2005.
- HARIHARAN, H.; COLES, M.; POOLE, D. et al. Update on microbial susceptibilities of bacterial isolates from canine and feline otitis externa. *Can. Vet. J.*, v.47, p.253-257, 2006.
- HIRST, D.C.; ZEE, Y.C. *Microbiologia veterinária*. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2003. p.212-215.

- KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M. et al. *Diagnóstico microbiológico*. 5.ed. Rio de Janeiro: MEDSI. p.1465, 2001.
- KOGIKA, M.M.; FORTUNATO, V.A.B.; MAMIZUKA, E.M. et al. Etiologic study of urinary tract infection in dogs. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.32, p.31-36, 1995.
- MEHROTRA, M.; WANG., G.; JOHNSON, W.M. Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance, *J. Clin. Microbiol.*, v.38, p.1032-1035, 2001.
- METHODS for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standards. Wayne, PA: CLSI, 2005. (Document M45-P).
- NEU, H.C. Clinical microbiology of azithromycin. *Am. J. Med.*, v.91, suppl.3A, p.3A-12S, 1991.
- PELLERIN, J.L.; BOURDEAU, P.; SEBBAG, H. et al. Epidemiosurveillance of antimicrobial compound resistance of *Staphylococcus intermedius* clinical isolates from canine pyoderma. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, v.21, p.115-133, 1998.
- PETINAKI, E.; DIMITRACOPOULOS, G.; SPILIOPOULOU, I. Decreased affinity of PBP3 to methicillin in a clinical isolate of *Staphylococcus epidermidis* with borderline resistance to methicillin and free of the *mecA* gene. *Microb. Drug Resist.*, v.7, p.297-300, 2001.
- PRESCOTT, J.F.; HANNA, W.J.B.; REID-SMITH, R. Antimicrobial drug use and resistance in dogs. *Can. Vet. J.*, v.43, p.107-116, 2002.
- RETSEMA, J.A. Susceptibility and resistance emergence studies with Macrolides. *Int. J. Antimicrob. Agents*, v.11, suppl.1, p.S15-S21, 1999.
- RITZ, C.; STREIBIG, J.C. Bioassay analysis using R. *J. Stat. Softw.*, v.12, p.1-22, 2005.
- SAKOULAS, G.; GOLD H.S.; VENKATARAMAN, L. et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Comparison of Susceptibility Testing Methods and Analysis of *mecA*-Positive Susceptible Strains. *J. Clin. Microbiol.*, v.39, p.3946-3951, 2001.