

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRARIAS E VETERINÁRIAS

**PERFIL DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS DE
COCOS GRAM-POSITIVOS E BACILOS GRAM-NEGATIVOS
ISOLADOS DO AMBIENTE E SÍTIO CIRÚRGICO
SUPERFICIAL DE CÃES**

Mareliza Possa de Menezes
Médica Veterinária

2020

**D
I
S
S.**

/

**M
E
N
E
Z
E
S**

**M.
P.**

**2
0
2
0**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRARIAS E VETERINÁRIAS**

**PERFIL DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS DE
COCOS GRAM-POSITIVOS E BACILOS GRAM-NEGATIVOS
ISOLADOS DO AMBIENTE E SÍTIO CIRÚRGICO
SUPERFICIAL DE CÃES**

Discente: Mareliza Possa de Menezes

Orientadora: Profa. Dra. Paola Castro Moraes

Coorientadora: Dra. Marita Vedovelli Cardozo

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Cirurgia Veterinária.

2020

M543p

Menezes, Mareliza Possa de

Perfil de resistência aos antimicrobianos de cocos Gram-positivos e bacilos Gram-negativos isolados do ambiente e sítio cirúrgico superficial de cães / Mareliza Possa de Menezes. -- Jaboticabal, 2020
59 p. : tabs. + 1 CD-ROM

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Paola Castro Moraes

Coorientadora: Marita Vedovelli Cardozo

1. Cirurgia Veterinária. 2. Infecção do sítio cirúrgico. 3. Resistência bacteriana. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: PERFIL DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS DE COCOS GRAM-POSITIVOS E BACILOS GRAM-NEGATIVOS ISOLADOS DO AMBIENTE E SÍTIO CIRÚRGICO SUPERFICIAL DE CÃES

AUTORA: MARELIZA POSSA DE MENEZES

ORIENTADORA: PAOLA CASTRO MORAES

COORDINADORA: MARITA VEDOVELLI CARDOZO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIRURGIA VETERINÁRIA, pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. PAOLA CASTRO MORAES
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / UNESP / FCAV - Jaboticabal

Prof. Dr. RODRIGO CARDOSO RABELO (VIDEOCONFERÊNCIA) 
INTENSIVET / Brasília/DF


Pós-doutoranda MILENA TAVARES LIMA CONSTANCIO
Departamento de Tecnologia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 28 de fevereiro de 2020

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Mareliza Possa de Menezes, natural de Barretos-SP, nascida no dia 28 de dezembro de 1990. Graduada em Medicina Veterinária pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), campus de Jaboticabal em 2015. Realizou residência médica em clínica cirúrgica de pequenos animais pelo Programa de Aprimoramento Profissional em Medicina Veterinária e Saúde Pública (2016-2018) na FCAV/UNESP Jaboticabal, sob orientação da Profa. Dra. Paola Castro Moraes. Atualmente, é aluna do curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP Jaboticabal e bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq), sob orientação da Profa. Dra. Paola Castro Moraes. Atua no Serviço de Cirurgia de Tecidos Moles e Endoscopia de Pequenos Animais do Hospital Veterinário da instituição.

“O conhecimento emerge apenas através da invenção e da reinvenção, através da inquietante, impaciente, contínua e esperançosa investigação que os seres humanos buscam no mundo, com o mundo e uns com os outros”

Pedagogia do Oprimido

Paulo Freire, 1968

AGRADECIMENTOS

À minha família por estar presente em todos os momentos, ser meu suporte e porto seguro, independente da distância.

Aos meus amigos de longa data por também estarem presentes e fazerem com que a jornada se torne mais leve. Em especial à Aline, por tudo o que passamos e o que cresci pessoalmente e profissionalmente nos longos dias dentro de um hospital.

À Andreia e Gabriel pela parceria desde a residência, trabalhar com profissionais como vocês é privilégio.

À Marisa pelo companheirismo nesses dois últimos anos, por me estimular a ir sempre em frente e me enfrentar, e por me trazer novos horizontes.

À Professora Paola, pela orientação em todos os desafios em ser cirurgiã, e, principalmente, por me dar a liberdade para encontrar na pesquisa uma área que me estimule e desafie.

À professora Tati, a qual me auxiliou tanto profissionalmente quanto pessoalmente. As conversas sobre educação e a experiência de trabalhar com educação ambiental foram indescritíveis na minha formação.

À equipe do laboratório de microbiologia, Mariana, Natália, Mylena e Marita, que tornaram as minhas loucuras na bancada mais engraçadas, me ajudaram quando necessário e riram comigo dos meus erros.

Em especial à Marita, minha outra orientadora, quem me ajudou a superar todos os desafios e me fez colocar os pés no chão nos diversos de meus surtos de preocupação ou sonhos. É, sem dúvida, a pessoa que me impulsionou na pesquisa e não me deixou desistir. Sou grata e tenho grande admiração pela pessoa e profissional que és.

À banca de qualificação e defesa pela grande contribuição intelectual no trabalho.

A todos meus pacientes. Ao Frederico, o mais especial deles.

Por fim, obrigada ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo fomento à minha pesquisa (processo nº: 130822/2018-3).

SUMÁRIO

| | |
|--|------|
| Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa..... | iii |
| Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais..... | iv |
| RESUMO..... | v |
| ABSTRACT..... | vi |
| LISTA DE FIGURAS..... | vii |
| LISTA DE QUADROS..... | viii |
| LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS..... | ix |
| CAPÍTULO 1 – Considerações gerais..... | 1 |
| 1 Introdução..... | 1 |
| 2 Revisão de literatura..... | 2 |
| 2.1 Histórico e contexto atual da resistência antimicrobiana (RAM)..... | 2 |
| 2.1.1 Contexto atual da RAM no Brasil..... | 4 |
| 2.1.2 Desafios da RAM na Medicina Veterinária no Brasil e no mundo..... | 4 |
| 2.2 Mecanismos de resistência bacteriana..... | 5 |
| 2.2.1 Modificação da molécula de antimicrobiano..... | 6 |
| 2.2.2 Alteração do sítio-alvo..... | 6 |
| 2.2.3 Redução da permeabilidade da membrana e captação do fármaco.. | 7 |
| 2.2.4 Ativação de mecanismos de bombas de efluxo..... | 7 |
| 2.3 Causas de emergência de RAM..... | 7 |
| 2.4 Infecção hospitalar e bactérias multirresistentes..... | 8 |
| 2.4.1 Infecção do sítio cirúrgico..... | 9 |
| 3 Referências..... | 11 |
| CAPÍTULO 2 - Perfil de resistência aos antimicrobianos de cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos isolados do ambiente e sítio cirúrgico superficial de cães..... | 14 |
| Abstract..... | 14 |
| Resumo..... | 15 |
| Introdução..... | 16 |
| Material e métodos..... | 16 |
| Seleção dos casos..... | 16 |

| | |
|---|----|
| Preparação do paciente e equipe cirúrgica..... | 17 |
| Variáveis trans-operatórias..... | 17 |
| Coleta das amostras..... | 17 |
| Identificação bacteriana..... | 18 |
| Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos..... | 18 |
| Determinação fenotípica de genes de resistência bacteriana..... | 19 |
| Análise estatística..... | 19 |
| Resultados..... | 19 |
| Variáveis do perioperatório..... | 19 |
| Contaminação bacteriana..... | 19 |
| Índice de resistência aos antimicrobianos..... | 22 |
| Exposição prévia aos antimicrobianos..... | 24 |
| Ferida cirúrgica no pós-operatório..... | 24 |
| Discussão..... | 24 |
| Conclusão..... | 28 |
| Referências..... | 29 |
| CAPÍTULO 3 – Considerações finais..... | 35 |
| 1 Ciência pra quem?..... | 35 |
| 2 A tríade da universidade pública..... | 36 |
| 3 A tríade da saúde única..... | 36 |
| 4 Desafios da pesquisa..... | 37 |
| 5 Aplicações e impactos da pesquisa..... | 37 |
| 6 Conclusão..... | 38 |
| APÊNDICES..... | 39 |
| APÊNDICE A..... | 40 |
| Tabela 1A..... | 41 |
| Tabela 2A..... | 42 |
| Tabela 3A..... | 43 |

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UNESP - FACULDADE DE
CIÊNCIAS AGRÁRIAS E
VETERINÁRIAS E



Continuação do Parecer: 3.323.557

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|---|---|------------------------|---------------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1157291.pdf | 03/05/2019 22:02:47 | | Aceito |
| Folha de Rosto | Foihaderosto.pdf | 02/05/2019 18:42:42 | MARELIZA POSSA DE MENEZES | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE.pdf | 02/05/2019 18:38:35 | MARELIZA POSSA DE MENEZES | Aceito |
| Parecer Anterior | PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_3224711.pdf | 02/05/2019 16:40:33 | MARELIZA POSSA DE MENEZES | Aceito |
| Parecer Anterior | Mareliza_PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CONEP_3274038.pdf | 02/05/2019 16:40:00 | MARELIZA POSSA DE MENEZES | Aceito |
| Orçamento | custos.pdf | 02/05/2019 16:38:13 | MARELIZA POSSA DE MENEZES | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | Projeto.pdf | 02/05/2019 16:32:47 | MARELIZA POSSA DE MENEZES | Aceito |
| Declaração de Instituição e Infraestrutura | Decl_inst.JPG | 18/03/2019 20:07:17 | MARELIZA POSSA DE MENEZES | Aceito |
| Parecer Anterior | PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_3172628.pdf | 18/03/2019 18:01:15 | MARELIZA POSSA DE MENEZES | Aceito |
| Cronograma | cronograma.pdf | 18/03/2019 17:48:37 | MARELIZA POSSA DE MENEZES | Aceito |
| Declaração do Patrocinador | responsab.pdf | 24/01/2019 16:28:30 | MARELIZA POSSA DE MENEZES | Aceito |
| Declaração de Pesquisadores | pesquisadores.pdf | 24/01/2019 16:28:06 | MARELIZA POSSA DE MENEZES | Aceito |
| Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco | manuseio.pdf | 24/01/2019 16:26:22 | MARELIZA POSSA DE MENEZES | Aceito |

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JABOTICABAL, 13 de Maio de 2019

Assinado por:
Tatiana Noronha de Souza
(Coordenador(a))

Endereço: Via de Acesso Paulo Donato Castellane s/nº

Bairro: Vila Industrial

CEP: 14.884-900

UF: SP

Município: JABOTICABAL

Telefone: (16)3209-7168

E-mail: comiteetica@fca.unesp.br

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "**Análise microbiológica do sítio cirúrgico durante o transoperatório em cães**", protocolo nº 019707/17, sob a responsabilidade da Prof.^a Dr.^a Paola Castro Moraes, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 08 de março de 2018.

| | |
|---------------------|--|
| Vigência do Projeto | 01/03/2018 a 29/02/2020 |
| Espécie / Linhagem | <i>Canis familiaris</i> |
| Nº de animais | 50 |
| Peso / Idade | Não determinado |
| Sexo | Ambos |
| Origem | Pacientes atendidos no Setor de Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário "Governador Laudo Natel" |

Jaboticabal, 08 de março de 2018.


Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

PERFIL DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS DE COCOS GRAM-POSITIVOS E BACILOS GRAM-NEGATIVOS ISOLADOS DO AMBIENTE E SÍTIO CIRÚRGICO SUPERFICIAL DE CÃES

RESUMO - As infecções causadas por organismos resistentes a múltiplos fármacos (*multi-drug resistance* – MDR) estão associadas à maior morbidade, mortalidade e aumento significativos nos custos com cuidados da saúde. Cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos são os grupos de bactérias mais frequentemente relacionadas a infecção do sítio cirúrgico em cães. Dentro do contexto de saúde única, é imperativo o aprimoramento contínuo de métodos de avaliação de contaminação e infecção bacteriana no ambiente hospitalar veterinário. O presente estudo objetivou avaliar o perfil de resistência de cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos isolados nas mãos do cirurgião, antes e após a desinquinção, no ambiente e sítio cirúrgico, durante o transoperatório de cirurgias limpas/limpas-contaminadas (G1;n=20) e cirurgias contaminadas (G2;n=10). Das 150 amostras coletadas, as do ambiente (n=30) foram obtidas pela exposição de placa com ágar *Brain Heart Infusion* na sala cirúrgica durante o procedimento, enquanto as do sítio cirúrgico (n=60) e as das mãos do cirurgião (n=60) foram coletadas por cotonete estéril e semeadas em ágar sangue e MacConkey. Todas as placas foram incubadas a 37°C por 24h em estufa bacteriológica sob condições anaeróbias. Colônias sugestivas de cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos foram submetidas a testes bioquímicos para identificação dos gêneros. Por fim, foi realizado o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos por disco difusão em ágar Müller-Hinton. Foram obtidos 43 isolados com características morfológicas e bioquímicas de *Staphylococcus* spp. e 13 de bastonetes Gram-negativos. No G1 foram isoladas cepas de *Staphylococcus* spp. coagulase negativa (SCoN) (18/21), *Staphylococcus* spp. coagulase positiva (SCoP) (2/21) e *Pseudomonas* spp. (1/21), e no G2 foram isolados SCoN (14/35), SCoP (7/35), *Proteus* spp. (6/35), *E. coli* (3/35), *Pseudomonas* spp. (1/35) e *Salmonella* spp. (1/35). A proporção de resistência a antimicrobianos das bactérias isoladas variou de 27 a 100%, e a prevalência de MDR foi de 88% em SCoN, 100% em SCoP e 77% em bastonetes Gram-negativos. Dois pacientes do G2 apresentaram infecção do sítio cirúrgico superficial pós-operatório, sendo isoladas cepas de SCoP resistente à meticilina, quinolonas e MDR, *Proteus* spp. resistente à enrofloxacina e MDR, e *Pseudomonas* spp. resistente à enrofloxacina. O alto índice de resistência de bactérias comensais encontradas na pele de cães no nosso estudo é alarmante. SCoN são patógenos comunitários relacionadas a infecções hospitalares em hospitais humanos e veterinários, sua presença em pacientes hígidos e em profissionais veterinários representam importante fonte de infecção no contexto de saúde única. Vigilância contínua e aplicação de programas de gestão de antimicrobianos são essenciais na luta contra essa ameaça.

Palavras-chave: Teste de susceptibilidade antimicrobiana, antibiótico, cultivo microbiológico, enterobactérias, infecção do sítio cirúrgico, *Staphylococcus*.

ANTIMICROBIAL RESISTANCE PROFILE OF GRAM-POSITIVE COCCI AND GRAM-NEGATIVE BACILLI ISOLATED FROM ENVIRONMENT AND SURGICAL WOUND OF DOGS

ABSTRACT - Infections caused by multidrug-resistant (MDR) organisms are associated with increased morbidity, mortality and health care spending. Gram-positive cocci and Gram-negative bacilli are bacterial species frequently related with surgical site infections in dogs. In the context of one health, become necessary the continuous improvement of evaluation methods of bacterial infection and contamination in the veterinary hospital environment. The present project aims to evaluate the antimicrobial profile of Gram-positive cocci and Gram-negative bacilli isolated of the surgical site and room during the intraoperative period and of the surgeon's hands, before and after antiseptics. All samples were obtained during intraoperative of clean/clean-contaminated (G1) and contaminated surgery (G2). A total of 153 samples were collected, of which the environmental samples were obtained by exposure of Brain Heart Infusion agar plate in the surgical room during the procedure and samples from the surgical site and surgeon's hands were collected by swabs and seeded on blood and Macconkey agar. The plates were incubated at 37°C for 24h. Suggestive bacterial colonies for Gram-positive cocci and Gram-negative bacilli were submitted to biochemical test for genus differentiation. Finally, antimicrobial susceptibility testing was performed by disk diffusion method. Forty-three isolates with morphological and biochemical characteristics of *Staphylococcus* spp. and 13 of Gram-negative bacilli were obtained. Were isolated coagulase-negative staphylococci (CoNS) (18/21), coagulase-positive staphylococci (CoPS) (2/21) and *Pseudomonas* spp. (1/21) in G1, and CoNS (14/35), CoPS (7/35), *Proteus* spp. (6/35), *E. coli* (3/35), *Pseudomonas* spp. (1/35) and *Salmonella* spp. (1/35) in G2. Multiple drug resistance rate was 88% in CoNS, 100% in CoPS and 77% in Gram-negative bacilli. The high rate of resistance of commensal bacteria found on the skin of dogs in our study is worrying. SCoN are community pathogens related to nosocomial infections in human and veterinary hospitals, their presence in healthy patients and in veterinary professionals represent an important source of infection in the one health context. Continuous surveillance and application of antimicrobial stewardship programs are essential in the fight against this threat.

KEYWORDS: Antimicrobial Susceptibility Test, antibiotic, culture, Surgical Wound Infection, enterobacteria, *Staphylococcus*.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2

- Figura 1.** Distribuição percentual de cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos isolados do ambiente e sítio cirúrgico de cães durante o transoperatório e mãos do cirurgião, antes e depois da desinquinção. Cirurgias limpas e limpas-contaminadas..... 21
- Figura 2.** Distribuição percentual de resistência aos antimicrobianos de cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos isolados do ambiente e sítio cirúrgico de cães durante o transoperatório e das mãos do cirurgião, antes e após a desinquinção..... 23

LISTA DE QUADROS

Capítulo 2

| | |
|---|----|
| Quadro 1. Variáveis obtidas no transoperatório e análise de correlação ponto-bisserial entre a presença de cocos Gram-positivos e/ou bastonetes Gram-negativos no sítio cirúrgico..... | 19 |
| Quadro 2. Número e porcentagem de isolados obtidos nos locais de coleta..... | 20 |
| Quadro 3. Número e porcentagem de isolados de <i>Staphylococcus</i> spp. obtidos em cada grupo..... | 22 |
| Quadro 4. Distribuição percentual de resistência à oxacilina, teicoplanina e múltiplas drogas de isolados obtidos em cada grupo..... | 22 |
| Quadro 5. Distribuição percentual de resistência à oxacilina, teicoplanina e múltiplas drogas de isolados obtidos em cada local de coleta..... | 22 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---------|---|
| ASA: | <i>American Society of Anesthesiologists</i> |
| ANVISA: | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| BHI: | <i>Brain Heart Infusion</i> |
| C1: | Mãos do cirurgião antes da desinquinção |
| C2: | Mãos do cirurgião após a desinquinção |
| ESBL: | <i>Extended Spectrum Beta-Lactamase</i> (Beta-lactamase de espectro estendido) |
| FAO: | <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i> (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação) |
| G1: | Grupo de cirurgias limpas e limpas-contaminadas |
| G2: | Grupo de cirurgias contaminadas |
| GAPAMR: | <i>Global Action Plan on Antimicrobial Resistance</i> |
| GLASS: | <i>Global Antimicrobial Resistance Surveillance System</i> |
| ISC: | Infecção do sítio cirúrgico |
| MI: | Momento inicial |
| MF: | Momento final |
| MAPA: | Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento |
| MDR: | <i>Multi-drug resistance</i> (Resistência a múltiplas drogas) |
| MRSA: | <i>Methicillin-resistance Staphylococcus aureus</i> (<i>Staphylococcus aureus</i> resistentes a meticilina) |
| OIE: | <i>World Organization for Animal Health</i> (Organização Mundial de Saúde Animal) |
| RAM: | Resistência Antimicrobiana |
| SCoN: | <i>Staphylococcus coagulase negativa</i> |
| SCoP: | <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> |
| UTI: | Unidade de Tratamento Intensivo |
| WHO: | World Health Organization |

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1 Introdução

Na atualidade, o fenômeno de multirresistência bacteriana representa grande desafio para as organizações de saúde, e o uso indiscriminado de antimicrobianos é pouco regulado pelos fiscalizadores, principalmente no ambiente da Medicina Veterinária.

A resistência bacteriana é um evento natural, porém o uso indevido e excessivo de antimicrobianos contribuiu para sua rápida evolução devido à grande capacidade de adaptação desses microrganismos em curto período de tempo. Apesar dos grandes avanços na saúde humana e animal após a descoberta dos antimicrobianos, paradoxalmente, o amplo uso desses fármacos representa uma grande ameaça para a saúde pública mundial.

A pressão de seleção imposta pelo mau uso de antimicrobianos está entre as principais forças responsáveis pela emergente resistência bacteriana a esses fármacos, e os ambientes hospitalares veterinários são reportados como o principal fator de risco na aquisição de patógenos resistentes por cães hospitalizados.

Infecções causadas por bactérias multirresistentes estão associadas às graves consequências na eficácia da terapia antimicrobiana, acarretando em maior morbidade, mortalidade e aumento significativo nos custos com cuidados de saúde. Neste contexto, é imperativo o aprimoramento contínuo de métodos de avaliação de contaminação e infecção bacteriana no ambiente hospitalar veterinário, além da promoção de medidas para o uso racional de antimicrobianos. Para isso, a avaliação constante da prática atual com base nas tendências de resistência à múltiplas drogas e dos padrões de consumo de antimicrobianos no ambiente hospitalar torna-se primordial.

Dessa forma, o presente trabalho objetivou avaliar o perfil de resistência aos principais antimicrobianos de importância clínica na medicina humana e veterinária por cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos isolados do ambiente e sítio

cirúrgico de cães durante o transoperatório, e das mãos do cirurgião, antes e após a desinquinção.

2 Revisão de literatura

2.1 Histórico e contexto global da resistência antimicrobiana (RAM)

As bactérias são organismos unicelulares e possuem alta capacidade de multiplicação. Foram identificadas pela primeira vez por van Leeuwenhoek, próximo ao ano de 1670, porém apenas no século XIX foram associadas a causas de processos infecciosos, como tuberculose, cólera e febre tifoide. A partir dessa época, iniciaram-se importantes pesquisas visando a descoberta de agentes químicos que possuíssem atividade contra esses microrganismos, sendo o principal marco no tratamento das infecções bacterianas a descoberta da penicilina, em 1928, por Alexander Fleming (Guimaraes et al., 2010).

A penicilina foi o primeiro antibiótico prescrito para tratar infecções graves durante a II guerra mundial, mais especificamente no ano de 1943, porém relato de cepas de *Staphylococcus* penicilino-resistentes precede o uso clínico da penicilina, sendo registrado em 1940. Desde então, foram desenvolvidos novos fármacos da classe dos β -lactâmicos, entretanto, na década de 1960 identificaram-se, no Reino Unido e nos Estados Unidos, as primeiras cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (*Methicillin-resistance Staphylococcus aureus* - MRSA) associados a presença do gene *mecA*, que codifica resistência a todos fármacos da classe dos β -lactâmicos (Ventola, 2015; Rolo, 2017).

Nos últimos 70 anos, mais de 25 classes de antibióticos foram produzidas e introduzidas no mercado para uso clínico, incluindo os carbapenêmicos, as fluorquinolonas, as cefalosporinas de quarta e quinta geração e as polimixinas, no intuito de resolver o problema de resistência aos fármacos já existentes. Porém desde 1987 não são descobertas novas classes e, paradoxalmente, atualmente as infecções bacterianas voltam a representar grande ameaça para saúde pública mundial (Brusselsaers et al., 2011; Huttner et al., 2013; Ventola, 2015; WHO, 2017a).

Em 2017, foi publicada uma lista de agentes patogênicos para os quais são necessários pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos, sendo os de prioridade crítica *Acinetobacter baumannii* resistente aos carbapenêmicos, *Pseudomonas aeruginosa* resistente aos carbapenêmicos e bactérias da família Enterobacteriaceae produtoras de β -lactamase de espectro estendido (*Extended Spectrum Beta Lactamase* - ESBL) e de carbapenemases. Além desses, os patógenos de alta prioridade incluem MRSA e *Staphylococcus* spp. com sensibilidade intermediária ou resistência à vancomicina, *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina e membros da família *Salmonellae* resistentes às fluorquinolonas (WHO, 2017b).

Entre os antimicrobianos de importância crítica para a medicina humana, pois são os únicos ou uma das únicas alternativas disponíveis em terapias limitadas para tratar infecções bacterianas graves em humanos, estão os aminoglicosídeos, ansamicinas, carbapenêmicos, monobactams, oxazolidinonas, penicilinas antipseudomonas, aminopenicilinas, inibidores de β -lactamase, ácido fosfônico e derivados, drogas usadas para tratar doenças causadas por micobactérias, quinolonas, cefalosporinas de terceira/quarta/quinta geração, macrolídeos/cetolídeos, glicopeptídeos e polimixinas (WHO, 2019).

Em 2015, foi publicado pela WHO o “Global Action Plan on Antimicrobial Resistance (GAPAMR)”, que tem como objetivo melhorar a consciência e compreensão da RAM por meio de: (1) comunicação, educação e formação eficaz, (2) fortalecimento do conhecimento e da base de evidências por meio de vigilância e pesquisa, (3) redução da incidência de infecção através de medidas eficazes de saneamento, higiene e prevenção, (4) otimização do uso de medicamentos antimicrobianos na saúde humana e animal e (5) desenvolvimento do argumento econômico para o investimento sustentável que considere as necessidades de todos os países e aumente o investimento em novos medicamentos, ferramentas de diagnóstico, vacinas e outras intervenções (WHO, 2015).

Com o intuito de atingir o objetivo de vigilância da RAM e, considerando que muitos países ainda não possuem dados locais relativos à epidemiologia das infecções multirresistentes, foi lançado o *Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) Report*. Esse manual padroniza as estratégias de coleta, análise e compartilhamento de dados de resistência bacteriana por países e documenta a

situação dos sistemas nacionais de vigilância existentes. Atualmente, 71 países estão incluídos nesse sistema, sendo que a Europa e Ásia Central possuem centros de vigilância bem estabelecidos, enquanto a América Latina iniciou o programa de vigilância nas duas últimas décadas (WHO, 2018).

2.1.1 Contexto atual da RAM no Brasil

A preocupação com o controle do uso de antimicrobianos no Brasil é recente e tem como marco a publicação da Resolução-RDC Nº44, de 26/10/2010, que estabeleceu a necessidade de prescrição médica para os medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos (ANVISA, 2010).

Em 2017, baseado no GAPAMR, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária publicou o “Plano Nacional para a Prevenção e Controle da Resistência Microbiana nos Serviços de Saúde”, o qual tem como objetivo geral: “definir estratégias nacionais para detecção, prevenção e redução da RAM em serviços de saúde” (ANVISA, 2017). O Brasil encontra-se entre os países de renda-média alta que aderiram recentemente ao GLASS, porém ainda não há dados sobre resistência bacteriana reportados ao sistema (WHO, 2018).

2.1.2 Desafios da RAM na Medicina Veterinária no Brasil e no mundo

Considerando o contexto de saúde única, a Organização Mundial de Saúde Animal (*World Organization for Animal Health - OIE*), a WHO e Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (*Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO*) unem esforços para superar os desafios da resistência antimicrobiana (OIE, 2016a). Dessa forma, recomenda-se que na medicina veterinária sejam adotadas as diretrizes estabelecidas pela WHO para o combate da RAM, aplicando-se estratégias de acordo com a realidade do setor e do local (OIE, 2016a; WHO, 2018).

Na medicina veterinária, o uso de antimicrobianos como promotor de crescimento em animais de produção e a utilização clínica inadequada desses fármacos contribuiu significativamente para a seleção de cepas bacterianas resistentes (Van Boeckel et al., 2015; CDC, 2019). Ressalta-se a importância de estimular a saúde e bem-estar animal, além da adesão aos programas de gestão

antimicrobiana (“*Antimicrobial Stewardship*”) como estratégias para o combate à emergência de cepas multirresistentes na nesse setor (OIE, 2016a).

Atualmente, falta-se legislação mais específica que controle o uso de antimicrobianos na saúde animal. Países membros da União Européia, Japão, México e Coréia do Sul são exemplos de nações que exigem prescrição do médico veterinário para aquisição de antimicrobianos para uso animal (CDDEP, 2015). Na França, algumas classes de antimicrobianas de importância na medicina humana não são aprovados para uso na medicina veterinária, como as carboxipenicilinas, monobactams, carbapenêmicos e glicopeptídeos (Moulin et al., 2008).

No Brasil, a legislação ainda é flexível ao uso desses fármacos na terapia clínica em animais, não havendo retenção de receita para prescrição de antimicrobianos licenciados apenas para uso veterinário. Porém, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) adotou algumas medidas para fiscalização do uso de antimicrobianos, como a proibição de alguns desses fármacos como promotores de crescimentos, por exemplo a colistina (Instrução Normativa nº 45 de abril de 2016), além de, recentemente ter publicado o “Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos no âmbito da Agropecuária (PAN-BR AGRO) 2018 a 2022” (MAPA, 2016; MAPA, 2018).

Devido a abrangência global da RAM e a necessidade de estratégias que incluam atuações integradas no contexto de Saúde Única, a WHO, OIE e FAO unem esforços e lançam o programa *Antimicrobial Resistance Multi-Partner Trust Fund: Combatting the rising global threat of Antimicrobial Resistance through a One Health Approach* (2019) com intuito de incentivar a elaboração de estratégias para minimizar o crescimento exponencial de cepas de bactérias resistentes nos países em desenvolvimento e, conseqüentemente, no mundo.

2.2 Mecanismos de resistência bacteriana

A resistência aos antimicrobianos é uma das principais causas de falha no tratamento de doenças infecciosas, sendo que as bactérias podem expressar resistência inata ou adquirida. Os mecanismos inatos estão associados com meios naturais de resistência de um determinado gênero ou espécie de bactéria. Enquanto os mecanismos adquiridos surgem através de mutações ou aquisição de genes de

resistência de outras bactérias por uma bactéria previamente susceptível a um determinado antimicrobiano ou classe de antimicrobiano, principalmente, em resposta à pressão de seleção imposta em uma população bacteriana (Hoffman, 2001; Blair et al., 2014).

A aquisição de resistência pelas bactérias ocorre, em geral, por duas estratégias adaptativas, a mutação de um gene ou a aquisição de DNA por transmissão horizontal. Dentre os principais mecanismos de resistência adquiridos por mutação estão a modificação da molécula de antibiótico, alteração do sítio-alvo, diminuição na captação e permeabilidade do fármaco e ativação de mecanismos de bombas de efluxo (Hoffman, 2001; Blair et al., 2014; Munita e Arias, 2016).

2.2.1 Modificação da molécula de antimicrobiano

Nessa estratégia adaptativa está inclusa a inativação da droga pela produção de enzimas que adicionam porções específicas às moléculas ou que destroem diretamente a molécula de antimicrobiano, como a produção de β -lactamases por cepas de *Staphylococcus* penicilino-resistentes e em enterobactérias ESBL. A principal ação dessas enzimas está na destruição da ligação amida do anel β -lactâmico, acarretando na hidrólise de penicilinas, cefalosporina e monobactams e, conseqüentemente, na ineficácia desses antimicrobianos, sendo que podem ser inativadas pelos inibidores de β -lactamase, como o ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam, e não apresentam, normalmente, ação em carbapenêmicos (Blair et al., 2015; Munita e Arias, 2016; Laudy et al., 2017).

2.2.2 Alteração do sítio-alvo

Ocorre, por exemplo, em MRSA quando o gene *mecA* codifica alteração na proteína ligadora de penicilina, impedindo a ligação dos fármacos β -lactâmicos e, conseqüentemente, evitando o bloqueio da síntese da parede celular. As proteínas de repetição de pentapeptídeos codificadas pela família de gene *qnr* se ligam e protegem a topoisomerase IV e a DNA girase da ação das fluorquinolonas em *E. coli*, *S. aureus* e *Streptococcus pneumoniae* (Blair et al., 2015).

2.2.3 Redução na permeabilidade da membrana e captação do fármaco

Esse mecanismo de resistência ocorre através da regulação negativa das porinas ou da substituição destas por canais mais seletivos. Bactérias Gram-negativas são intrinsicamente resistentes aos glicopeptídeos, como a vancomicina e teicoplanina, pois esses agentes são incapazes de atravessar a membrana externa dessas bactérias e, conseqüentemente, acessarem seu sítio de ação. A baixa permeabilidade da membrana externa de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* associado a produção da proteína de efluxo à múltiplas drogas (MexAB-OprM) e da enzima AmpC (β -lactamase) confere resistência natural desses microrganismos aos antimicrobianos, sendo reportado susceptibilidade a número restrito de fármacos, incluindo piperacilina, ticarcilina, ceftazidima, cefepima, aztreonam, polimixina B, fluorquinolonas, carbapenêmicos e aminoglicosídeos. Porém, apesar de mecanismo intrínseco, a redução na expressão de porinas contribui para a resistência adquirida desses microrganismos à novas drogas, como carbapenêmicos e cefalosporinas (Blair et al., 2015; Botelho et al., 2019).

2.2.4 Ativação de mecanismos de bomba de efluxo

O aumento da expressão de bombas de efluxo acarreta em resistência a múltiplas drogas em diversas espécies de bactérias (p. ex.: enterobactérias, *Pseudomonas* spp. e *Staphylococcus aureus*), sendo que normalmente decorrem de mutações na rede regulatória de expressão de bombas de efluxo e podem ser induzidas por sinais ambientais e condições específicas como a indução do gene *acrAB* em *E. coli* e *Salmonella* spp. pela presença de moléculas durante o processo infeccioso (Blair et al., 2015).

2.3 Causas da emergência de RAM

A epidemiologia da resistência bacteriana a múltiplos fármacos é complexa e multifatorial, e existem diferenças entre a pressão de seleção em hospitais veterinários e humanos (Normand et al., 2000; Brusselaers et al., 2011). As principais forças responsáveis pela emergente resistência a antimicrobianos são a exposição repetida de bactérias aos antimicrobianos e acesso das bactérias a um grande *pool* de genes de resistência, sendo que o aumento do uso de antimicrobianos na medicina

veterinária está associado, direta ou indiretamente, com o aumento de resistência bacteriana na população humana. (Hoffman, 2001; Guardabassi et al., 2004a; Suthar et al., 2014).

Indução, seleção, introdução, e disseminação são considerados os principais fatores associados à emergência e disseminação de cepas bacterianas multirresistentes. O uso indiscriminado de antimicrobianos tanto na produção animal (como fator de crescimento) quanto no tratamento clínico em animais de companhia, contribui para o aumento de reservatórios de genes de resistência aos antimicrobianos no ambiente. Essa utilização inadequada acarreta na indução de resistência em cepas antes susceptíveis a determinados antimicrobianos, além de selecionar bactérias resistentes pré-existentes em um determinado microambiente, pois a ação do antimicrobiano causa a morte de bactérias susceptíveis não-patogênicas, favorecendo o crescimento de cepas resistentes patogênicas (Bonten e Mascini, 2003; Brusselaers et al., 2011).

A introdução de cepas resistentes comunitárias ocorre através do crescimento de reservatórios de bactérias multirresistentes em determinada comunidade. Profissionais de saúde e pacientes colonizados por esses patógenos são as principais fontes de introdução de cepas resistentes no ambiente hospitalar, principalmente MRSA e *Enterococcus* resistentes à vancomicina (Brusselaers et al., 2011; Mcewen e Collignon, 2018).

O controle subótimo da infecção, a prescrição inadequada, o uso excessivo e desnecessário de antimicrobianos, a falta de educação e conscientização da população e profissionais de saúde e a falta de medicamentos eficazes para o tratamento de infecções causadas por organismos multirresistentes contribuem para a emergência e disseminação da RAM entre ambiente, animais e seres humanos (Brusselaers et al., 2011).

2.4 Infecção hospitalar e bactérias multirresistentes

O crescimento de reservatórios de bactérias multirresistentes na comunidade resulta no aumento desses microrganismos nas Unidades de Terapia Intensiva, onde se encontra a população mais vulnerável a infecções, sendo as principais espécies

em crescimento nesses ambientes as gram-positivas, MRSA e VRE, e as gram-negativas *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli* e *P. mirabilis* (Brusselsaers et al., 2011).

Os patógenos relacionados a infecção bacteriana mais frequentemente relatados em Unidades de Terapia Intensiva de hospitais humanos no Brasil são *Staphylococcus coagulase negativa* (SCoN), *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *Acinetobacter* spp., *Enterococcus* spp., *E. coli* e *Serratia* spp. E os perfis fenotípicos de resistência mais reportados foram de SCoN resistente à oxacilina, *Acinetobacter* spp. resistente à carbapenêmicos, *S. aureus* resistente à oxacilina, *P. aeruginosa* resistente à carbapenêmicos, *K. pneumoniae* resistente às cefalosporinas de terceira/quarta geração, *K. pneumoniae* resistente à carbapenêmicos, *Enterobacter* spp. resistente às cefalosporinas de terceira e quarta geração e *E. coli* resistente às cefalosporinas de terceira/quarta geração (ANVISA, 2017).

Na medicina veterinária, espécies de *Staphylococcus* resistentes à meticilina e enterobactérias ESBL são os microrganismos oportunistas mais frequentemente associadas em infecções hospitalares (Walther et al., 2016).

2.3.1 Infecção do sítio cirúrgico (ISC)

Os ambientes hospitalares veterinários são reportados como o principal fator de risco na aquisição de patógenos resistentes por cães hospitalizados. Dentre os principais usos de antimicrobianos na medicina veterinária, a administração desses fármacos na profilaxia cirúrgica é importante (Suthar et al., 2014).

O risco de infecção nesses pacientes é baseado na susceptibilidade da ferida cirúrgica à contaminação microbiana, sendo que prevenir a infecção no momento do procedimento é essencial. A ISC pode ser superficial, sendo relacionada a pele e tecidos subcutâneos, profunda, associada às fâscias e musculaturas ou pode acometer o órgão ou cavidade abordado no procedimento (Howe e Boothe, 2006; Singh e Weese, 2017).

As feridas cirúrgicas são classificadas em quatro categorias de acordo com seu nível de contaminação e potencial para desenvolver infecção. As feridas limpas são aquelas onde não há falha na técnica asséptica, não há aplicação de drenos e perfuração de órgãos ocos ou do trato respiratório. Nas feridas limpas-contaminadas

há incisão de órgãos ocultos sob condições controladas, sem falha na técnica asséptica, ou aquelas nas quais são aplicados drenos. As feridas contaminadas possuem grande potencial para se tornarem infectadas, envolvem um tecido inflamado e estão associadas a traumas ou falhas nas técnicas de assepsia, além dos procedimentos onde há, previamente, extravasamento de conteúdo gastrointestinal ou urina infectada há menos de 4 horas. Feridas sujas ou infectadas são aquelas no qual há contaminação fecal ou perfuração de vísceras há mais de 4 horas do momento da cirurgia (Nicholson et al., 2002; Boothe e Boothe, 2015; Singh e Weese, 2017).

Alguns fatores de riscos estão associados com o aumento da infecção do sítio cirúrgico (ISC), como o tempo de anestesia e cirurgia, idade, estado de imunidade, doenças concomitantes (ex. diabetes mellitus, hiperadrenocorticism, hipoalbuminemia), estado nutricional e uso inapropriado de antibióticos. As principais medidas para prevenção da ISC são: medidas de assepsia, incluindo antisepsia do sítio cirúrgico e equipe cirúrgica, desinfecção ambiental e profilaxia antimicrobiana perioperatória (Nicholson et al., 2002; Boothe e Boothe, 2015).

Os patógenos mais comuns associados à ISC em pequenos animais são *Staphylococcus* spp, *Escherichia coli*, e *Pasteurella* spp (particularmente em gatos), sendo que a presença de patógenos bacterianos das espécies *Enterococcus* spp, *E. coli* e *K. pneumoniae* indicam contaminação fecal e inadequada limpeza e desinfecção do ambiente. Esses patógenos são também comuns a infecções de pacientes críticos em hospitais humanos (Brusselaers et al., 2011; Suthar et al., 2014; Boothe e Boothe, 2015).

Normand e colaboradores (2000) relataram que 22% das bactérias isoladas em avaliação realizada na "Glasgow University Veterinary School", Reino Unido, apresentaram resistência a múltiplos fármacos, variando entre 10% no caso de *Streptococcus* e 42% no de *Pseudomonas*.

O alto índice de patógenos multirresistentes na ISC de cães e gatos pode estar associado ao uso inadequado de antimicrobianos na profilaxia peri-operatória. A presença de bactérias multirresistentes não apenas pode acarretar em falha da terapia como também o paciente pode representar fonte de infecção e disseminação desses patógenos tanto na comunidade hospitalar como no contato com seus tutores.

3. Referências

ANVISA (2010). **RDC 44/2010**. Brasília: Agência Nacional De Vigilância Sanitária, 4 p.

ANVISA (2017). **Boletim Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde nº17: Avaliação dos indicadores nacionais das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) e Resistência Microbiana do ano de 2017**. Brasília: Agência Nacional De Vigilância Sanitária, 6p. Disponível em: <https://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/publicacoes/item/boletim-seguranca-do-paciente-e-qualidade-em-servicos-de-saude>. Acesso em: 11 set. 2019.

Antimicrobial Resistance Multi-Partner Trust Fund: Combatting the rising global threat of AMR through a One Health Approach (2019) **Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organisation, World Organisation For Animal Health**, 4p. Disponível em: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Media_Center/docs/pdf/PortailAMR/AMR_MP_TF_Tripartite_Leaflet_2019.pdf. Acesso em: 01 out. 2019.

Blair JMA, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJV (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nature Reviews: Microbiology** 13:42-51.

Bonten MJM, Mascini EM (2003). The hidden faces of the epidemiology of antibiotic resistance. **Intensive Care Medicine** 29:1-2.

Botelho J, Grosso F, Peixe L (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* – Mechanisms, epidemiology and evolution. **Drug Resistance Updates** 44:1-22.

Brusselsaers N, Vogelaers D, Blot S (2011). The rising problem of antimicrobial resistance in the intensive care unit. **Annals of Intensive Care** 1(47):1-7.

CDDEP (2015). **State of the World's Antibiotics**. Washington: Center for Disease Dynamics, Economics & Policy, 84p.

CDC (2019). **Procedure-associated Module: Surgical Site Infection**. Georgia: Center for Disease Control and Prevention, 31 p.

Guardabassi L, Schwarz S, Lloyd DH (2004a). Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy** 54(2):321-332.

Guardabassi L, Loeber ME, Jacobson A (2004b). Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. **Veterinary microbiology** 98(1):23-27.

Hoffman SB (2001). Mechanisms of Antibiotic Resistance. **Compendium** 23(5):464-473.

Howe LM, Boothe HW (2006). Antimicrobial Use in the surgical patient. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice** 36(5):1049-1060.

Huttner A, Harbarth S, Carlet J, Cosgrove S, Goossens H, Holmes A, Jarlier V, Voss A, Pittet D (2013). Antimicrobial resistance: a global view from the 2013 world healthcare-associated infections fórum. **Antimicrobial Resistance and Infection Control** 2(31):1-13.

Laudy AE, Róg P, Smolinska-Krol K, Sloczynska A, Patzer J, Dzierzanowska D, Wolinowska R, Starosciak B, Tyski S (2017). Prevalence of ESBL-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Warsaw, Poland, detected by various phenotypic and genotypic methods. **PLoS One** 12(6):1-15.

Mcewen SA, Collignon PJ (2018). Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. **Microbiology Spectrum** 6(2):1-26.

MAPA (2016). **Instrução Normativa nº 45 de 22 de novembro de 2016**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 6p.

MAPA (2018). **Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos no âmbito da Agropecuária (PAN-BR AGRO) 2018 a 2022**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 30 p.

Moulin G, Cavalié P, Pellane I, Chevance A, Laval A, Millemann Y, Colin P, Chauvin C (2008). A comparison of antimicrobial usage in human and veterinary medicine in France from 1999 to 2005. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy** 62:617-625.

Munita JM, Arias CA (2016). Mechanisms of antibiotic resistance. **Microbiology Spectrum** 4(2):1-37.

Nicholson M, Beal M, Shofer F, Brown DC (2002). Epidemiologic evaluation of postoperative wound infection in clean-contaminated wounds: a retrospective study of 239 dogs and cats. **Veterinary Surgery** 31(6):577-581.

Normand EH, Gibson NR, Taylor DJ, Carmichael S, Reid SWJ (2000). Trends of antimicrobial resistance in bacterial isolates from a small animal referral hospital. **Veterinary Record** 146(6):151-155.

OIE (2016a). **The OIE Strategy on Antimicrobial Resistance and the Prudent Use of Antimicrobials**. Paris: World Organisation for Animal Health, 12p.

OIE (2016b). **OIE List of Antimicrobial Agents of Veterinary Importance**. Geneva: World Organisation for Animal Health, 9p.

Rolo J. et al (2015). Evidence for the evolutionary steps leading to *mecA*-mediated β -lactam resistance in staphylococci. **PLoS Genetics** 13(4):1-22.

Singh A, Weese JS (2017). Wound infections and antimicrobial use. In: Johnston SA, Tobias KM (EdS). **Veterinary Surgery Small Animal**. 2nd ed. New York: Elsevier, p. 530-548.

Suthar N, Roy S, Call DR, Besser TE, Davis MA (2014). An individual-based model of transmission of resistant bacteria in a veterinary teaching hospital. **Public Library of Science One**. 9(6):1-11.

Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP, Teillant A, Laxminarayan R. Global trends in antimicrobial use in food animals (2015). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 112(18):5649-5656.

Ventola CL (2015). The antibiotic resistance crisis part 1: causes and threats. **P & T** 40(4):277-283.

Walther B, Tedin K, Lübke-Becker A (2016). Multidrug-resistant opportunistic pathogens challenging veterinary infection control. **Veterinary Microbiology** 200:71-78

WHO (2015). **Global Action Plan on Antimicrobial Resistance**. Geneva: World Health Organization, 28 p.

WHO (2017a). **Antibacterial Agents In Clinical Development: An analysis of the antibacterial clinical development pipeline, including *Mycobacterium tuberculosis***. Geneva: World Health Organization, 48 p.

WHO (2017b). **Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics**. Geneva: World Health Organization, 7p.

WHO (2018). **Global antimicrobial resistance surveillance system (GLASS) report: early implementation 2017-2018**. Geneva: World Health Organization 164p.

WHO (2019). **Critically important antimicrobials for human medicine**. Geneva: World Health Organization. 52p.

CAPÍTULO 2 - Perfil de resistência aos antimicrobianos por cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos isolados do ambiente e sítio cirúrgico de cães¹

Antimicrobial resistance profile of Gram-positive cocci and Gram-negative bacilli isolated from environment and surgical wound of dogs

Mareliza P. Menezes, Mariana M. Borzi, Marita V. Cardozo, Rodrigo C. Rabelo and Paola C. Moraes

ABSTRACT – Menezes M.P., Cardoso M.V. & Moraes P.C. **Antimicrobial resistance profile of gram-positive cocci and gram-negative bacilli isolated from environment and surgical wound of dogs.** Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária e Departamento de Patologia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus de Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n, Jaboticabal, SP 14884-900, Brazil.

The present project aimed to evaluate the antimicrobial profile of Gram-positive cocci and Gram-negative bacilli isolated of the surgical site and room during the intraoperative period and of the surgeon’s hands, before and after antiseptis. All samples were obtained during intraoperative of clean/clean-contaminated (G1) and contaminated surgery (G2). A total of 150 samples were collected, of which the environmental samples were obtained by exposure of Brain Heart Infusion agar plate in the surgical room during the procedure and samples from the surgical site and surgeon’s hands were collected by swabs and seeded on blood and Macconkey agar. The plates were incubated at 37°C for 24h. Suggestive bacterial colonies for Gram-positive cocci and Gram-negative bacilli were submitted to biochemical test for genus differentiation. Finally, antimicrobial susceptibility testing was performed by disk diffusion method. Forty-three isolates with morphological and biochemical characteristics of *Staphylococcus* spp. and 13 of Gram-negative bacilli were obtained. Were isolated coagulase-negative staphylococci (CoNS) (18/21), coagulase-positive staphylococci (CoPS) (2/21) and *Pseudomonas* spp. (1/21) in G1, and CoNS (14/35), CoPS (7/35), *Proteus* spp. (6/35), *E. coli* (3/35), *Pseudomonas* spp. (1/35) and *Salmonella* spp. (1/35) in G2. The multiple drug resistance rate was 88% in CoNS, 100% in CoPS and 77% in Gram-negative bacilli. The high rate of resistance of commensal bacteria found on the skin of dogs in our study is worrying. SCoN are community pathogens related to nosocomial infections in human and veterinary hospitals, their presence in healthy patients and in veterinary professionals represent an important source of infection in the one health context. Continuous surveillance and application of antimicrobial stewardship programs are essential in the fight against this threat.

INDEX TERMS: antibiogram, antibiotic, antimicrobial resistance, culture, dog, Gram-negative bacilli, Gram-positive cocci, surgical environment, surgical infection, surgical wound, enterobacterium, *Staphylococcus*.

¹Este capítulo corresponde ao artigo científico submetido à revista Pesquisa Veterinária Brasileira e encontra-se em avaliação para publicação.

Perfil de resistência aos antimicrobianos por cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos isolados do ambiente e sítio cirúrgico de cães.

RESUMO - O presente estudo objetivou avaliar o perfil de resistência de cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos isolados do ambiente e sítio cirúrgico e nas mãos do cirurgião, antes e após a desinquinção, durante o transoperatório de cirurgias limpas/limpas-contaminadas (G1) e cirurgias contaminadas (G2). De 150 amostras coletadas, as do ambiente foram obtidas pela exposição de placa com ágar *Brain Heart Infusion* na sala cirúrgica durante o procedimento, enquanto as do sítio cirúrgico e as das mãos do cirurgião foram coletadas por cotonete estéril e semeadas em ágar sangue e MacConkey. Todas as placas foram incubadas a 37°C por 24h. Colônias sugestivas de cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos foram submetidas a testes bioquímicos para identificação dos gêneros, e submetidos ao teste de susceptibilidade aos antimicrobianos por disco difusão. Foram obtidos 43 isolados com características morfológicas e bioquímicas de *Staphylococcus* spp. e 13 de bastonetes Gram-negativos. No G1 foram isoladas cepas de *Staphylococcus* spp. coagulase negativa (SCoN) (18/21), *Staphylococcus* spp. coagulase positiva (SCoP) (2/21) e *Pseudomonas* spp. (1/21), e no G2 foram isolados SCoN (14/35), SCoP (7/35), *Proteus* spp. (6/35), *E. coli* (3/35), *Pseudomonas* spp. (1/35) e *Salmonella* spp. (1/35). O índice de resistência à múltiplos antimicrobianos foi de 88% em SCoN, 100% em SCoP e 77% em bastonetes Gram-negativos. O alto índice de resistência de bactérias comensais encontradas na pele de cães no nosso estudo é alarmante. SCoN são patógenos comunitários relacionadas a infecções hospitalares em hospitais humanos e veterinários, sua presença em pacientes hígidos e em profissionais veterinários representam importante fonte de infecção no contexto de saúde única. Vigilância contínua e aplicação de programas de gestão de antimicrobianos são essenciais na luta contra essa ameaça.

Termos de indexação: ambiente cirúrgico, antibiograma, antibiótico, bastonetes Gram-negativos, cão, cocos Gram-positivos, cultura, enterobactérias, sítio cirúrgico, infecção cirúrgica, resistência antimicrobiana, *Staphylococcus*.

INTRODUÇÃO

As infecções causadas por bactérias resistentes à múltiplos antimicrobianos (*multi-drug resistance* - MDR) representam importante desafio no contexto de saúde única, pois aumentam a morbidade, mortalidade e os custos relacionados aos cuidados de saúde (Suthar et al. 2014, Schwarz et al. 2016, McEwen & Collignon, 2018). O potencial zoonótico da maioria de espécies de bactérias multirresistentes associadas a infecções graves colocam a medicina veterinária como importante eixo no combate à disseminação desses patógenos (Guardabassi et al. 2004a, Guardabassi et al. 2004b, Brusselaers et al. 2011, Suthar et al. 2014, Madec et al. 2017, McEwen & Collignon 2018, Grönthal et al. 2018, Shoen et al. 2019).

A maioria dos antimicrobianos é utilizada na rotina clínica e cirúrgica similarmente tanto em animais de companhia quanto na medicina humana, sendo empregados normalmente no tratamento de infecções e, em alguns casos, aplicados na profilaxia cirúrgica (McEwen & Collignon, 2018). *Staphylococcus* spp. resistente à meticilina (*Methicillin resistance Staphylococcus* - MRSA) e espécies da família Enterobacteriaceae produtoras de β -lactamase de amplo espectro (*Extended Spectrum Beta Lactamase* - ESBL) são patógenos comensais e comumente causadores de infecção do sítio cirúrgico em *pets* e humanos. Esse grupo de bactérias associados à *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*, representam os principais microrganismos adquiridos durante a hospitalização, além de serem os de maior prevalência em unidades de terapia intensiva humana e veterinária (Gandolfi-Decristophoris et al., 2012; Turk et al., 2014; Andrade et al., 2016; Walther et al., 2016; Chaudhary et al., 2017; Kaspar et al., 2018; McEwen & Collignon, 2018; Shoen et al., 2019).

Entre os fatores relacionados ao desenvolvimento de infecção pós-cirúrgica em cães estão a colonização da pele, mucosas e trato gastrointestinal do paciente por bactérias multirresistentes e a presença desses patógenos também na sala operatória (Chauveaux, 2015; Andrade et al., 2016; Burgess, 2019). Além do risco de infecção da ferida cirúrgica, a introdução dessas cepas no ambiente hospitalar representa séria ameaça aos profissionais de saúde, os quais são diariamente expostos ao contato com esses pacientes e tornam-se portadores e disseminadores desses microrganismos tanto no âmbito hospitalar quanto na população (Paul et al., 2011; Rodrigues et al. 2017; Kaspar et al., 2018).

Nesse contexto, o presente estudo avaliou o perfil de resistência de cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos isolados do ambiente e sítio cirúrgico superficial de cães durante o transoperatório e das mãos do cirurgião, antes e após a antisepsia, objetivando a identificação de colonização por bactérias multirresistentes, além de sugerir possível transmissão entre ambiente, paciente e profissional em hospital veterinário.

MATERIAL E MÉTODOS

Seleção dos casos. O estudo foi realizado com trinta cães submetidos a procedimento cirúrgico limpo ou limpo-contaminado (G1; n=20) e contaminado (G2; n=10), de acordo com a classificação de ferida cirúrgica estabelecida “Global guidelines for the prevention of surgical site infection” (WHO 2016), em hospital veterinário do estado de São Paulo, Brasil, durante o ano de 2019. Consentimento por escrito para inclusão na pesquisa foi assinado pelos responsáveis de cada paciente e pelos cirurgiões inclusos no estudo.

Cães que foram submetidos a terapia antimicrobiana há menos de 72 horas da data do procedimento cirúrgico não foram incluídos no grupo amostral.

A Comissão de Ética no Uso de Animais (protocolo nº: 019707/2017) e o Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE: 07111419.4.0000.9029) aprovaram a metodologia para os cães e equipe cirúrgica, respectivamente.

Preparação do paciente e equipe cirúrgica. O protocolo de indução e manutenção anestésica foi realizado de acordo com a classificação ASA (*American Society of Anesthesiologists*) para cada paciente, estabelecido pelo setor de Anestesiologia de Pequenos Animais (Mayhew 2019). Cefazolina sódica (25mg/kg, via intravenosa [IV]) foi administrado entre 30 e 60 minutos antes da incisão cirúrgica e repetido a cada 90 minutos durante a cirurgia. A prescrição de antimicrobianos no pós-operatório variou de acordo com o cirurgião responsável. A desinquinação das mãos foi realizada com solução de clorexidina 2% ou iodo povidine 2% durante 3 a 5 minutos.

Foi realizada tricotomia ampla com lâmina de tricotomizador número 40 na sala de preparo cirúrgico ou após indução na mesa de cirurgia, a conduta variou de acordo com cada cirurgião. A antisepsia prévia do sítio cirúrgico foi realizada com solução de clorexidina 2% e álcool isopropílico 70%, e a antisepsia definitiva foi realizada como protocolo anterior ou com solução de clorexidina alcóolico 0,5%.

Variáveis transoperatórias. O tempo do procedimento cirúrgico e o número de pessoas presentes na sala operatória foram registrados. Os valores de glicemia foram obtidos por meio da média de quatro repetições durante o procedimento (momento de indução, momento da primeira incisão cirúrgica, momento do último ponto de sutura e momento da extubação endotraqueal).

Coleta das amostras. As amostras foram coletadas no centro cirúrgico do referido hospital veterinário por meio de cotonete estéril e transportadas em tubo estéril contendo solução peptonada 0,1% até o Laboratório de Microbiologia da mesma instituição. Foram colhidas 60 amostras da superfície das mãos do cirurgião responsável pelo procedimento imediatamente antes (C1/n=30) e após (C2/n=30) a desinquinação das mãos. Os cotonetes foram friccionados com movimentos giratórios da região dos punhos até as pontas dos dedos (dorso e palma da mão), repetindo-se três vezes o procedimento na direção de cada dedo. Imediatamente após a incisão de pele (MI) e prévio a síntese cutânea (MF), o cotonete estéril foi friccionado no sítio cirúrgico superficial (pele e tecido subcutâneo) do paciente. Apenas uma pessoa foi responsável por realizar a colheita das amostras, sendo que sempre foi utilizado luva estéril. Uma placa de Petri com ágar *Brain Heart Infusion* (BHI; Oxoid®, United Kingdom) foi colocada em bancada próxima e na mesma altura da mesa operatória no momento em que se iniciou o procedimento e foi retirada após o término da cirurgia.

No final do procedimento a ferida cirúrgica foi limpa e protegida com gaze e fita microporosa, o tutor do animal foi orientado a colocar colar elizabetano ou roupa cirúrgica no paciente até retirada dos pontos. A aplicação de biocidas e antimicrobianos tópicos na ferida pós-operatória variou de acordo com cada veterinário. A ferida cirúrgica foi monitorada até trinta dias de pós-operatório, sendo observado hiperemia, edema, sensibilidade dolorosa, drenagem de secreção serosa e/ou purulenta, deiscência de sutura, abscesso e fistulações. Quando observado três ou mais dos sinais clínicos citados

anteriormente ou quando observada a presença de secreção purulenta, a ferida foi classificada como infectada. Quando identificada infecção pós-operatória do sítio cirúrgico incisional superficial foi realizado nova colheita de material. Após limpeza da ferida com solução salina 0,9% estéril o cotonete foi friccionado na pele e tecido subcutâneo. Os pacientes que não retornaram para avaliação no Hospital Veterinário foram contactados por telefone e questionados sobre os sinais clínicos descritos.

Identificação bacteriana. Cada amostra foi semeada em meio de cultura com ágar MacConkey (Oxoid®, United Kingdom) e ágar sangue (Oxoid®, United Kingdom) e, juntamente com a placa do ambiente, foram colocadas em incubadoras microbiológicas a 37°C por 24 horas em condições aeróbias. Das culturas bacterianas positivas foram coletadas aleatoriamente duas ou três colônias morfológicamente distintas. Cada colônia foi classificada quanto à morfologia celular, coloração de Gram, presença ou ausência de esporos, e provas bioquímicas específicas para confirmação de cada gênero (Barrow & Feltham 1993).

Para os cocos Gram-positivos, os testes realizados para diferenciar os microrganismos dos gêneros *Staphylococcus* spp. dos *Streptococcus* spp. foram a catalase. As amostras positivas para *Staphylococcus* spp. foram submetidas ao teste de coagulase (Koneman et al. 2001).

As amostras Gram-negativas foram semeadas em tubo com meio *Triplíce Sugar Iron* (TSI; Oxoid®, United Kingdom), procedendo-se incubação por 18-24 horas a 35°C em condições aeróbias. O teste de urease foi utilizado para diferenciar bactérias do gênero *Salmonella* e *Proteus* e a prova de citrato para as cepas de *E. coli* e *Klebsiella* (Koneman et al. 2001).

Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos. Os isolados avaliados foram repicados em tubo contendo 3 mL de caldo BHI e incubados a 37°C até a turbidez atingir o padrão 0,5 de MacFarland. Após a incubação, a cultura foi semeada com o auxílio de cotonete estéril em ágar Mueller-Hinton (Oxoid®, United Kingdom) e, após aproximadamente 3 minutos, foram aplicados os discos de antimicrobianos (DME®). Após 24 horas de incubação, foi realizada a mensuração do diâmetro de cada halo de inibição. Os antimicrobianos testados foram selecionados de acordo com a utilização na rotina do setor de cirurgia do referido hospital veterinário ou que apresentam importância na disseminação de genes de resistência, sendo eles: penicilina G (10 µg), ampicilina (10µg), ampicilina com sulbactam (20µg), amoxicilina (10µg), amoxicilina com ácido clavulânico (10µg), oxacilina (1µg), cefalexina (30µg), cafazolina (30µg), cefoxitina (30µg), ceftriaxona (30µg), cefotaxima (30µg), ceftazidima (30µg), imipenem (10µg), gentamicina (10µg), amicacina (30µg), fluorquinolonas: enrofloxacina (5µg), ciprofloxacina (5µg), norfloxacina (10µg), levofloxacina (5µg), tetraciclina (30µg), sulfametoxazol com trimetoprim (25µg), azitromicina (15µg), eritromicina (15µg), clindamicina (2µg), teicoplanina (30µg) e cloranfenicol (30µg). O disco de clindamicina foi colocado a uma distância de 15 mm da borda do disco de eritromicina para realização do teste de indução do fenótipo MLS_B (Teste D).

Os diâmetros foram medidos e classificados como sensível, resistente e intermediário de acordo com os valores estabelecidos no “Manual para interpretação das zonas de inibição e concentração mínima inibitória” (2018) e na “Tabela padrão interpretativo de zona/halo de inibição para veterinária” disponibilizados pela DME®.

Determinação fenotípica de genes de resistência bacteriana. A resistência específica dos gêneros de patógenos identificados para cada antimicrobiano testado foi analisada e as proporções de resistência (% R) foram determinadas. Para o cálculo da porcentagem de resistência foi considerado os resultados resistente e intermediário. A presença fenotípica do gene *mecA*, *Staphylococcus* resistente a meticilina, foi descrita quando esses microrganismos apresentavam resistência à oxacilina (Bemis et al., 2009; Wu et al., 2016; Naccache et al. 2019). A detecção fenotípica do gene *ermA* foi realizada pelo teste de indução do fenótipo MLS_B (Teste D), sendo considerado resistência induzível a clindamicina quando o isolado apresentava resistência à eritromicina e achatamento do halo de clindamicina adjacente ao disco de eritromicina (Munita & Arias 2016). A ocorrência de MDR foi definida quando o microrganismo apresentou resistência a pelo menos um agente de três ou mais classes de antimicrobianos (Magiorakos et al. 2012; Basak et al. 2016).

Análise estatística. Foi realizada estatística descritiva da proporção de patógenos encontrados e de resistência aos antimicrobianos testados. Para comparação dos índices de resistência bacteriana apresentados foi realizado teste qui-quadrado. O coeficiente de correlação entre as variáveis e o crescimento de cocos Gram-positivos ou bastonetes Gram-negativos (SIM/NÃO) foi obtido através do teste de correlação ponto-bisserial. Todos os testes foram realizados no software R®.

RESULTADOS

Variáveis do perioperatório

Dos trinta cães incluídos no estudo, os procedimentos cirúrgicos mais frequentemente realizados foram excisão de nódulo cutâneo (45%) e osteossíntese (20%) no G1 e excisão de nódulo cutâneo ulcerado no G2 (90%). Oito cirurgias foram incluídos no grupo amostral. Os valores das variáveis transoperatórias e o valor de p obtidos na análise de correlação ponto-bisserial entre as variáveis e a presença de cocos Gram-positivos e/ou bastonetes Gram-negativos nas amostras coletadas do sítio cirúrgico estão descritos no Quadro 1.

Quadro 1. Variáveis obtidas no transoperatório e análise de correlação ponto-bisserial entre a presença de cocos Gram-positivos e/ou bastonetes Gram-negativos no sítio cirúrgico.

| Variáveis | G1 | <i>p-value</i> | G2 | <i>p-value</i> |
|-----------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| ΔtC | 77,30 ± 48,05 | 0,2873 | 87,78 ± 48,05 | 0,7664 |
| Glicemia | 107,86 ± 22,46 | 0,3522 | 122,67 ± 40,25 | 0,4807 |
| NP | 8 (4-14) | 0,7230 | 6 (5-14) | 0,2369 |

C1 = cirurgias limpas e limpas-contaminadas, C2 = cirurgias contaminadas, ΔtC = Tempo de cirurgia, NP = Número de pessoas na sala operatória. Média e desvio padrão de ΔtC e glicemia, e mediana e intervalo de valores de NP. Correlação estatisticamente significativa quando *p-value* < 0,05.

Contaminação bacteriana

No G1 houve crescimento de cocos Gram-positivos em 11/20 procedimentos (55%) e de bastonetes Gram-negativos em 1/20 procedimentos (5%) em pelo menos um momento de coleta, enquanto no G2 7/10 procedimentos apresentaram crescimento de

cocos Gram-positivos (70%) e 5/10 procedimentos apresentaram crescimento de bastonetes Gram-negativos (50%) em pelo menos um dos momentos de coleta. O número e a proporção de isolados obtidos em cada local de coleta está descrito no Quadro 2.

Quadro 2. Número e porcentagem de isolados obtidos nos locais de coleta.

| | G1 (n=21) | | G2 (n=35) | | <i>p-value</i> |
|----------|-----------|-------|-----------|-------|----------------|
| | N | % | N | % | |
| Ambiente | 10 | 47,62 | 7 | 20 | 0,0606 |
| C1 | 7 | 33,33 | 5 | 14,29 | 0,1785 |
| C2 | 0 | 0 | 2 | 5,71 | 0,71 |
| MI | 0 | 0 | 12 | 34,29 | 0,007 |
| MF | 4 | 19,05 | 9 | 25,71 | 0,8063 |
| TOTAL | 21 | 38,89 | 35 | 64,81 | 0,0122 |

G1 = Cirurgias limpas e limpas-contaminadas, G2 = Cirurgias contaminadas, C1 = Cirurgião antes da desinquiração das mãos; C2 = Cirurgião após a desinquiração das mãos, MI = Momento inicial, MF = Momento final. Diferença estatisticamente significativa quando *p-value*<0,05.

Um paciente do G1 submetido à intervenção para reparação de ruptura diafragmática veio a óbito nas primeiras 24 horas de pós-operatório e um do G2 não foi realizado a reavaliação da ferida cirúrgica, pois não foi possível contato com o responsável. A infecção do sítio cirúrgico (ISC) superficial foi diagnosticada em apenas 2 cães do G2 (22,22%) nos quinze primeiros dias de pós-operatório, sendo coletadas amostras para análise.

Das 150 amostras coletadas durante o procedimento, foram obtidas 56 isolados. Desses, 43 apresentaram características morfológicas e bioquímicas compatíveis com *Staphylococcus* spp. (76,79%) e 13 com bastonetes Gram-negativos (23,21%), dos quais 6 apresentaram características de *Proteus* spp. (10,71%), 3 de *E. coli* (5,55%), 2 de *Pseudomonas* spp. (3,70%), 1 de *Klebsiella* spp. (1,85%) e 1 de *Salmonella* spp. (1,85%) (Apêndice A – Tabelas 1 e 2). Das cepas de *Staphylococcus* spp. 32 apresentaram teste de coagulase negativo (74,42%) e 11 foram positivas (25,58%). O número de isolados e a distribuição percentual de cada gênero obtido em cada momento da coleta encontram-se na Figura 1 e o número e a proporção de *Staphylococcus* coagulase positiva (SCoP) e *Staphylococcus* coagulase negativa (SCoN) obtidas em cada grupo estão descritos na Quadro 3.

Quadro 3. Número e porcentagem de isolados de *Staphylococcus* spp. obtidos em cada grupo.

| | G1 | | G2 | | <i>p-value</i> |
|-------------------|----|-------------------------|----|--------|----------------|
| | N | % | N | % | |
| SCoN | 18 | 90 | 14 | 60,87 | 0,06676 |
| SCoP | 2 | 10 | 9 | 39,13 | 0,06676 |
| <i>p-value</i> ** | - | 2,10 x 10 ⁻⁶ | - | 0,2382 | - |
| TOTAL | 20 | 46,51 | 23 | 53,49 | 0,6662 |

SCoN = *Staphylococcus* coagulase negativa, SCoP = *Staphylococcus* coagulase positiva. Diferença estatisticamente significativa quando *p-value*<0,05.

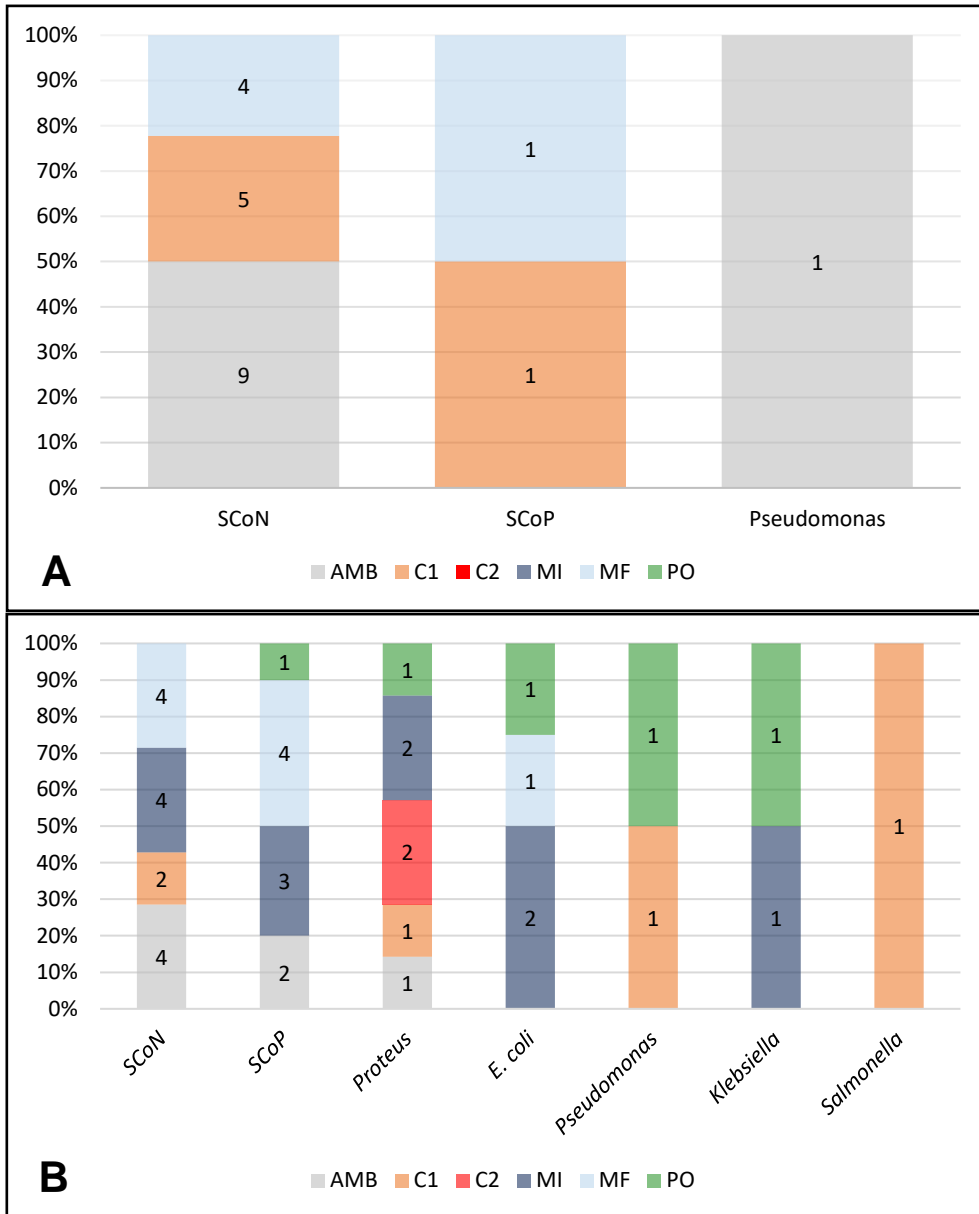


Fig. 1. Distribuição percentual de cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos isolados do ambiente e sítio cirúrgico de cães durante o transoperatório e mãos do cirurgião, antes e depois da desinquação. Cirurgias limpas e limpas-contaminadas (**A**). Cirurgias contaminadas (**B**). AMB = Ambiente, C1 = Cirurgião antes da desinquação das mãos, C2 = Cirurgião após a desinquação das mãos, MI = Momento inicial, MF = Momento final, PO = Pós-operatório, S_{CoN} = *Staphylococcus* coagulase negativa, S_{CoP} = *Staphylococcus* coagulase positiva.

Índice de resistência aos antimicrobianos

A resistência à oxacilina (87%) foi a mais observada entre os isolados, seguido da resistência à eritromicina (86%) e à cefotaxima (82%) (Figura). Entre os isolados de *Staphylococcus*, os SCoN apresentaram maior resistência à eritromicina (91%) e os SCoP à ampicilina e enrofloxacina (91%). O maior índice de MDR foi observado nas cepas de SCoP (100%), porém esse índice também foi alto em cepas de SCoN (88%) e bastonetes Gram-negativos (77%). No quadro 4 e 5 estão descritos os índices de resistência à oxacilina, teicoplanina e múltiplas drogas obtidos nos grupos e local de coleta.

Quadro 4. Distribuição percentual de resistência à oxacilina, teicoplanina e múltiplas drogas de isolados obtidos em cada grupo.

| Antimicrobiano | G1 | | G2 | | <i>p-value</i> |
|------------------|----|--------|----|--------|----------------|
| | N | R | N | R | |
| Oxacilina | 20 | 85% | 38 | 87,5% | 0,9417 |
| Teicoplanina | 20 | 20% | 28 | 89,47% | 0,0696 |
| Múltiplas drogas | 21 | 90,48% | 35 | 88,57% | 1 |

G1 = cirurgias limpas e limpas-contaminadas, G2 = cirurgias contaminadas; N = número de isolados; R = porcentagem de resistência. Diferença estatisticamente significativa quando *p-value*<0,05.

Quadro 5. Distribuição percentual de resistência à oxacilina, teicoplanina e múltiplas drogas de isolados obtidos em cada local de coleta.

| Antimicrobiano | Ambiente | | Sítio cirúrgico | | Cirurgião | | <i>p-value</i> |
|------------------|----------|---------------------|-----------------|---------------------|-----------|---------------------|----------------|
| | N | R | N | R | N | R | |
| Oxacilina | 17 | 82,35% ^a | 26 | 84,61% ^a | 12 | 83,33% ^a | 0,9805 |
| Teicoplanina | 15 | 6,67% ^a | 11 | 81,81% ^b | 8 | 50% ^{ab} | 0,0005 |
| Múltiplas drogas | 17 | 76,47% ^a | 26 | 92,31% ^a | 12 | 83,33% ^a | 0,3448 |

N = número de isolados; R = porcentagem de resistência. Diferença estatisticamente significativa quando *p-value*<0,05.

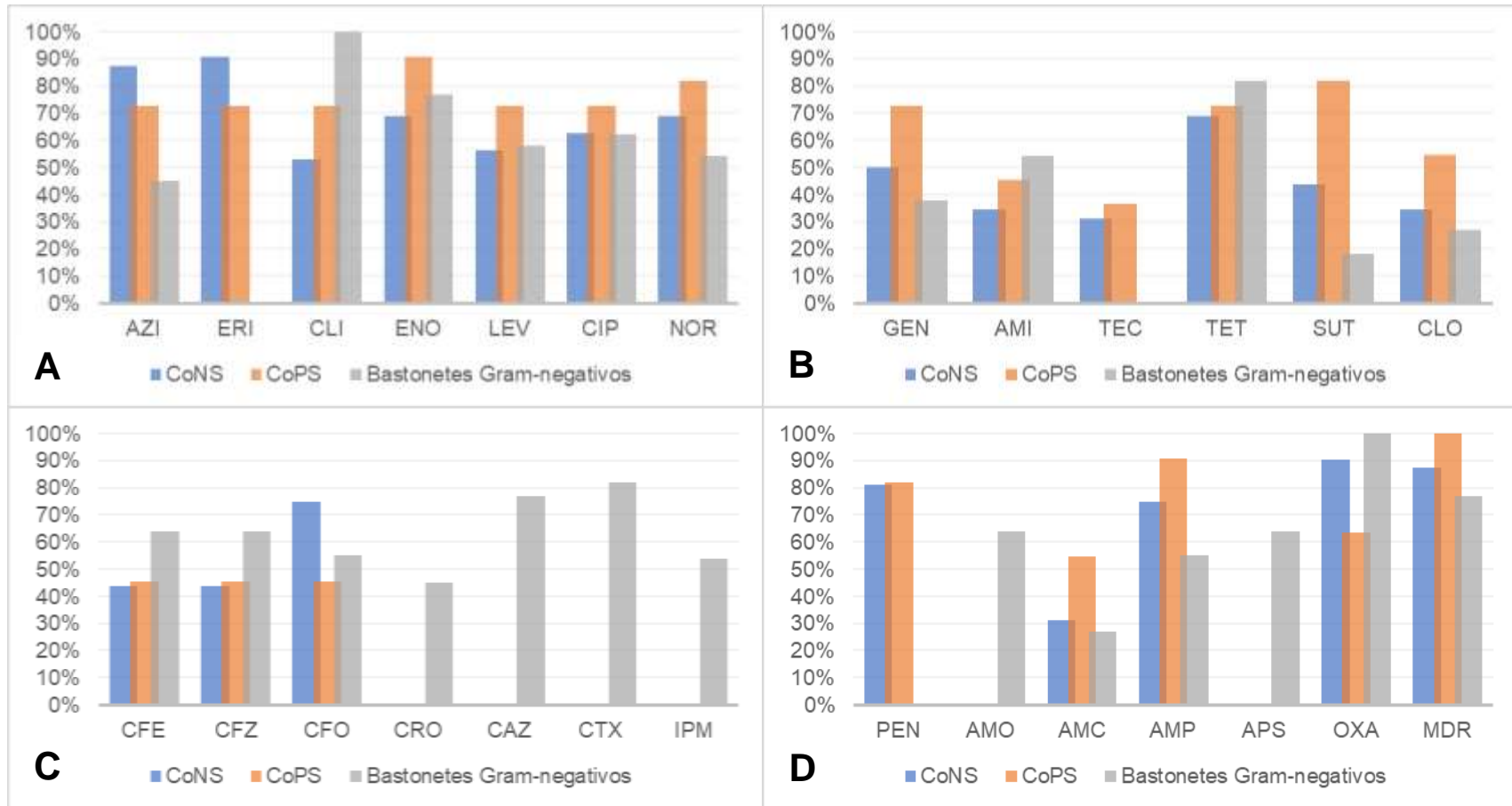


Fig. 2. Distribuição percentual de resistência aos antimicrobianos de cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos isolados do ambiente e sítio cirúrgico de cães durante o transoperatório e das mãos do cirurgião, antes e após a desinquinção. Macrolídeos, lincosaminas e fluorquinolonas (A). Aminoglicosídeos, glicopeptídeos, tetraciclina, sulfonamidas e anfenicóis (B). Cefalosporinas e carbapenêmicos (C). Penicilinas e à múltiplas drogas (D). AZI = Azitromicinas, ERI = Eritromicina, CLI = Clindamicina, ENO = Enrofloxacino, LEV = Levofloxacino, NOR = Norfloxacino, GEN = Gentamicina, AMI = Amicacina, TEC = Teicoplanina, TET = Tetraciclina, SUT = Sulfodiazina + trimetoprim, CLO = Cloranfenicol, CFE = Cefalexina, CEF = Cefazolina, CFO = Cefoxitina, CRO = Ceftriaxona, CAZ = Ceftazidima, CTX = Cefotaxima, IPM = Imipenem, PEN = Penicilina, AMO = Amoxicilina, AMC = Amoxicilina com ácido clavulânico, APS = Ampicilina com sulbactam, OXA = Oxacilina, MDR = Resistência à múltiplas drogas.

A resistência à eritromicina foi observada em 86,04% das cepas de *Staphylococcus* spp. (37/43) e à clindamicina em 58,14% das cepas de *Staphylococcus* spp. (25/43) e 100% dos isolado de enterobactérias (11/11). Dos isolados de *Staphylococcus* spp. resistentes à eritromicina apenas 6,98% apresentaram-se positivo no teste de indução do fenótipo MLS_B (3/43).

Exposição prévia aos antimicrobianos

Quando questionados sobre a administração prévia de antimicrobianos, tutores de doze pacientes (40%) afirmaram que nos últimos seis meses que antecederam a cirurgia seu animal havia sido tratado com antimicrobianos sistêmicos em algum momento, sendo os antimicrobianos descritos a cefalexina, cefadroxila, amoxicilina, doxiciclina e enrofloxacina. Entre esses pacientes sete apresentaram crescimento de cocos Gram-positivos ou bastonetes Gram-negativos no sítio cirúrgico durante o transoperatório. Nos isolados obtidos desses pacientes foi observado resistência aos macrolídeos (7/7), lincosaminas (7/7), β-lactâmicos (7/7), aminoglicosídeos (7/7), tetraciclina (6/7), sulfonamidas (1/7), cloranfenicol (1/7) e MDR (7/7).

Ferida cirúrgica no pós-operatório

Dois pacientes do G2 (20%) apresentaram infecção do sítio cirúrgico superficial. Nos isolados da ferida cirúrgica do pós-operatório observou-se SCoP resistente aos β-lactâmicos, quinolonas e MDR, *Pseudomonas* spp. resistente à enrofloxacina e *Proteus* spp. resistente a enrofloxacina e MDR.

DISCUSSÃO

No presente estudo, apresentamos o perfil de resistência de cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos isolados do sítio cirúrgico superficial de cães durante o transoperatório, do ambiente da sala operatória e das mãos do cirurgião responsável antes e após a desinquinção. Microrganismos do gênero *Staphylococcus* spp. foram mais frequentes nas amostras de cirurgias limpas e limpas contaminadas (n=20/21, 95,24%) e de cirurgias contaminadas (n=22/35, 62,86%). A maioria dos bastonetes Gram-negativos foi isolado no G2 (n=11/12, 91,67%), sendo as espécies mais frequentemente encontradas *Proteus* spp. (n=7/12, 58,33%), *E. coli* (4/12, 33,33%) e *Pseudomonas* spp. (3/12, 25%). As maiores proporções de MDR foram observadas nas espécies isoladas de SCoP (100%). Bastonetes Gram-negativos apresentaram os maiores índices de resistência à oxacilina e clindamicina (100%).

Nossos dados corroboram o descrito por Gobbo et al. (2017) na avaliação de contaminação ambiental no centro cirúrgico do mesmo hospital veterinário, no qual observou-se altas taxas de resistência à cefalexina, clindamicina, enrofloxacina e ampicilina em cepas de cocos Gram-positivos.

Apesar do tempo de cirurgia e o número de pessoas presentes na sala operatória no momento do procedimento serem considerados fatores de risco para o desenvolvimento de infecção no sítio cirúrgico (Verwilghen & Ameet 2015), não observamos nesse estudo correlação entre essas variáveis e a ocorrência de contaminação transoperatória no sítio cirúrgico superficial em ambos os grupos (Quadro 1). O controle glicêmico no paciente cirúrgico é fator importante na prevenção de infecções pós-operatórias, pois a hiperglicemia pode aumentar o risco de infecção da ferida cirúrgica (Itani et al. 2017). No presente estudo não foi encontrada correlação entre

o valor de glicemia e a presença de cocos Gram-positivos ou bastonetes Gram-negativos em ambos os grupos (Quadro 1), porém nenhum paciente apresentou valor médio superior a 200mg/dL.

Procedimentos contaminados apresentaram maior número de culturas positivas para cocos Gram-positivos (70%) e bastonetes Gram-negativos (50%) em relação aos procedimentos limpos e limpos-contaminados, e a infecção do sítio cirúrgico foi observada apenas em dois pacientes do G2. Esse fato é esperado devido à maior taxa de colonização do sítio cirúrgico superficial por bactérias com potencial patogênico em cirurgias contaminadas, o que também predispõe a ocorrência de infecção do sítio cirúrgico (Nelson 2011).

Os patógenos relatados nesse estudo são os de maior prevalência associados à infecção do sítio cirúrgico em cães (Suthar et al. 2014, Verwilghen & Ameet 2015, Andrade et al. 2016). Espécies de *Staphylococcus* spp. são bactérias comensais da pele e mucosa de seres humanos e animais (Brusselaers et al. 2011, Paul et al. 2011), o que justifica a grande prevalência desses microrganismos nos isolados do sítio cirúrgico e das mãos do cirurgião tanto no G1 quanto no G2 (Figura 2). *S. pseudintermedius* é espécie de SCoP comumente encontrada em infecções cutâneas em cães, enquanto *S. aureus* é comum em seres humanos. A espécie de SCoN mais frequentemente relatada em animais é *S. epidermidis* (Brusselaers et al. 2011, Paul et al. 2012, Paul et al. 2012).

Nesse estudo observamos maior prevalência de SCoN (n=32/43, 74,42%) em relação às SCoP (n=11/43, 25,58%), sendo que no G1 o índice de SCoN foi significativamente maior do que o índice de SCoP ($p < 0,05$), enquanto no G2 não houve diferença significativa ($p > 0,05$; Quadro 3). Justifica-se a diferença encontrada, pois espécies de SCoN são os patógenos oportunistas de maior prevalência na pele de cães e seres humanos, não estando normalmente associados à processos infecciosos em animais imunocompetentes (Wu et al., 2016). Enquanto *S. pseudointermedius* são bactérias frequentemente isoladas de piodermas profundos e superficiais em cães, o que é observado comumente no sítio cirúrgico superficial em feridas contaminadas (FECAVA; Guardabassi et al., 2004a; Howe e Boothe, 2006; Singh e Weese, 2017).

Espécies de *Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina (SRM) são resistentes a todos os fármacos da classe dos β -lactâmicos devido a presença do gene *mecA* (Bemis et al. 2009, Wu et al. 2016, Naccache et al. 2019). A resistência à oxacilina, a qual pode indicar a presença fenotípica desse gene, foi maior em cepas de SCoN (90%) do que em cepas de SCoP (64%), sendo este fato alarmante pois estas espécies têm se tornado potenciais agentes patogênicos envolvidos em sepse nas unidades de terapia intensiva (UTI). Além disso, são microrganismos associados à formação de biofilme em implantes internos, podendo acarretar em infecções pós-operatórias em até um ano após o procedimento (Becker et al. 2014, Naccache et al. 2019). Becker et al. (2014) relataram que bactérias SCoN presentes no ambiente hospitalar humano podem apresentar prevalência de até 89% de resistência à meticilina, o que foi observado no nosso estudo (Figura 2, Quadro 4).

Apesar da proporção de resistência à cefazolina observada ser menor do que a de oxacilina, as recomendações são que para cepas de *Staphylococcus* spp. que apresentem resistência à oxacilina e/ou cefoxitina seja desconsiderado os resultados de sensibilidade dos outros fármacos da classe β -lactâmicos devido à presença sugestiva do gene *mecA* (CLSI 2015, Bemis et al. 2009, Wu et al. 2016, Naccache et al. 2019). Sendo assim, o alto índice de resistência à oxacilina em cepas isoladas do sítio cirúrgico superficial em

cirurgias limpas/limpas-contaminadas e cirurgias contaminadas pode acarretar em falha da eficácia da profilaxia antimicrobiana nesses procedimentos, a qual é usualmente realizada com a administração de cefalosporinas de primeira e segunda geração (Boothe & Boothe 2015, Singh & Weese 2017).

A teicoplanina, fármaco da classe dos glicopeptídeos, é utilizada nos testes de sensibilidade antimicrobiana por disco difusão como substituto à vancomicina (CLSI 2015). Os fármacos dessa classe são utilizados no tratamento de infecções graves por bactérias Gram-positivas, sendo que cepas resistentes à teicoplanina frequentemente são resistentes à vancomicina (Stogios & Savchenko 2020). Nos dados aqui expostos, a proporção de resistência à teicoplanina foi semelhante nos isolados de SCoN (31%) e SCoP (36%), porém foi significativamente menor nas cepas isoladas do ambiente (6,67%) em comparação às do sítio cirúrgico (81,81%) (Quadro 4). Esse fato difere do relatado na literatura, onde o ambiente é apontado como fonte de contaminação de bactérias multirresistente (Balén et al. 2013, Cinquepalm et al. 2013, Gobbo et al. 2017) e também difere do encontrado no nosso estudo, no qual a maioria das cepas isoladas no ambiente apresentam taxa semelhante de resistência em relação às cepas isoladas do sítio cirúrgico e da mão do cirurgião (Quadro 4).

A clindamicina, fármaco da classe das lincosaminas, tem sido utilizada como alternativa aos β -lactâmicos no tratamento de infecções por *Staphylococcus* spp., porém pode ocorrer falha na terapia mesmo que os testes de sensibilidade *in vitro* sejam positivos (Fiebelkorn et al. 2003; Fernandes et al. 2007). Esse fato ocorre devido à presença de variedades do gene *erm*, os quais codificam resistência aos antimicrobianos macrolídeos, lincosaminas e estreptogramina B, denominado fenótipo MLS_b (Fernandes et al. 2007). A detecção desse fenótipo pode ser sugerida por meio da realização do teste D nas avaliações de sensibilidade por disco difusão. Nesse teste, um disco de 2 μ g de clindamicina é aplicado a 15mm de um disco de 15 μ g de eritromicina. Considera-se positivo quando há resistência à eritromicina e sensibilidade à clindamicina, porém é observado o achatamento do halo na borda próxima ao disco de eritromicina (Gold & Lawhon 2013).

Observamos nesse trabalho, 86,04% de isolados de *Staphylococcus* spp. resistentes à eritromicina e 58,14% resistentes à clindamicina, sendo que 6,98% das cepas que apresentaram resistência à eritromicina foram positivas no teste de indução do fenótipo MLS_b. Esse índice é maior do que os relatados por Gold & Lawhon (2013) em isolados de *S. pseudointermedius* no Texas (1,32% [8/608]), por Faires et al. (2009) na América do Norte (0% [0/46]) e por Perreten et al. (2010) na Europa e América do Norte (1,9% [2/103]). O índice de resistência à clindamicina foi semelhante ao descrito por Qekwana et al. (2017) na África do Sul (51,8%) em *Staphylococcus aureus*. Esses fatos reforçam a evidência de os índices de resistência antimicrobiana estarem relacionados ao perfil local (WHO 2018).

A resistência às fluorquinolonas (Figura 2) esteve entre 54-91%, destacando-se a resistência dos bastonetes Gram-negativos à enrofloxacina (91%). Esse fármaco, pertencente à classe das fluorquinolonas, é importante no tratamento de infecções causadas por enterobactérias e representa uma das poucas alternativas na terapia antimicrobiana para cepas de *Pseudomonas* spp. (Papich 2013; Feng et al. 2019; Pang et al. 2019). Seu uso é restrito veterinário, porém sua administração indiscriminada pode acarretar em resistência cruzada entre outros fármacos da mesma classe, os quais são frequentemente utilizados no tratamento de infecções em humanos (Barrasa et al. 2000;

Papich 2013). Nesse estudo, observamos índices de resistência semelhantes entre enrofloxacina (69-71%), levofloxacina (53-73%), ciprofloxacina (62-73%) e norfloxacina (54-82%).

Bactérias da família Enterobacteriaceae colonizam o trato gastrointestinal de cães e seres humanos e a presença desses patógenos no ambiente hospitalar ou em superfícies cutâneas pode indicar inadequada limpeza e desinfecção (Suthar et al. 2014; Drzewiecka 2016). Nesse estudo observamos que no G2 os isolados desses patógenos foram maiores (13/35) do que no G1, no qual não se observou nenhum isolado. As espécies mais frequentes foram *Proteus* spp. (6/10; 60%), seguido de *E. coli* (3/10; 30%) e *Salmonella* spp. (1/10; 10%).

A presença dessas bactérias, principalmente *Proteus* spp., no sítio cirúrgico após antissepsia e nas mãos do cirurgião antes e após a desinquinção provavelmente decorre de infecção cruzada e pode ser indicativo de falha na eficácia dos métodos de assepsia (Drzewiecka 2016). *Proteus* spp. foi isolado em duas amostras das mãos do cirurgião após a desinquinção, sendo que uma dessas cepas foi isolada tanto de C2 quanto do sítio cirúrgico no MI em um mesmo procedimento, reforçando a possibilidade de contaminação cruzada. Além de apenas diminuir e não eliminar totalmente a carga bacteriana local, as composições de clorexidina são mais eficazes contra bactérias Gram-positivas do que Gram-negativas, o que pode justificar a persistência de enterobactérias após a aplicação do biocida (Karpinski & Szkaradkiewicz 2015; Belo et al. 2018).

O principal mecanismo de resistência de enterobactérias aos β -lactâmicos é a produção de enzimas que acarretam na hidrólise de penicilinas, cefalosporinas e aztreonam, denominadas β -lactamase de espectro estendido (*ESBL-Extended-spectrum beta-lactamase*) (Laudy et al., 2017). Essas enzimas são inativadas pelos inibidores de β -lactamase e normalmente apresentam sensibilidade aos carbapenêmicos (Laudy et al. 2017). Nos isolados de bastonetes Gram-negativos obtidos no presente estudo foi observado 82% de resistência à cefotaxima. A resistência a esse fármaco pode ser utilizada como teste de triagem para a detecção fenotípica da produção de ESBL (CLSI 2015, Laudy et al. 2017).

Outro importante mecanismo de resistência em enterobactérias é a produção de enzimas carbapenemases, o qual acarreta na resistência a todos os fármacos da classe dos β -lactâmicos (Seibert et al. 2014). Observamos 54% de resistência ao imipenem (Figura 2), sendo que a resistência a um fármaco da classe dos carbapenêmicos frequentemente indica resistência a todos os outros princípios ativos dessa classe (Seibert et al. 2014). Essa taxa é alarmante, pois esses medicamentos são utilizados no tratamento de infecções graves em seres humanos, além de não serem licenciados para o uso na medicina veterinária (Madec et al. 2017). Adicionalmente, os índices de multirresistência aos antimicrobianos também foram altos nos nossos isolados de cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos, sendo 88% em SCoN, 100% em SCoP e 77% em enterobactérias (Figura 2).

Todos os sete pacientes com cultivo bacteriológico positivo para cocos Gram-positivos e/ou bastonetes Gram-negativos e que os tutores declararam utilização prévia de antimicrobianos sistêmicos apresentaram pelo menos um isolado resistente aos macrolídeos, clindamicina, aminoglicosídeos e à múltiplas drogas. Esses resultados podem ser relacionados à administração prévia de antimicrobianos, fator de risco para colonização persistente por bactérias resistentes (Rantala et al. 2004; Lawrence et al. 2013; Wedley et al. 2017). Além disso, os dois pacientes do G2 que desenvolveram

infecção do sítio cirúrgico no pós-operatório apresentaram cepas resistentes aos β -lactâmicos, quinolonas e múltiplas drogas.

A presença de bactérias multirresistentes em pacientes saudáveis e no ambiente é frequentemente relatada na literatura (Chah et al. 2013; Priyantha et al. 2016, Dupouy et al. 2019; Ortega-Paredes et al. 2019), assim como a possibilidade de transmissão dessas cepas aos médicos veterinários (Paul et al. 2011; Rodrigues et al. 2017). Dessa forma, a colonização de pacientes, profissionais de saúde e ambiente cirúrgico por cepas multirresistentes, destacando-se espécies de *Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina e enterobactérias ESBL e produtoras de carbapenemases, representam grande risco ao paciente, em decorrência a falha no tratamento, e à saúde pública, pois são importantes fontes silenciosas de infecção (Guardabassi et al. 2004a; Guardabassi et al. 2004b, Becker et al. 2014; Suthar et al. 2014). Além disso, esses agentes patogênicos são considerados de prioridade alta e crítica na medicina humana e necessitam, urgentemente, de desenvolvimento de novos fármacos eficazes para o tratamento dessas infecções (McEwen & Collignon 2018).

É importante enfatizar que, apesar do número de amostras ser alto (n=150), a quantidade de procedimentos nos quais foram obtidas as amostras foi pequeno no G1 (n=20) e, principalmente, no G2 (n=10), o que pode sugestionar a comparação entre grupos. Apesar dos testes morfológicos e bioquímicos não serem a alternativa mais sensível para diagnóstico das espécies e estirpes bacterianas, esses são financeiramente viáveis e tecnicamente mais simples do que as provas moleculares (p. ex.: reação em cadeia da polimerase, sequenciamento da região 16S do rRNA, eletroforese de campo pulsado) (Ribot et al. 2006, Woo et al. 2008; Srinivasan et al., 2015). Dessa forma, os resultados obtidos pelo cultivo microbiológico e antibiograma são importantes para o direcionamento da conduta clínica. Além disso, o registro dessas informações é essencial para a formação de base de dados epidemiológicos que contribuirão no desenvolvimento de um programa de gestão antimicrobiana no referido hospital veterinário, além de representar fonte para vigilância epidemiológica no contexto de saúde única.

CONCLUSÃO

No nosso estudo, a prevalência de MRSCoN (90%) e bastonetes Gram-negativos resistentes a cefotaxima (82%) foram altas. Além disso, observamos alta proporção de resistência a fármacos utilizados para tratar infecções graves em humanos, como a teicoplanina (31-36%) e imipenem (54%). Os índices MDR dos isolados foram superiores a 77% para cada grupo de bactérias isoladas. Esses altos índices são alarmantes, pois os gêneros de bactérias identificados no nosso estudo são comuns na infecção do sítio cirúrgico pós-operatório e em UTIs humanas e veterinárias. Além do alto potencial de falha na terapia devido a infecção por bactérias multirresistentes, observamos o ambiente cirúrgico veterinário como potencial reservatório e disseminador desses patógenos, principalmente em relação a bactérias comunitárias, como SRM. Mais estudos estão sendo realizados para confirmar possível compartilhamento de estirpes bacterianas entre profissionais veterinários, pacientes e ambiente cirúrgico no nosso hospital veterinário.

Reforça-se a necessidade de estratégias de controle e prevenção na transmissão de bactérias multirresistentes nas unidades de saúde que abordem o tema de acordo com o contexto de saúde única, incluindo a medicina veterinária como importante pilar na ascensão dessa ameaça.

Declaração de conflito de interesse: Os autores não possuem interesse concorrente.

REFERÊNCIAS

- Andrade N., Schmiedt C.W., Cornell K., Radlinsky M.G., Heidingsfelder L., Clarke K., Hurley D.J. & Hinson W.D. 2016. Survey of intraoperative bacterial contamination in dogs undergoing elective orthopedic surgery. *Veterinary Surgery* 45:214-222.
- Balem J., Kelley C., Nava-Hoet R.C., Bateman S., Hillier A., Dyce J., Wittum T.E. & Hoet A.E. 2013. Vector-Borne and Zoonotic Diseases 13(5):299-311.
- Barrow G.I. & Feltham R.K.A. 1993. *Cowan and Steel's: manual for the identification of medical bacteria*. 3rd ed. Cambridge University, Cambridge, 331p.
- Basak S., Singh P., Rajurkar M. 2016. Multidrug Resistant and Extensively Drug Resistant Bacteria: A Study. *Journal of Pathogens* 2016:1-5.
- Becker K., Hellman C. & Peters G. 2014. Coagulase-negative staphylococci. *Clinical Microbiology Reviews* 27(4):870-926.
- Belo L., Serrano I., Cunha E., Carneiro C., Tavares L., Carreira L. M. & Oliveira M. 2018. Skin asepsis protocols as a preventive measure of surgical site infections in dogs: chlorhexidine–alcohol versus povidone–iodine. *BMC Veterinary Research* 14(1):95-100.
- Bemis D.A., Jones R.D., Frank L.A. & Kania S.A. 2009. Evaluation of susceptibility test breakpoints used to predict *mecA*-mediated resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 21:53-58.
- Boothe D.M. & Boothe Jr H.W. Antimicrobial considerations in the perioperative patient. 2015. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 45:585-608.
- Brusselaers N., Vogelaers D., Blot S. 2011. The rising problem of antimicrobial resistance in the intensive care unit. *Annals of Intensive Care* 1(47):1-7.
- Burgess B.A. 2019. Prevention and surveillance of surgical infections: A review. *Veterinary Surgery* 48(3):284-290.
- Chah K.F., Gómez-Sanz E., Nwanta J.A., Asadu B., Agbo I.C., Lozano C., Zarazaga M., Torres C. 2014. Methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from healthy dogs in Nsukka, Nigeria. *Brazilian Journal of Microbiology* 45(1):215-220.
- Chaudhary R., Thapa S.K., Rana J.C. Shah P.S. 2017. Surgical Site Infections and Antimicrobial Resistance Pattern. *Journal of Nepal Health Research Council* 15(36):120-123.
- Chauveaux D. 2015. Preventing surgical-site infections: Measures other than antibiotics. *Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research* 101:S77-S83.

- Cinquepalm V., Monno R., Fumarola L., Gianpiero V., Calia C., Greco M.F., Vito D. & Soleo L. Environmental Contamination by Dog's Faeces: A Public Health Problem?. 2013. International Journal of Environmental Research and Public Health 10:72-84.
- CLSI. 2015. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, CLSI Document M02-A10. Wayne: Clinical and Laboratory Standard Institute, 240p.
- Drzewiecka D. 2016. Significance and Roles of *Proteus* spp. Bacteria in Natural Environments. Microbial Ecology 72:741-758.
- Dupouy V., Abdelli M., Moyano G., Arpaillange N., Bibbal D., Cadiergues M., Lopez-Pulin D., Sayah-Jeanne S., Gunzburg J., Saint-Lu N., Gonzalez-Zorn B., Andremont A. & Bousquet-Mélou A. 2019. Prevalence of Beta-Lactam and Quinolone/Fluoroquinolone Resistance in Enterobacteriaceae From Dogs in France and Spain—Characterization of ESBL/pAmpC Isolates, Genes, and Conjugative Plasmids. Frontiers in Veterinary Science 6:279.
- Feng X., Zhang Z., Li X., Song Y., Kang J., Yin D., Gao Y., Shi N., Duan J. 2019. Mutations in *gyrB* play an important role in ciprofloxacin-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Infection and drug resistance 12:261-272.
- Fernandes C.J., O'Sullivan M.V.N., Cai Y., Kong F., Zeng X., Gilbert G.L. & Kotsiou G. 2007. Agar Dilution Method for Detection of Inducible Clindamycin Resistance in *Staphylococcus* spp. Journal of Clinical Microbiology 45(12):4018-4020.
- Fiebelkorn K. R., Crawford S.A., McElmeel M.L. & Jorgensen J.H. 2003. Practical disk diffusion method for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. Journal of Clinical Microbiology 41(10):4740-4744.
- Gandolfi-Decristophoris P., Regula G., Petrini O., Zinsstag J. & Schelling E. 2012. Prevalence and risk factors for carriage of multi-drug resistant staphylococci in healthy cats and dogs. Journal of Veterinary Science 14(4):449-456.
- Gobbo J.L., Cardozo M.V., Lacerda L.C.C., Karcher D.E., Dias L.G.G.G., de Nardi A.B., Minto B.W. & Moraes P.C. 2017. Evaluation of operating room environment contamination and efficacy of 2% chlorhexidine for surgical hand scrubbing before and after gowning and gloving. Acta Scientiae Veterinariae 45:1484.
- Gold R.M. & Lawhon S.D. 2013. Incidence of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* from dogs. Journal of Clinical Microbiology 51(12):4196-4199.
- Grönthal T., Osterblad M., Eklund M., Jalava J., Nykäsenoja S., Pekkanen K. & Rantala M. 2018. Sharing more than friendship – transmission of NDM-5 ST167 and CTX-M-9 ST69 *Escherichia coli* between dogs and humans in a family, Finland, 2015. Euro Surveill 23(27):1-10.

- Guardabassi L., Loeber M.E. & Jacobson A. 2004a. Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. *Veterinary microbiology* 98(1):23-27.
- Guardabassi L., Schwarz S. & Lloyd D.H. 2004b. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 54(2):321-332.
- Howe L.M. & Boothe H.W. 2006. Antimicrobial Use in the surgical patient. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 36(5):1049-1060.
- Itani K.M.F., Dellinger E.P., Mazuski J., Solomkim J., Allen G., Blanchard J.C. Kelz R. & Berríos-Torres S.I. 2017. Surgical site infection research opportunities. *Surgical Infections* 18(4):401-408.
- Karpinski T.M. & Szkaradkiewicz A.K. 2015. Chlorhexidine – pharmaco-biological activity and application. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 19:1321-1326.
- Kaspar U., Lutzau A., Schlattmann A., Roesler U., Köck R., Becker K. 2018. Zoonotic multidrug-resistant microorganisms among small companion animals in Germany. *PLOS One* 13(12):1-15.
- Koneman E.W., Allen S.D., Janda W.M., Schreckenberger P.C. & Winn W.C. Jr. 2001. *Diagnóstico Microbiológico*. 5. ed. MEDSI, Rio de Janeiro 1465p.
- Laudy A.E., Róg P., Smolinska-Krol K., Sloczynska A., Patzer J., Dzierzanowska D., Wolinowska R., Starosciak B., Tyski S. 2017. Prevalence of ESBL-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Warsaw, Poland, detected by various phenotypic and genotypic methods. *PLOS One* 12(6):1-15.
- Lawrence M., Kukanich K., Kukanich B., Heinrich E., Coetzee J.F., Grauer G. & Narayanan S. 2013. Effect of cefovecin on the fecal flora of healthy dogs. *The veterinary Journal* 198:253-266.
- Madec J.Y., Haenni M., Nordmann P. & Poirel L. 2017. Extended-spectrum β -lactamase/AmpC- and carbapenemase producing Enterobacteriaceae in animals: a threat for humans? *Clinical Microbiology and Infection* 23:826-833.
- Magiorakos AP et al. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. ***Clinical Microbiology and Infection*** 18(3):268-281.
- Martín Barrasa, J.L., Gomez P.L., Lama Z.G. & Junco M.T.T. 2000. Antibacterial susceptibility patterns of *Pseudomonas* spp strains isolated from chronic canine otitis externa. *Journal of Veterinary Medicine Series B* 47:191-196.
- Mayhew D., Mendonca V., Murthy B.V.S. 2019. A review of ASA physical status – historical perspectives and modern developments. *Anaesthesia* 74:373-9.

- Mcewen S.A. & Collignon P.J. 2018. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. *Microbiology Spectrum* 6(2):1-26.
- Munita J.M. & Arias C.A. 2016. Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiology Spectrum* 4(2):1-37.
- Naccache S.N., Callan K., Burnham C.D., Wallace M.A., Westblade L.F. & Bard J.D. 2019. Evaluation of oxacillin and cefoxitin disk diffusion and microbroth dilution methods for detecting *mecA*-mediated β -lactam resistance in contemporary *Staphylococcus epidermidis* isolates. *Journal of Clinical Microbiology* 57(12):1-17.
- Nelson L.L. 2011. Surgical site infections in small animal surgery. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 41:1041-1056.
- Ortega-Paredes D., Haro M., Leoro-Garzón P., Barba P., Loaiza K., Mora F., Fors M., Vinueza-Burgos C., Fernández-Moreira E. 2019. Multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from canine faeces in a public park in Quito, Ecuador. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 18:263-268.
- Pang Z., Raudonis R., Glick B. R., Lin T.J. & Cheng Z. 2019. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology Advances* 37:177-192.
- Papich M.G. 2013. Antimicrobials, Susceptibility Testing, and Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) in Veterinary Infection Treatment. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 43:1079-1089.
- Paul N.C., Moodley A., Ghibaudo G. & Guardabassi L. 2011. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in small animal veterinarians: indirect evidence of zoonotic transmission. *Zoonoses and Public Health* 58:533-539.
- Paul N.C., Bargman S.C., Moodley A., Nielsen S.S. & Guardabassi. 2012. *Staphylococcus pseudintermedius* colonization patterns and strain diversity in healthy dogs: A cross-sectional and longitudinal study. *Veterinary Microbiology* 160:420-427.
- Priyantha R., Gaunt M.C. & Rubin J.E. 2016. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus pseudintermedius* colonizing healthy dogs in Saskatoon, Canada. *Canadian Veterinary Journal* 57:65-69.
- Qekwana D. N., Oguttu J.W., Sithole F. & Odoi A. 2017. Patterns and predictors of antimicrobial resistance among *Staphylococcus* spp. from canine clinical cases presented at a veterinary academic hospital in South Africa. *BMC Veterinary Research* 13:116.
- Rantala M., Lahti E., Kuhalampi J., Personen S., Järvinen A-K., Saijonmaa-Koulumies L. & Honkanen-Buzalski T. 2004. Antimicrobial resistance in *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. in dogs given antibiotics for chronic dermatological disorders, compared with non-treated control dogs. *Acta Veterinaria Scandinavica* 45(1-2):37-45.

- Rodrigues A.C., Belas A., Marques C., Cruz L., Gama L.T. & Pomba C. 2017. Risk factors for nasal colonization by methicillin-resistant staphylococci in healthy humans in professional daily contact with companion animals in Portugal. *Microbial Drug Resistance* 24(4):434-446.
- Schwarz S., Enne V.I. & Duijkeren E. 2016. 40 years of veterinary papers in JAC – what have we learnt? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 71(10):2681-2690.
- Seibert G., Horner R., Meneghetti B.H., Righi R.A., Dal Forno N.L.F. & Salla A. 2014. Infecções hospitalares por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em um hospital escola. *Einstein (São Paulo)* 12(3):282-286.
- Shoen H.R.C., Rose S.J., Ramsey S.A., Morais H. & Bermudez L.E. 2019. Analysis of Staphylococcus infections in a veterinary teaching hospital from 2012 to 2015. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 66:1-6.
- Singh A. & Weese J.S. 2017. Wound infections and antimicrobial use, p.530-548. In: Johnston SA, Tobias KM (EdS), *Veterinary Surgery Small Animal*. Vol. 1. 2nd ed. Elsevier, New York.
- Stogios P. J. & Savchenko A. 2020. Molecular mechanisms of vancomycin resistance. *Protein Science* 1-41.
- Suthar N., Roy S., Call D.R., Besser T.E., Davis M.A. 2014. An individual-based model of transmission of resistant bacteria in a veterinary teaching hospital. *Public Library of Science One* 9(6):1-11.
- Turk R., Singh A. & Weese J.S. 2014. Prospective surgical site infection surveillance in dogs. *Veterinary Surgery* 44:2-8.
- Verwilghen D. & Singh A. 2015. Fighting surgical site infections in small animals-Are we getting anywhere? *Veterinary Clinics: Small Animals Practice* 45:243-276.
- Walther B., Tedin K. & Lübke-Becker A. 2016. Multidrug-resistant opportunistic pathogens challenging veterinary infection control. *Veterinary Microbiology* 200:71-78.
- Wedley A.L., Dawson S., Maddox T.W., Coyne K.P., Pinchbeck G.L., Clegg P., Nuttall T., Kirchner M. & Williams N.J. 2017. Carriage of antimicrobial resistant *Escherichia coli* in dogs: Prevalence, associated risk factors and molecular characteristics. *Veterinary Microbiology* 199:22-30.
- WHO. 2016. Global guidelines for the prevention of surgical site infection. Geneva:186 p.
- WHO. 2018. Global antimicrobial resistance surveillance system (GLASS) report: early implementation 2017-2018. Geneva: 164p.

Wu M.T., Burnham C.A.D., Westblade L.F., Bard J.D., Lawhon S.R., Wallace M.A., Stanley T., Burd E., Hindler J. & Humphries R.M. 2016. Evaluation of oxacillin and cefoxitin disk and MIC breakpoints for prediction of methicillin resistance in human and veterinary isolates of *Staphylococcus intermedius* group. *Journal of Clinical Microbiology* 54(3):535-542.

CAPÍTULO 3 – Considerações finais

1. Ciência pra quem?

A ciência nada mais é do que um caminho no qual pensamos a nós próprios, a nossa humanidade, a nossa sociedade e o nosso mundo, revendo ideias e ideologias, exercendo crítica ao pensamento dominante e questionando todos os aspectos contemporâneos, seja social, político, humano, ambiental, cultural, científico, tecnológico ou filosófico, para que surjam estratégias para superar nossos desafios. Pode ser genial, porém pode ser cega e débil quando não houver consciência para favorecer a emancipação dos nossos saberes. A ciência com consciência é Revolução.²

Não há desenvolvimento científico verdadeiro se não houver simultaneamente desenvolvimento humano. E nesse contexto, a área por onde escolhi caminhar na pesquisa científica me remete integralmente a isso: Qual o impacto real do desenvolvimento de fármacos de última geração para tratamentos críticos se não evoluirmos em educação e conscientização?

Enquanto focamos a maioria dos nossos esforços em descobertas grandiosas, abandonamos as medidas básicas de prevenção. A resistência bacteriana aos antimicrobianos nos faz confrontar com o resultado dessas ações. Esses pequenos microrganismos, os quais muitos considerariam insignificantes, representam atualmente um dos maiores desafios mundiais. O nosso desenvolvimento científico é infinitamente mais lento do que a capacidade de replicação e adaptação desses seres.

Entre recentes ondas de intolerância mundial, as bactérias colocam as barreiras criadas por nós no chão. Não há fronteiras para elas, atravessam mares e muros, e isso nos faz lembrar que o desenvolvimento de todos os países precisa ocorrer de forma sincronizada. Habitamos o mesmo planeta.

Além disso, colocam profissionais da saúde em confronto com seu ego quando, em pleno século XXI, ficamos impotentes diante de um paciente com infecção sanguínea causada por espécies de bactérias resistentes a todos fármacos antimicrobianos disponíveis para uso clínico. Repensar a cultura do uso indiscriminado de antimicrobianos e compreender a importância da medicina

¹“Ciência com consciência” de Edgar Morin, 1982.

preventiva na promoção da saúde humana, animal e ambiental é o único caminho possível para que possamos sobreviver às “superbactérias”. Desconstruir tradições e conscientizar profissionais, estudantes e população, unindo esforços globais para o desenvolvimento sociocultural, é o caminho que precisamos trilhar.

2. A tríade da universidade pública

A universidade pública vai muito além de um simples espaço de aquisição de saberes e formação profissional, ela deve ser ambiente propício para transformação social. Nesse sentido, temos como pilares o ensino, a pesquisa e a extensão, os quais devem se articular permanentemente para que o desenvolvimento científico e tecnológico seja gerado em harmonia com nosso contexto social.

A pesquisa científica aprimora e produz novos conhecimentos, acarretando no desenvolvimento social, científico e tecnológico. O ensino transmite o conhecimento produzido, difundindo esse conhecimento entre alunos com o objetivo de formação profissional. Além disso, o ensino mantém ativo a horizontalidade da educação entre educadores e educandos, repensando e aprimorando o conhecimento pré-existente.

A extensão universitária representa importante instrumento de articulação entre o ensino e a pesquisa, fortalecendo os laços e derrubando muros entre a comunidade científica e a sociedade. Para produzirmos ciência aplicável e consciente precisamos fortalecer esse pilar para levantar demandas e propor soluções para problemas eminentes relacionados a todos setores da sociedade. Esses três eixos são interdependentes e necessitam de sincronicidade para que possamos democratizar o conhecimento.

3. A tríade da saúde única

O termo Saúde Única é definido como “esforços colaborativos de profissionais de múltiplas áreas de ciências da saúde, trabalhando localmente, nacionalmente e globalmente, buscando atingir condições ótimas de saúde para pessoas, animais, plantas e o meio-ambiente.”³

²McEwen S.A. & Collignon P.J. 2018. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. *Microbiology Spectrum* 6(2):1-26.

Dessa forma, sabe-se que as áreas de saúde humana, animal e ambiental são indissociáveis. As estratégias adotadas precisam considerar atuações integradas nos diversos setores globalmente, mas considerando o contexto epidemiológico, social, econômico e cultural de cada local. Para avançarmos no combate a resistência antimicrobiana precisamos considerar, indispensavelmente, a tríade da saúde única. E a vigilância epidemiológica é importante instrumento para nosso sucesso.

4. Desafios da pesquisa

A pesquisa relacionada a resistência bacteriana exige comunicação e relação entre profissionais de diversos setores e áreas de conhecimento. Para superá-lo buscamos constituir uma equipe multidisciplinar composta por microbiologistas, cirurgiões e clínicos de pequenos animais. Dessa forma, articulamos o conhecimento para melhor análise e discussão dos resultados.

Outra limitação está relacionada ao costume de prescrição de antimicrobianos presentes na instituição, o que dificulta a padronização na profilaxia cirúrgica antimicrobiana peri-operatória. A falta de protocolos de controle de infecção hospitalar e/ou cirúrgica e conscientização sobre o impacto do uso indiscriminado de antimicrobianos é, sem dúvidas, o maior desafio na implementação de um sistema de gestão de antimicrobianos e na pesquisa epidemiológica. Esse fato pode afetar os resultados obtidos nesse estudo, principalmente referente à infecção cirúrgica pós-operatória. Para minimizar essas variáveis foi importante a comunicação com a equipe cirúrgica para padronização da antissepsia do sítio cirúrgico, porém a prescrição pós-operatória de antimicrobianos variou de acordo com a conduta de cada profissional.

5. Aplicações e impacto da pesquisa

O estudo realizado foi importante para iniciar discussão sobre a atual emergência do tema e, principalmente, para repensar as condutas terapêuticas no hospital veterinário.

No âmbito do ensino foram realizadas pela discente, durante a vigência do projeto de pesquisa, aulas e palestras expositivas para alunos, pós-graduandos e profissionais sobre uso de antimicrobianos na rotina clínica e cirúrgica e seu impacto na saúde pública.

A mestranda também realizou levantamento do perfil de resistência de bactérias isoladas no hospital veterinário durante os anos de 2016-2017, além de colaborar em projetos paralelos de iniciação científica e mestrado na respectiva área.

6. Conclusão

Toda pesquisa científica desenvolvida precisa abordar o tema de forma ampla e interdisciplinar para que os resultados obtidos possam ser aplicados com o objetivo de aprimorar o desenvolvimento social, científico e tecnológico da sociedade no qual estamos inseridos.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Tabela 1A. Cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos isolados do ambiente e sítio cirúrgico de cães no transoperatório de cirurgias limpas e limpas contaminadas, das mãos do cirurgião, antes e após a desinquinação, e do sítio cirúrgico no pós-operatório.

| Procedimento | Momento | Microrganismo |
|---------------------|----------------|-------------------------------|
| 1 | - | - |
| 2 | - | - |
| 3 | Ambiente | SCoN |
| 4 | - | - |
| 5 | MF | SCoN |
| 6 | Ambiente | SCoN |
| | MF | SCoN |
| 7 | Ambiente | SCoN |
| | C1 | SCoN |
| 8 | MF | SCoP |
| 9 | - | - |
| 10 | Ambiente | SCoN |
| | C1 | SCoN |
| 11 | - | - |
| 12 | - | - |
| 13 | - | - |
| 14 | Ambiente | SCoN |
| | C1 | SCoP |
| 15 | Ambiente | SCoN, <i>Pseudomonas</i> spp. |
| 16 | - | - |
| 17 | - | - |
| 18 | Ambiente | SCoN |
| | C1 | SCoN |
| 19 | Ambiente | SCoN |
| | MF | SCoN |
| | C1 | SCoN |
| 20 | Ambiente | SCoN |
| | MF | SCoN |
| | C1 | SCoN |
| | 21 | |

*Legenda: *Staphylococcus* coagulase negativa (SCoN); *Staphylococcus* coagulase positiva (SCoP); Momento 1 (M1); Momento 2 (M2); Momento 3 (M3); Momento 4 (M4); Mãos do cirurgião antes da desinquinação (C1); Mãos do cirurgião depois da desinquinação (C2).

Tabela 2A. Cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos isolados do ambiente e sítio cirúrgico de cães no transoperatório de cirurgias contaminadas, das mãos do cirurgião, antes e após a desinquinção, e do sítio cirúrgico no pós-operatório.

| Procedimento | Momento | Microrganismo |
|---------------------|----------------|--|
| 1 | Ambiente | SCoP, <i>Proteus</i> spp. |
| | MI | SCoN, <i>E. coli</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp. |
| | MF | SCoN |
| 2 | Ambiente | SCoN |
| | MI | SCoN, SCoP |
| | MF | SCoN, SCoP |
| | C1 | SCoN |
| 3 | MI | SCoN |
| | MF | SCoN |
| | C1 | <i>Salmonella</i> spp., <i>Proteus</i> spp. |
| | C2 | <i>Proteus</i> spp. |
| 4 | MI | <i>Proteus</i> spp. |
| | C2 | <i>Proteus</i> spp. |
| 5 | C1 | <i>Pseudomonas</i> spp. |
| 6 | Ambiente | SCoN |
| | MF | SCoP |
| 7 | Ambiente | SCoN |
| | MI | SCoP |
| | MF | SCoP |
| | C1 | SCoN |
| 8 | Ambiente | SCoN |
| 9 | - | - |
| 10 | Ambiente | SCoP |
| | MI | SCoN, SCoP, <i>E. coli</i> |
| | MF | SCoN, SCoP <i>E. coli</i> |
| | C1 | SCoN |
| | | 40 |

*Legenda: *Staphylococcus* coagulase negativa (SCoN); *Staphylococcus* coagulase positiva (SCoP); Momento 1 (M1); Momento 2 (M2); Momento 3 (M3); Momento 4 (M4); Mãos do cirurgião antes da desinquinção (C1); Mãos do cirurgião depois da desinquinção (C2).

Tabela 3A. Número de isolados e proporção de resistência de Cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos isolados do ambiente e sítio cirúrgico de cães no transoperatório e das mãos do cirurgião, antes e após a desinquinção, para cada fármaco antimicrobiano testado.

| Antimicrobiano | BGNeg | | SCoP | | SCoN | | Total | |
|---------------------------------|-------|------|------|-----|------|-----|-------|-----|
| | N | R | N | R | N | R | N | R |
| Azitromicina | 11 | 45% | 11 | 73% | 32 | 88% | 54 | 76% |
| Eritromicina | 0 | - | 11 | 73% | 32 | 91% | 43 | 86% |
| Clindamicina | 11 | 100% | 11 | 73% | 32 | 53% | 54 | 67% |
| Penicilina | 0 | - | 11 | 82% | 32 | 81% | 43 | 81% |
| Amoxicilina | 11 | 64% | 0 | - | 0 | - | 11 | 64% |
| Amoxicilina + ácido clavulânico | 11 | 27% | 11 | 55% | 32 | 31% | 54 | 35% |
| Ampicilina | 11 | 55% | 11 | 91% | 32 | 75% | 54 | 74% |
| Ampicilina+sulbactam | 11 | 64% | 0 | - | 0 | - | 11 | 64% |
| Oxacilina | 11 | 100% | 11 | 64% | 32 | 90% | 54 | 87% |
| Cefalexina | 11 | 64% | 11 | 45% | 32 | 44% | 54 | 48% |
| Cefazolina | 11 | 64% | 11 | 45% | 32 | 44% | 54 | 48% |
| Cefoxitina | 11 | 55% | 11 | 55% | 32 | 75% | 54 | 67% |
| Ceftriaxona | 11 | 45% | 0 | - | 0 | - | 11 | 45% |
| Ceftazidima | 13 | 77% | 0 | - | 0 | - | 13 | 77% |
| Cefotaxima | 11 | 82% | 0 | - | 0 | - | 11 | 82% |
| Imipenem | 13 | 54% | 0 | - | 0 | - | 13 | 54% |
| Enrofloxacina | 13 | 77% | 11 | 91% | 32 | 69% | 56 | 75% |
| Levofloxacina | 13 | 58% | 11 | 73% | 32 | 56% | 56 | 60% |
| Ciprofloxacina | 13 | 62% | 11 | 73% | 32 | 63% | 56 | 64% |
| Norfloxacina | 11 | 54% | 11 | 82% | 32 | 69% | 56 | 68% |
| Gentamicina | 11 | 38% | 11 | 73% | 32 | 50% | 56 | 52% |
| Amicacina | 11 | 54% | 0 | 45% | 32 | 34% | 56 | 41% |
| Teicoplanina | 0 | - | 0 | 36% | 32 | 31% | 45 | 36% |
| Tetraciclina | 11 | 82% | 11 | 73% | 32 | 69% | 54 | 72% |
| Sulfatiazina+trimetoprim | 11 | 18% | 11 | 82% | 32 | 44% | 54 | 46% |
| Cloranfenicol | 11 | 27% | 11 | 55% | 32 | 34% | 54 | 37% |

*Legenda: Fármacos inativos em mais de 50% das bactérias isoladas (vermelho); fármacos inativos entre 10 e 50% das bactérias isoladas (laranja); fármacos inativos em menos de 10% das bactérias isoladas (verde). Bastonetes Gram-negativos (BGNeg); *Staphylococcus coagulase negativa* (SCoN); *Staphylococcus coagulase positiva* (SCoP).