

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CONTAMINAÇÃO POR ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES A
ANTIMICROBIANOS ISOLADAS EM CELULARES E MÃOS EM
HOSPITAL VETERINÁRIO**

Ana Carolina Valentim Hespanha

Médica Veterinária

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CONTAMINAÇÃO POR ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES A
ANTIMICROBIANOS ISOLADAS EM CELULARES E MÃOS EM
HOSPITAL VETERINÁRIO**

Discente: Ana Carolina Valentim Hespanha

Orientador: Prof. Associado Bruno Watanabe Minto

Coorientadora: Dra. Marita Vedovelli Cardozo

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

H585c

Hespanha, Ana Carolina Valentim

Contaminação por enterobactérias resistentes a antimicrobianos isoladas em celulares e mãos em hospital veterinário / Ana Carolina Valentim Hespanha. -- Jaboticabal, 2021

48 p. : il., tabs., fotos

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

Orientador: Bruno Watanabe Minto

Coorientadora: Marita Vedovelli Cardozo

1. Cirurgia veterinária. 2. Eletroforese em campo pulsátil. 3. Infecção. 4. Microbiologia veterinária. 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.

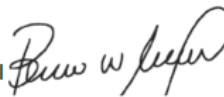
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: CONTAMINAÇÃO POR ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES A
ANTIMICROBIANOS ISOLADAS EM CELULARES E MÃOS EM HOSPITAL
VETERINÁRIO

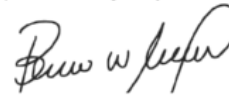
AUTORA: ANA CAROLINA VALENTIM HESPAÑA
ORIENTADOR: BRUNO WATANABE MINTO
COORIENTADORA: MARITA VEDOVELLI CARDOZO

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

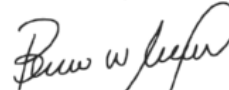
Prof. Dr. BRUNO WATANABE MINTO (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Bruno Watanabe Minto".

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

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Paola Castro Moraes".

Profa. Dra. PAULA REGINA SILVA GOMIDE (Participação Virtual)
Centro Universitário Nossa Senhora do Patrocínio / Salto/SP

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Paula Regina Silva Gomide".

Jaboticabal, 05 de julho de 2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Ana Carolina Valentim Hespanha, nascida no município de São Caetano do Sul, estado de São Paulo, em 07 de fevereiro de 1990. Ingressa no Curso de Medicina Veterinária na Universidade Estadual do Norte do Paraná - Campus Luiz Meneghel no ano de 2008. Durante a graduação realizou estágios nas áreas de Clínica Médica de Pequenos Animais e Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais, com enfoque em Cirurgia de Tecidos Moles e Ortopedia desde o primeiro ano da graduação. Foi aluna de Iniciação Científica PIBIC/Fundação Araucária entre os anos de 2011/2012. Tesoureira do Grupo de Estudo de Pequenos Animais (GEPA), entre os anos de 2009 a 2011. Realizou parte do seu Estágio Curricular Obrigatório no Hospital Veterinário Central – Portugal (2012). Entre os anos de 2014 e 2016 participou do Programa de Residência em Clínica Cirúrgica de Animais de Companhia pela Escola de Veterinária da Universidade Federal do Paraná, Campus Curitiba. Realizou pós-graduação em Ortopedia Veterinária pela Associação Nacional de Clínicos de Pequenos Animais (Anclivepa – SP) (2016-2017). Realizou aprimoramento em Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais pelo Hospital Público Municipal, coordenado pela Associação Nacional de Clínicos de Pequenos Animais (Anclivepa – SP) (2016-2018). Atualmente é pós-graduanda em Neurologia Veterinária pelo Instituto Bioethicus e aluna de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Jaboticabal, com ingresso em agosto de 2019, sob orientação do professor Dr. Bruno Watanabe Minto, onde também fez parte do Serviço de Ortopedia e Neurologia do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel”.

EPÍGRAFE

“A ausência de evidência não é evidência de ausência”

Carl Sagal

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à Deus e
aos meus amados pais, Sonia e
Antonio

AGRADECIMENTOS

Toda honra e toda glória é dada primeiramente a Deus. Completa meu coração e me traz a paz necessária para vencer as adversidades impostas pela vida.

Aos meus pais por me apoiarem incondicionalmente e por acreditarem em todas as escolhas que eu fiz até hoje.

Ao meu irmão, cunhada e sobrinhos que me relembram diariamente a importância da família.

Ao meu orientador, Prof. Bruno Watanabe Minto, por acreditar que eu conseguiria realizar este trabalho e por me permitir realizar mais um sonho profissional. Foi e é um grande mentor.

Aos membros da banca pelo aceite e auxílio em melhorar este trabalho.

Aos meus amigos e colegas da Unesp – Jaboticabal por dividirem tantos momentos de alegria, de dificuldades e de motivação.

A todos os amigos que a Medicina Veterinária me deu ao longo destes 9 anos e que foram fundamentais para moldar a profissional que sou hoje.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo 2019/14382-9, por todo auxílio que permitiu a realização deste projeto. A educação no Brasil não é um gasto, é um investimento para um futuro melhor para todos.

E por fim, a todo paciente e tutor que cruzou meu caminho e que me permitiu ajudar e ser ajudada.

SUMÁRIO

	Página
CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	iii
CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS	iv
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
LISTA DE ABREVIATURAS	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
Introdução e Revisão De Literatura.....	1
Objetivos.....	4
1. Objetivos gerais	4
2. Objetivos específicos	4
Hipótese	5
Referências	5
CAPÍTULO 2 – CONTAMINAÇÃO POR ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES A ANTIMICROBIANOS ISOLADAS EM CELULARES E MÃOS EM HOSPITAL VETERINÁRIO	8
RESUMO	8
INTRODUÇÃO.....	9
MATERIAIS E MÉTODOS	10
Seleção dos casos.....	11
Preparo cirúrgico.....	11
Coleta das amostras	12
Identificação bacteriana	14
Teste de suscetibilidade aos antimicrobianos	16
Eletrforese em Gel De Campo Pulsado.....	17
Acompanhamento dos casos	18
RESULTADOS	18

DISCUSSÃO	22
CONFLITO DE INTERESSES	25
FINANCIAMENTO	25
REFERÊNCIA.....	25
CAPÍTULO 3 – CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
ANEXO 1 – Normas do periódico “Acta Veterinaria Hungarica”	31

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



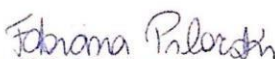
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "*Infecção nosocomial por E.coli e Proteus mirabilis associada ao uso de aparelhos celulares na cirurgia veterinária*", protocolo nº 08283/19, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Bruno Watanabe Minto, 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 15 de agosto de 2019.

Vigência do Projeto	01/08/2019 a 31/07/2021
Espécie / Linhagem	<i>Canis familiaris</i>
Nº de animais	5
Peso / Idade	Não determinado
Sexo	Fêmea ou macho
Origem	Pacientes atendidos no setor de Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário "Governador Laudo Natel".

Jaboticabal, 15 de agosto de 2019.


Prof.ª Dr.ª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14864-900 - Jaboticabal/ SP - Brasil
tel 16 3209 7100 www.fcav.unesp.br

CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE
ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO
DE MESQUITA FILHO"

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Infecção nosocomial por E.coli e Proteus mirabilis associada ao uso de aparelhos celulares na cirurgia veterinária

Pesquisador: ANA CAROLINA VALENTIM HESPANHA

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 17281019.6.0000.5420

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO

Patrocinador Principal: FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.106.051

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193

Bairro: VILA MENDONÇA

CEP: 16.015-050

UF: SP

Município: ARACATUBA

Telefone: (18)3636-3200

Fax: (18)3636-3332

E-mail: andrebertoz@foa.unesp.br

CONTAMINAÇÃO POR ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES A ANTIMICROBIANOS ISOLADAS EM CELULARES E MÃOS EM HOSPITAL VETERINÁRIO

RESUMO - As infecções nosocomiais representam sério problema de saúde pública, levando ao aumento da mortalidade e morbidade dos pacientes afetados. Os telefones celulares são alvo de investigações sobre sua importância na disseminação de patógenos, devido ao seu uso descontrolado e presença em todos os ambientes do dia a dia, incluindo hospitais veterinários. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho é avaliar a presença de *Escherichia coli* (*E. coli*), *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis*) e *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), importantes bactérias associadas à infecção hospitalar, em telefones celulares da equipe cirúrgica de pequenos animais do Hospital Veterinário da Universidade Estadual Paulista – Câmpus Jaboticabal. Para isso, foram coletadas amostras de telefones celulares dos cirurgiões, auxiliares, enfermeiros e anestesistas e dos responsáveis pelos pacientes, bem como também de suas mãos, mesa cirúrgica e do paciente. As bactérias foram isoladas e identificadas através do teste de reação em cadeia de polimerase (PCR), a diversidade genética por Eletroforese em gel de Campo Pulsado (PFGE) e a suscetibilidade à antimicrobianos através de antibiograma. Adicionalmente, os pacientes foram acompanhados por 4 semanas quanto à sinais de infecção nosocomial na ferida operatória. Oito amostras foram positivas para *E. coli* e *Proteus mirabilis*, provenientes da mão do anestesista, mão do tutor, mão do cirurgião, celular do cirurgião, celular do enfermeiro, celular do anestesista e duas mesas cirúrgicas. O teste de sensibilidade antimicrobiana demonstrou que todos os isolados eram resistentes à múltiplos antimicrobianos. A eletroforese de campo pulsado demonstrou alta diversidade genética entre os isolados. A identificação de *E.coli* e *Proteus mirabilis* multirresistentes em aparelhos celulares da equipe cirúrgica representa grande preocupação e, apesar de não diretamente correlacionado, o isolamento dessas bactérias no interior da área limpa do centro cirúrgico evidenciou a possibilidade de transmissão nosocomial a partir dos aparelhos celulares à pacientes susceptíveis.

Palavras-chave: cirurgia veterinária, eletroforese em gel de campo pulsado, infecção nosocomial, microbiologia

CONTAMINATION BY ANTIMICROBIAL-RESISTANT ENTEROBACTERIA ISOLATED ON CELL PHONES AND HANDS IN A VETERINARY HOSPITAL

ABSTRACT - Nosocomial infections represent a serious public health problem, leading to increased mortality and morbidity for affected patients. Cell phones are the target of investigations about their importance in the spread of pathogens, due to their uncontrolled use and presence in all day-to-day environments, including veterinary hospitals. In this sense, the objective of this work is to evaluate the presence of *Escherichia coli* (*E.coli*), *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis*) and *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), important bacteria associated with hospital infection, on cell phones of the small animal surgical team at the Veterinary Hospital of Paulista State University - Campus Jaboticabal. For this, samples of cell phones were collected from surgeons, assistants, nurses and anesthetists and those responsible for patients, as well as from their hands, operating table and the patient. The bacteria were isolated and identified through the polymerase chain reaction (PCR) test, genetic diversity by Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) and susceptibility to antimicrobials through antibiogram. Additionally, the patients were followed up for 4 weeks for signs of nosocomial infection in the surgical wound. Eight samples were positive for *E. coli* and *Proteus mirabilis*, from the hand of the anesthetist, hand of the tutor, hand of the surgeon, cell of the surgeon, cell of the nurse, cell of the anesthetist and two surgical tables. The antimicrobial susceptibility test demonstrated that all isolates were resistant to multiple antimicrobials. Pulsed field electrophoresis demonstrated high genetic diversity among the isolates. The identification of multi-resistant *E.coli* and *Proteus mirabilis* in cell phones of the surgical team is of great concern and, although not directly correlated, the isolation of these bacteria within the clean area of the operating room has evidenced the possibility of nosocomial transmission from cell phones susceptible patients.

Keywords: veterinary surgery, pulsed field gel electrophoresis, nosocomial infection, microbiology

LISTA DE ABREVIATURAS

°C: Graus centígrados

BHI: Brain Heart Infusion

CDC: Centro de Controle e Prevenção de Doenças

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

E. coli: *Escherichia coli*

ECDC: Centro Europeu de Controle e Prevenção de Doenças

K. pneumoniae: *Klebsiella pneumoniae*

PCR: Reação em cadeia de polimerase

PFGE: Eletroforese em gel de Campo Pulsado

P. mirabilis: *Proteus mirabilis*

Mg / Kg: Miligrama por quilo

UNESP: Universidade Estadual Paulista

LISTA DE TABELA

CAPÍTULO 2

Página

Tabela 1. Análise de resistência as classes de antimicrobianos baseado no CLSI, 2018. R: resistente; quadro vazio: sensível; amostra 1: mão do anestesista; amostra 2: mão do tutor; amostra 3: mão do cirurgião antes da desinquinção; amostra 4 e amostra 5: mesas cirúrgicas; amostra 6: celular do cirurgião; amostra 7: celular do enfermeiro; amostra 8: celular do anestesista. AMI: amicacina; GEN: gentamicina; AMO: amoxicilina; AMC: amoxicilina com clavulanato; AMP: ampicilina; APS: ampicilina com sulbactam; CFE: cefalexina; CFZ: cefazolina; CPM: cefepime; CTX: cefotaxima; CFO: cefoxitina; CAZ: ceftazidima; CRO: ceftriaxona; IPM: imipenem; PIT: piperacilina + tazobactam; OXA: oxaciclina; AZI: azitromicina; ERI: eritromicina; CIP: ciprofloxacina; ENO: enrofloxacina; LEV: levofloxacina; NOR: norfloxacina; CLO: cloranfenicol; TET: tetraciclina; CLI: clindamicina; SUT: sulfametazol+trimetoprim; TEC: teicoplanina.....	21
--	----

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Página

Figura 1. Coleta das amostras através de suabe estéril. A) região ventral da mão; B) região dorsal da mão; C) frente do aparelho celular; D) região traseira do aparelho celular. 13

Figura 2. Amostras de colônias em meio ágar MacConkey. A) Celular do cirurgião; B) Mão do anestesista..... 14

Figura 3. Placa de antibiograma contendo colônia de *E. coli* e os discos de antibiótico, demonstrando resistência (ausência de halo) ou sensibilidade aos antimicrobianos escolhidos. 16

Figura 4. Esquema exemplificando as etapas da realização da Eletroforese em gel de campo pulsado. Adaptado de Association of Food and Drug Officials (<https://www.afdo.org/wp-content/uploads/2020/08/food-1530-sauders-gennext.pdf>) 18

Figura 5. Eletroforese em gel de agarose a 1% referente às amostras testadas para *E. coli*. Primeira e última canaleta: marcador molecular; segunda canaleta: controle positivo; penúltima canaleta: controle negativo. Neste caso nota-se positivas as amostras correspondentes a mão do anestesista, mão do tutor e mesa (setas).....19

Figura 6. O dendrograma obtido através do PFGE de isolados de *E.coli*. Note que a similaridade entre as amostras é inferior a 70 % (traço vermelho), indicando que não há qualquer parentesco entre elas.....20

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Introdução e Revisão de Literatura

As infecções nosocomiais representam grave problemática global, e tornaram-se ainda mais evidentes com o avanço da pandemia de COVID -19, onde houve aumento alarmante do número de internações hospitalares (Sprague, 2009; He et al., 2020). Além de representar uma das principais causas de mortalidade de pacientes humanos em ambientes hospitalares, também está associada ao incremento da morbidade, hospitalização prolongada, desenvolvimento de disfunção múltipla de órgãos e custos hospitalares (Kollef et al, 1997; Kampf e Kramer, 2004; Kollef et al., 2021). São caracterizadas como infecções que ocorrem dentro de 48 a 72 horas de hospitalização ou até 30 dias após a alta hospitalar (Taheri et al., 2013).

Na medicina veterinária o cenário não é diferente, sendo fonte de preocupação crescente em hospitais veterinários, visto também os riscos de biossegurança que incluem os surtos de infecções nosocomiais em pacientes hospitalizados e de infecções zoonóticas na comunidade hospitalar (AVMA, 2007; Willemsen et al., 2019). Apesar disto, a incidência de infecção nosocomial não é tão bem documentada quanto na medicina humana, mas esforços têm sido feitos ao longo dos últimos anos para mudar esta realidade (Traverse e Aceto, 2015; Oh et al., 2018; Churak et al., 2021).

Os estudos veterinários relatam diversos tipos de patógenos, como *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Salmonella* spp., *Pseudomonas* spp. e *Escherichia coli*, nos quais pelo menos 70% destes microrganismos apresentam resistência antimicrobiana (Nakamura e Tompkins, 2012; Mount et al., 2016; Oh et al., 2018; Abadi et al., 2019; Kerek et al., 2021).

As principais vias de transmissão dos patógenos são as mãos dos profissionais, mesas, boxes de internamento e outros objetos como estetoscópio, relógios, “pagers”, teclados, aparelhos celulares, dentre outros (Marinella et al., 1998; Singh et al., 2002; Schultz et al., 2003; Saxena et al., 2011; Gunasekara et al., 2015; Vinall et al., 2020).

Os aparelhos celulares tornaram-se itens indispensáveis na vida cotidiana e são utilizados de forma frequente no ambiente hospitalar, para otimizar o atendimento ao paciente e as comunicações com o cliente (Ulger et al., 2015). Ao longo dos anos surgem mais evidências quanto à possibilidade destes aparelhos atuarem como reservatórios para bactérias com potencial de gerar infecções nosocomiais (Brady et al., 2006, Ulger et al., 2009, Kahn et al., 2015). Além disto, possuem agravantes em relação à outros objetos pois são armazenados em bolsas ou bolsos, manuseados com grande frequência e mantidos perto do rosto, entrando em contato com mais partes do nosso corpo e uma gama mais ampla de patógenos. Os telefones contêm maior número de bactérias que qualquer outro objeto ou fômite, provavelmente devido ao fato de apresentarem temperatura elevada e certo grau de umidade, propiciando ambiente ideal para o crescimento bacteriano (Walia et al., 2014).

O potencial de infecção dos telefones foi sugerido pela primeira vez por Aronson e colaboradores em 1977 e, desde então, tem se buscado realizar trabalhos que possam confirmar esta teoria com os mais diversos tamanhos de amostragem, métodos e abrangendo a medicina, odontologia e medicina veterinária (Ulger et al., 2015; Vinall et al., 2020).

Narinas, mãos dos proprietários dos aparelhos celulares e ambiente também foram avaliados na tentativa de se correlacionar todas as bactérias encontradas com os aparelhos, e validar a infecção nosocomial por parte destes (Chang et al., 2017). A contaminação dos aparelhos celulares dos pacientes e acompanhantes em comparação aos da equipe médica também foi estudada (Tekerekoğlu et al., 2011).

A grande maioria dos proprietários de aparelhos celulares admitem nunca ter realizado a limpeza de seus aparelhos ou realizá-la esporadicamente (Singh et al., 2002; Hassoun et al., 2004; Brady et al., 2007). Além disso, a equipe médica relatou utilizar os aparelhos celulares no intervalo entre o atendimento dos pacientes, sem realizar a limpeza correta das mãos após sua utilização (Singh et al., 2002; Mark et al., 2014).

A prevalência de agentes nosocomiais entre os aparelhos variou entre os estudos, de 10% a 100%, sendo que bactérias Gram-negativas como *E. coli*,

Proteus mirabilis e *Klebsiella pneumoniae* foram isolados em muitos estudos (Borer et al., 2005; Ramesh et al., 2008, Tagoe et al., 2011). Outra grande preocupação entre os estudos foi a presença de bactérias resistentes à antibióticos encontradas nos aparelhos. Segundo o Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos, mais de 125.000 hospitalizações por conta de bactérias resistentes aos antimicrobianos ocorreram nos Estados Unidos entre os anos de 1999 e 2000, uma taxa de 3,95 casos por 1.000 altas hospitalares (Moran et al., 2005; Ulger et al., 2015).

Na medicina veterinária ainda é escassa a realização de trabalhos que visam avaliar a contaminação presente nos aparelhos celulares e seu potencial como fômites. Dentre as pesquisas, a mais recente é de Vinall e colaboradores (2020), na qual avaliaram a contaminação por *Staphylococcus* spp. de aparelhos celulares e *tablets* utilizados pela equipe de um hospital veterinário de pequenos animais. Foi observado que 85% dos profissionais utilizavam um dispositivo eletrônico portátil todos os dias dentro do hospital veterinário sendo que 68% dos dispositivos eram positivos para *Staphylococcus* spp. Além disto, outro fato muito relevante foi a descoberta de que 44% da equipe nunca havia limpado seu dispositivo eletrônico.

Roy e colaboradores (2013), também realizaram um estudo em que apenas a contaminação em aparelhos celulares foi avaliada. Foram utilizadas 150 amostras de suabes coletados de telefones celulares de veterinários, estudantes de veterinária, atendentes de laboratório, enfermeiros e tratadores veterinários e manipuladores de carne e peixes da Universidade Sher-e-Kashmir, na Índia. Das 150 amostras analisadas, em 96,66% dos telefones foram encontrados contaminação por bactérias patogênicas. Os celulares dos enfermeiros e tratadores veterinários mostraram a maior contagem viável total de bactérias, e os veterinários a menor contagem viável total. Os resultados variaram de 72% (manipuladores de peixe) a 4% (veterinários) na contagem de *Escherichia coli* isolada nos aparelhos celulares; e 44% (enfermeiros) a 12 % (veterinários) na contagem de *Proteus* spp.

Independente da forma de transmissão, a infecção por *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae* em medicina veterinária tornou-se especialmente problemática devido ao grande número de infecções causadas por estes e ao surgimento de múltipla resistência aos antibióticos em animais de companhia; fato por vezes mais problemático que a presença de outros patógenos

nosocomiais (Normand et al., 2000; Aklilu et al., 2012). A prevenção e o controle de infecções no ambiente hospitalar deve ser rigoroso, constantemente revisado e fiscalizado também na rotina médico veterinária, visto o potencial tanto para infecções nosocomiais entre os pacientes hospitalizados quanto ao risco zoonótico (Morley, 2004; AVMA, 2007). Diante disto, propõe-se avaliar o papel dos aparelhos celulares na disseminação de bactérias patogênicas em ambiente cirúrgico.

Objetivos

1. Objetivo geral

Avaliar a existência de contaminação por *E.coli*, *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae* presente nos aparelhos celulares de tutores dos pacientes, profissionais e estudantes do hospital veterinário envolvidos nos procedimentos cirúrgicos.

2. Objetivos específicos

Objetiva-se especificamente:

- Avaliar a presença de *E.coli*, *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae* em mesa cirúrgica, região de ferida cirúrgica do paciente e mãos dos proprietários dos aparelhos celulares;
- Realização dos testes de susceptibilidade dos microrganismos isolados aos principais fármacos antimicrobianos utilizados na rotina clínica e cirúrgica de cães e gatos, visando a identificação de organismos multirresistentes presentes no ambiente hospitalar;
- Correlacionar os achados dos aparelhos celulares com os demais na tentativa de validar o potencial dos aparelhos como fômites, através da técnica de Eletroforese em gel de Campo Pulsado.

Hipótese

Os aparelhos celulares atuam como potenciais fômites de bactérias patogênicas.

Referências

Abadi, A. T. B., Rizvanov, A. A., Haertlé, T., & Blatt, N. L. (2019). World Health Organization report: current crisis of antibiotic resistance. **BioNanoScience**, 9(4), 778-788.

Aklilu, E., Zakaria, Z., Hassan, L., & Cheng, C. H. (2012). Molecular relatedness of methicillin-resistant *S. aureus* isolates from staff, environment and pets at University Veterinary Hospital in Malaysia. **PLoS One**, 7(8), e43329.

Aronson, S. H. (1977). The Lancet on the telephone 1876–1975. **Medical history**, 21(1), 69-87.

AVMA Council on Education. (2007). Accreditation policies and procedures of the AVMA Council on Education. Available [www. avma.org/education/cvea/coe_pp.pdf](http://www.avma.org/education/cvea/coe_pp.pdf).

Borer, A., Gilad, J., Smolyakov, R., Eskira, S., Peled, N., Porat, N., ... & Schlaeffer, F. (2005). Cell phones and *Acinetobacter* transmission. **Emerging infectious diseases**, 11(7), 1160.

Brady, R. R. W., Wasson, A., Stirling, I., McAllister, C., & Damani, N. N. (2006). Is your phone bugged? The incidence of bacteria known to cause nosocomial infection on healthcare workers' mobile phones. **Journal of Hospital Infection**, 62(1), 123-125.

Chang, C. H., Chen, S. Y., Lu, J. J., Chang, C. J., Chang, Y., & Hsieh, P. H. (2017). Nasal colonization and bacterial contamination of mobile phones carried by medical staff in the operating room. **PLoS One**, 12(5), e0175811.

Churak, A., Poolkhet, C., Tamura, Y., Sato, T., Fukuda, A., & Thongratsakul, S. (2021). Evaluation of nosocomial infections through contact patterns in a small animal hospital using social network analysis and genotyping techniques. **Scientific Reports**, 11(1), 1-8.

Gunasekara, T. D. C. P., Kudavidanage, B. P., Peelawattage, M. K., Meedin, F., Guruge, L. D., Nanayakkara, G., ... & Fernando, S. S. N. (2015). Bacterial contamination of anaesthetists hands, personal mobile phones and wrist watches used during theatre sessions. **Sri Lankan Journal of Anaesthesiology**, v. 17, p. 11 – 15.

He, Y., Li, W., Wang, Z., Chen, H., Tian, L., & Liu, D. (2020). Nosocomial infection among patients with COVID-19: A retrospective data analysis of 918 cases from a single center in Wuhan, China. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, 41(8), 982-983.

Kampf, G., & Kramer, A. (2004). Epidemiologic background of hand hygiene and evaluation of the most important agents for scrubs and rubs. **Clinical microbiology reviews**, 17(4), 863-893.

Khan, A., Rao, A., Reyes-Sacin, C., Hayakawa, K., Szpunar, S., Riederer, K., ... & Levine, D. (2015). Use of portable electronic devices in a hospital setting and their potential for bacterial colonization. **American journal of infection control**, 43(3), 286-288.

Kerek, Á., Sterczar, Á., Somogyi, Z., Kovács, D., & Jerzsele, Á. (2021). Investigation of the environmental presence of multidrug-resistant bacteria at small animal hospitals in Hungary, **Acta Veterinaria Hungarica AVet**, . Retrieved Feb 18, 2021, from <https://akjournals.com/view/journals/004/aop/article-10.1556-004.2020.00055/article-10.1556-004.2020.00055.xml>

Kollef, M. H., Sharpless, L., Vlasnik, J., Pasque, C., Murphy, D., & Fraser, V. J. (1997). The impact of nosocomial infections on patient outcomes following cardiac surgery. **Chest**, 112(3), 666-675.

Kollef, M. H., Torres, A., Shorr, A. F., Martin-Loeches, I., & Micek, S. T. (2021). Nosocomial Infection. **Critical Care Medicine**, 49(2), 169-187.

Marinella, M. A. (1998). The stethoscope and potential nosocomial infection. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, 19(7), 477-478.

Mark, D., Leonard, C., Breen, H., Graydon, R., O'Gorman, C., & Kirk, S. (2014). Mobile phones in clinical practice: reducing the risk of bacterial contamination. **International journal of clinical practice**, 68(9), 1060-1064.

Moran, G. J., Amii, R. N., Abrahamian, F. M., & Talan, D. A. (2005). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in community-acquired skin infections. **Emerging infectious diseases**, 11(6), 928.

Morley, P. S. (2004). Surveillance for nosocomial infections in veterinary hospitals. **Veterinary Clinics: Equine Practice**, 20(3), 561-576.

Mount, R., Schick, A. E., Lewis, T. P., & Newton, H. M. (2016). Evaluation of bacterial contamination of clipper blades in small animal private practice. **Journal of the American Animal Hospital Association**, 52(2), 95-101.

Nakamura, R. K., & Tompkins, E. (2012). Nosocomial infections. **Compend Contin Educ Vet**, 34(4), E1-10.

Normand, E. H., Gibson, N. R., Carmichael, S., Reid, S. W. J., & Taylor, D. J. (2000). Trends of antimicrobial resistance in bacterial isolates from a small animal referral hospital. **Veterinary Record**, 146(6), 151-155.

Oh, Y-I., Baek, J. Y., Kim, S. H., Kang, B-J. and Youn, H-Y. (2018): Antimicrobial susceptibility and distribution of multidrug-resistant organisms isolated from environmental surfaces and hands of healthcare workers in a small animal hospital. Japan. **J. Vet. Res.** 66, 193–202.

Ramesh, J., Carter, A. O., Campbell, M. H., Gibbons, N., Powlett, C., Moseley Sr, H., ... & Carter, T. (2008). Use of mobile phones by medical staff at Queen Elizabeth Hospital, Barbados: evidence for both benefit and harm. **Journal of Hospital Infection**, 70(2), 160-165.

Roy, S. S., Misra, S. S., & Willayat, M. M. (2013). Isolation and identification of bacteria of public health importance from mobile phones of fish and animal handlers of Kashmir, India. **African Journal of Microbiology Research**, 7(21), 2601-2607.

Saxena, S., Singh, T., Agarwal, H., Mehta, G., & Dutta, R. (2011). Bacterial colonization of rings and cell phones carried by health-care providers: are these mobile bacterial zoos in the hospital? **Tropical doctor**, 41(2), 116-118.

Schultz, M., Gill, J., Zubairi, S., Huber, R., & Gordin, F. (2003). Bacterial contamination of computer keyboards in a teaching hospital. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, 24(4), 302-303.

Singh, D., Kaur, H., Gardner, W. G., & Treen, L. B. (2002). Bacterial contamination of hospital pagers. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, 23(5), 274-276.

Sprague, L. I. S. A. (2009). Health care-associated infections: is there an end in sight?. **National Health Policy Forum**.

Tagoe, D. N., Gyande, V. K., & Ansah, E. O. (2011). Bacterial contamination of mobile phones: When your mobile phone could transmit more than just a call. **Webmedcentral microbiology.v.2**

Taheri, M., Golboie S., Shiranazai S. (2013). Surveying the Rate and Type of Microbial Contamination of Mobile Phones in Health and Medical Personnel employed in the operating room of Sina Hospital and Maternity Hospital of Mashhad. **16th Iranian National Health Conference**.

Traverse, M., & Aceto, H. (2015). Environmental cleaning and disinfection. **Veterinary Clinics: small animal practice**, 45(2), 299-330.

Tekerekoğlu, M. S., Duman, Y., Serindağ, A., Cuğlan, S. S., Kaysadu, H., Tunc, E., & Yakupogullari, Y. (2011). Do mobile phones of patients, companions and visitors carry multidrug-resistant hospital pathogens? **American journal of infection control**, 39(5), 379-381.

Ulger, F., Esen, S., Dilek, A., Yanik, K., Gunaydin, M., & Leblebicioglu, H. (2009). Are we aware how contaminated our mobile phones with nosocomial pathogens?. **Annals of clinical microbiology and antimicrobials**, 8(1), 1-4.

Ulger, F., Dilek, A., Esen, S., Sunbul, M., & Leblebicioglu, H. (2015). Are healthcare workers' mobile phones a potential source of nosocomial infections? Review of the literature. **The journal of infection in developing countries**, 9(10), 1046-1053.

Vinall, G., Cogan, T., Jeffery, A., & Tivers, M. (2020). Staphylococcal bacterial contamination of portable electronic devices in a large veterinary hospital. **Journal of Small Animal Practice**.

Walia, S. S., Manchanda, A., & Narang, R. S. (2014). Cellular telephone as reservoir of bacterial contamination: myth or fact. *Journal of clinical and diagnostic research*: **JCDR**, 8(1), 50.

Willemsen, A., Cobbold, R., Gibson, J., Wilks, K., Lawler, S., & Reid, S. (2019). Infection control practices employed within small animal veterinary practices—A systematic review. **Zoonoses and public health**, 66(5), 439-457.

CAPÍTULO 2 - Contaminação por enterobactérias resistentes a antimicrobianos isoladas em celulares e mãos em hospital veterinário¹

Normas do periódico “Acta Veterinaria Hungarica” (Anexo 1)

Resumo

As infecções nosocomiais são de grande relevância na saúde humana e animal, tendo os fômites grande importância na disseminação de patógenos dentro de unidades hospitalares. O objetivo deste estudo foi investigar a frequência de enterobactérias das espécies *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae* no centro cirúrgico de um hospital veterinário, a possível contaminação cruzada das amostras e caracterizar o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos dos isolados. Coletou-se 65 amostras oriundas das mãos e aparelhos celulares da equipe cirúrgica e tutores dos pacientes, mesa cirúrgica e paciente. As amostras foram isoladas através do teste de reação em cadeia de polimerase (PCR), a análise de diversidade genética por Eletroforese em gel de Campo Pulsado (PFGE) e por fim realizou-se o teste de suscetibilidade a antimicrobianos. Obteve-se isolados de *E.coli* e *Proteus mirabilis* de 8 amostras, sendo elas oriundas da mão do anestesista, mão do tutor, mão do cirurgião, celular do cirurgião, celular do enfermeiro, celular do anestesista e 2 mesas cirúrgicas. A eletroforese em gel de campo pulsado mostrou alta diversidade genética entre os isolados. O teste de suscetibilidade aos antimicrobianos evidenciou resistência a múltiplas drogas em todos os isolados. A identificação de *E.coli* e *Proteus mirabilis* multirresistentes em aparelhos celulares da equipe cirúrgica representa grande preocupação e, apesar de não diretamente correlacionado, o isolamento dessas bactérias no interior da área limpa do centro cirúrgico evidenciou a possibilidade de transmissão nosocomial a partir dos aparelhos celulares à pacientes susceptíveis.

Palavras chave: Eletroforese em gel Campo Pulsado, infecção nosocomial, fômite, pequenos animais, centro cirúrgico

¹ Este capítulo corresponde ao artigo científico a ser submetido ao periódico “Acta Veterinaria Hungarica”.

INTRODUÇÃO

As infecções nosocomiais representam problemática global, visto os altos níveis de morbidade associados. Secundariamente, gera-se incremento do tempo de internamento dos pacientes, elevando assim os custos de tratamento (Kollef et al., 2021). A mortalidade aparece como consequência final e tem sido alarmantemente elevada em pacientes humanos e veterinários (Sprague, 2009; Willemsen et al., 2019).

As infecções do sítio cirúrgico correspondem à um quarto do total de infecções nosocomiais, sendo a causa mais comum de infecções em pacientes cirúrgicos humanos (Cheadle, 2006). Na medicina veterinária, a taxa de infecção do sítio cirúrgico em pequenos animais varia de 3 a 10% dentre aos procedimentos limpos e limpos-contaminados. A infecção destes animais corroborou, como na medicina humana, com o aumento da morbidade, mortalidade, hospitalização prolongada, aumento do custo do tratamento, além da tensão emocional entre o tutor do animal de estimação e o médico veterinário (Turk et al., 2015).

Os agentes biológicos que causam as infecções nosocomiais podem ser divididos em patógenos endógenos, ou seja, aqueles que habitam a microbiota ou estão presentes em focos pré-existent de infecção do próprio paciente e os exógenos, carregados de equipamentos médicos, acessórios e mãos de cirurgiões e outros profissionais (Burgess, 2019). Neste contexto, os aparelhos celulares são alvos de estudos acerca de seu potencial para abrigar bactérias patogênicas como reportado por Brady et al (2006), os quais evidenciaram que cerca de 89,7% dos celulares pertencentes aos profissionais de saúde estão contaminados com bactérias. Adicionalmente, 15% destas bactérias eram potencialmente nosocomiais, como *E. coli* e *Proteus mirabilis*. Igualmente, bactérias resistentes à antimicrobianos foram isoladas em aparelhos celulares em outros estudos (Ramesh, 2008; Tagoe et al., 2011; Julian et al., 2012). Mais recentemente, Morvai e Szabo (2015) revisaram a literatura e observaram que as taxas de contaminação dos aparelhos celulares passaram, ao longo dos anos, de 40% para 100%, destacando grande preocupação acerca do potencial de disseminação de bactérias patogênicas dos

dispositivos, uma vez que estes são um dos objetos mais tocados dentro do ambiente hospitalar (CDC, 2019).

As bactérias *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae* tornaram-se especialmente problemáticas na medicina veterinária devido ao grande número de infecções causadas ao longo dos últimos anos, e ao desenvolvimento a resistência aos antimicrobianos utilizados em animais de companhia (Normand et al., 2000). Bactérias multirresistentes foram consideradas epidêmicas para o ambiente hospitalar veterinário (Sanchez et al., 2002) e representam desafio significativo devido à facilidade de disseminação que apresentam neste ambiente (Morley, 2004). A implementação de práticas e estratégias de controle de infecção na medicina veterinária se faz necessária, uma vez que o vínculo entre humanos e animais se torna cada dia mais estreito, permitindo inclusive a troca de bactérias multirresistentes entre as espécies, porém hoje, ainda é muito limitada (Perez, 2007).

Toda a problemática acerca da infecção nosocomial e seu desfecho epidemiológico, bem como a escassez de pesquisas que visam identificar os aparelhos celulares como fômites na medicina veterinária, inspiraram o presente estudo no ímpeto de investigar a incidência de enterobactérias das espécies *E.coli*, *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae* nos aparelhos celulares da equipe cirúrgica e tutores dos animais, e, ainda, avaliar a potencial contaminação cruzada e caracterizar o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos dos isolados obtidos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi realizado de acordo com as normas internacionais de bem-estar animal após aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Câmpus Jaboticabal/SP (Protocolo número 08283/19).

O Comitê de Pesquisa Clínica e o Comitê de Revisão Institucional Humano aprovaram a metodologia aos membros da equipe cirúrgica e proprietários dos animais (CAE número 17281019.6.0000.5420).

Seleção dos casos

Selecionou-se cinco procedimentos cirúrgicos realizados em pacientes da espécie canina, provenientes da rotina cirúrgica do Hospital Veterinário Universitário da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus Jaboticabal. Foram inclusos no estudo os animais cujo procedimento cirúrgico foi considerado limpo ou limpo-contaminado, segundo a classificação do “Centers for Disease Control and Prevention” de 2017 (Boyle et al, 2018), que não possuísem sinais de infecção pré-existent e que não haviam sido submetidos à terapia antimicrobiana nas 72 horas anteriores ao procedimento. Os procedimentos cirúrgicos incluídos no estudo foram: técnica de sutura fabelo-tibial para correção de insuficiência do ligamento cruzado em cão, técnica de osteotomia de nivelamento do platô tibial (TPLO) para correção de insuficiência do ligamento cruzado em cão, osteossíntese de rádio e ulna em decorrência de fratura em cão, osteossíntese vertebral em decorrência de fratura em vértebra L7 em cão e remoção de nódulo cutâneo em decorrência de neoplasia em cão.

A equipe cirúrgica, composta pelo cirurgião principal, cirurgião auxiliar, anestesista e enfermeiro veterinário, bem como o tutor do paciente só foram admitidos no estudo se não estivessem sob uso de antimicrobianos ou não tivessem feito uso destes em menos de 72 horas antes das coletas.

Preparo cirúrgico

Todos os procedimentos cirúrgicos seguiram os mesmos protocolos anestésicos e de preparação para cirurgia asséptica. Utilizou-se protocolo antimicrobiano perioperatório com o uso da cefazolina (25 mg/kg por via

intravenosa), administrada 30 minutos antes da cirurgia e reaplicada a cada 90 minutos até o termino do procedimento.

Em todos os procedimentos cirúrgicos realizou-se tricotomia ampla da região operatória com máquina de tosa e lâmina 40 apropriadas para uso em animais, em antessala localizada externamente à área limpa do centro cirúrgico, cerca de 30 a 45 minutos antes da indução anestésica. O paciente foi então transferido para o centro cirúrgico onde um enfermeiro veterinário trajando luvas não estéreis realizou a limpeza inicial da pele do paciente de maneira uniforme com gazes estéreis, em movimentos circulares do centro a periferia, utilizando clorexidine a 2% e álcool isopropílico a 70%. Na sala cirúrgica realizou-se antissepsia definitiva da pele utilizando-se técnica estéril com solução de clorexidine alcoólico a 0,5%, também aplicada com gazes estéreis em movimento circulares do centro do campo operatório para a periferia. Terminada a antissepsia do paciente, deu-se procedência ao procedimento cirúrgico com a colocação de campos cirúrgicos estéreis de tal forma que apenas a região a ser manipulada estaria exposta.

Coleta das amostras

Foram coletadas no total 65 amostras, com a utilização de suabe estéril seco, sendo estas: de ambas as mãos dos cirurgiões principais, antes e após a desinfecção das mãos (10 amostras); dos cirurgiões auxiliares antes da desinfecção das mãos (5 amostras); dos médicos veterinários anestesiistas (5 amostras); dos enfermeiros veterinários encarregados do centro cirúrgico (5 amostras); e dos tutores dos pacientes (5 amostras). Coletou-se ainda: amostras dos aparelhos celulares dos acima referidos (25 amostras); amostra da região de subcutâneo no momento prévio à sutura de pele do paciente (5 amostras) e superfície da mesa cirúrgica após o termino do procedimento (5 amostras).

Todas as coletas foram realizadas por um único profissional de maneira asséptica, com este apropriadamente vestido, trajando gorro, máscara e luvas estéreis que eram trocadas a cada coleta. As amostras da equipe cirúrgica foram

coletadas dentro do centro cirúrgico e as amostras referentes ao tutor foram colhidas dentro de um consultório, anexo ao bloco cirúrgico.

Para obtenção das amostras, os suabes eram friccionados com movimentos giratórios, repetindo-se três vezes o procedimento em cada região. Das mãos colhia-se amostras da região dos punhos até a ponta dos dedos (dorso e palma da mão). Nos aparelhos celulares, colhia-se da superfície frontal, das laterais e traseira dos aparelhos celulares; da ferida colheu-se em toda extensão de exposição de subcutâneo; e da mesa cirúrgica, ao longo de toda sua extensão (Figura 1).



Figura 1. Coleta das amostras através de suabe estéril. A) região ventral da mão; B) região dorsal da mão; C) frente do aparelho celular; D) região traseira do aparelho celular.

Após coleta cada suabe foi transferido para um tubo de ensaio contendo 3 mL de caldo “Brain Heart Infusion” (BHI) previamente preparado e esterilizado,

foram acondicionados em caixas isotérmicas com gelo e transportados até o Laboratório de Bacteriologia da FCAV-UNESP de Jaboticabal para a realização dos demais procedimentos.

Identificação bacteriana

As amostras foram então incubadas em estufa a 37°C por 18 horas. Após a incubação inicial as amostras foram semeadas por esgotamento em placas de Petri contendo meio Ágar MacConkey, meio este seletivo para bactérias gram negativas, e novamente incubadas em estufa a 37°C por 24 horas.

Após este período era observado o crescimento ou não de colônias bacterianas nas placas e no caso de crescimento positivo, uma amostra de colônia era coletada e transferida para um microtubo contendo BHI (Figura 2).

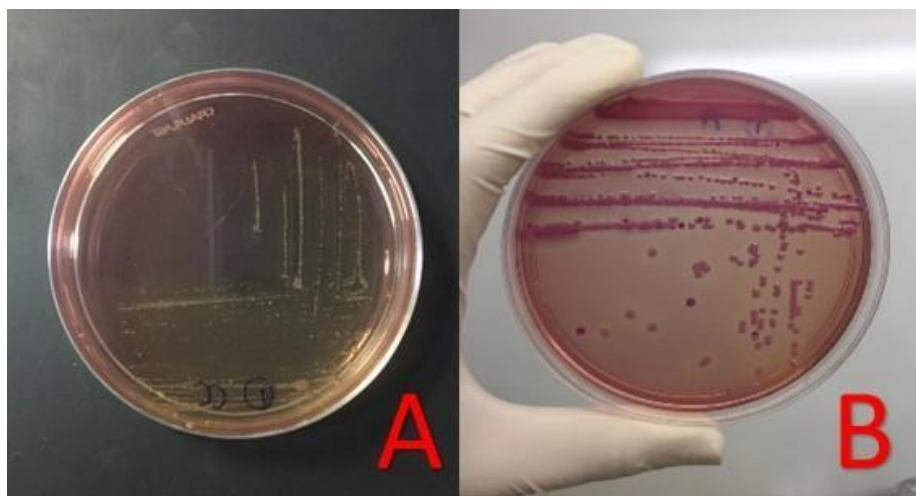


Figura 2. Amostras de colônias em meio ágar MacConkey. A) Celular do cirurgião; B) Mão do anestesiista.

Após a coleta das colônias foram realizados os procedimentos para a realização da identificação bacteriana por meio da Reação em cadeia de polimerase (PCR). Iniciou-se com o processo de extração do DNA, técnica esta que permite a manutenção apenas do DNA bacteriano, sendo realizada por meio da modificação da técnica proposta por Keskimäki e colaboradores (2001).

Nesta técnica, 1 mL da cultura foi transferida para um microtubo e centrifugada a 15.000 rpm por 2 minutos para a precipitação das células e descarte do sobrenadante. As células precipitadas foram ressuspensas em 1 mL de tampão fosfato salino (PBS) e agitadas em vortex por 30 segundos. A cultura bacteriana foi novamente precipitada por centrifugação e o processo de lavagem repetido, dessa vez com 500 µL de água ultrapura Milli-Q (Millipore Corporation, EUA) estéril. Após essa lavagem, o microtubo contendo a cultura foi colocado por 10 minutos em água fervente. Após esse período, as células foram precipitadas através de centrifugação a 14.000 rpm durante 2 minutos. O produto oriundo dessa preparação foi utilizado para a realização da PCR para a detecção das bactérias propostas. Juntamente com a etapa de extração do DNA, todas as amostras coletadas foram armazenadas em freezer -80°C, em tubos contendo 750 µL de glicerol e 750µL do caldo BHI coma cultura de bactérias para posteriores análises ou projetos futuros.

Após a extração, o isolamento bacteriano de *E.coli*, *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae* foi realizado conforme o procedimento do protocolo do Reference Laboratory for *Escherichia coli*, (EcL), da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Montreal, realizada e validada por diversos autores (Beraldo et al, 2014; Cardozo et al, 2018).

Para detecção de *E.coli*, *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae* uma alíquota de DNA (4 µL) foi acrescentada à mistura contendo 0,4 µL de dNTP (10 mM), 2 µL de solução tampão 10X (100 mM Tris-HCl, 500 mM KCl, 0.8% Nonidet P40), 1.6 µL de 25 mM MgCl₂, 0.8 µL de cada primer 10 pM, e uma unidade de Taq DNA polimerase (Fermentas, Europe). Água MilliQ então foi adicionada até completar o volume total de 20µL. Os ciclos consistiram de um estágio inicial a 95°C por 2 minutos, seguidos de 25 ciclos, cada um contendo desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento descrito a seguir por 30 segundos, e extensão a 72°C por 30 segundos. O ciclo de extensão final foi a 72°C por 7 minutos.

Os primers de *E.coli*, *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae* consistiram dos trabalhos de Maheuxa et al. (2009), Zhang et al. (2013) e Turton et al. (2010), respectivamente.

Após cada PCR, foi acrescentado 5µL de corante de front (0,25% azul de bromofenol em 50% de glicerol) no produto da reação e aplicado marcador molecular de 100 pb DNA Ladder (Invitrogen, EUA) em um gel de agarose a 1,5% contendo brometo de etídio (1µg/mL) em tampão Tris-Borato-EDTA (TEB) e separados por eletroforese (70V/1h). Os produtos de amplificação foram visualizados por exposição do gel em luz UV e fotografados.

Teste de suscetibilidade aos antimicrobianos

Após a confirmação das amostras positivas, os isolados avaliados foram repicados em tubo contendo 3 mL de caldo BHI e incubados a 37°C até atingir o padrão 0,5 de MacFarland. Após a incubação, a cultura foi semeada com o auxílio de cotonete estéril em ágar Mueller-Hinton 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 (Figura 3).

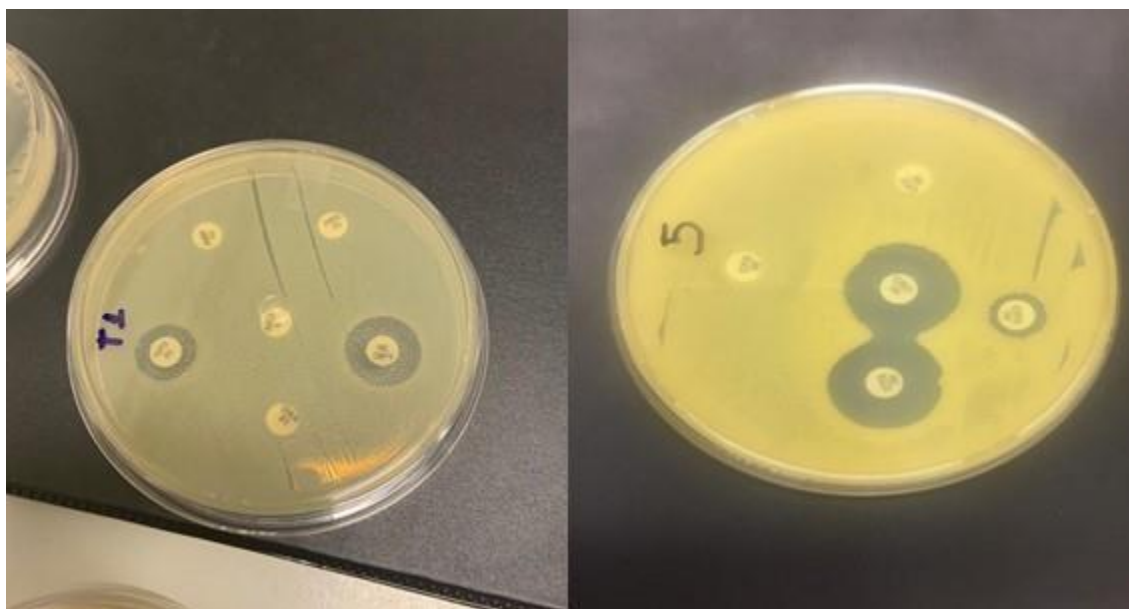


Figura 3. Placa de antibiograma contendo colônia de *E. coli* e os discos de antibiótico, demonstrando resistência (ausência de halo) ou sensibilidade aos antimicrobianos escolhidos.

A determinação dos antimicrobianos escolhidos baseou-se nos principais fármacos antimicrobianos utilizados na rotina clínica e cirúrgica e foram: ampicilina (10µg), ampicilina/sulbactam (20µg), amoxicilina (20µg), amoxicilina com ácido clavulânico (10µg), oxacilina (1µg), gentamicina (10µg), amicacina (30µg), enrofloxacina (5µg), ciprofloxacina (5µg), norfloxacina (10µg), levofloxacina (5µg), cefalexina (30µg), cefazolina (30µg), cefoxitina (30µg), ceftriaxona (30µg), cloranfenicol (30µg), tetraciclina (30µg), sulfametoxazol + trimetoprim (25µg), azitromicina (15µg), eritromicina (15µg), clindamicina (2µg), imipenem (10µg), ceftazidima (30µg), cefotaxima (30µg), cefepime (30µg), teicoplanina (30µg) e piperacilina + tazobactam (110µg). Os diâmetros dos discos seguiram as diretrizes de acordo com o proposto pelo CLSI (2018).

Eletroforese Em Gel De Campo Pulsado

Os isolados foram caracterizados pelo protocolo padrão de eletroforese em gel de campo pulsado da PulseNet, conforme descrito por Ribot et al. (2006) com pequenas modificações. O sistema utilizado foi o CHEF DR-III (Bio-Rad, EUA), sendo o DNA cromossomal digerido com a enzima XbaI (Invitrogen, EUA) e a eletroforese realizada em gel de agarose Pulsifield Certified 1% (Bio-Rad, EUA), com voltagem de 6V cm⁻¹, em um ângulo de 120°, com tempo inicial de mudança de polaridade de 2.2 segundos e tempo final de mudança de polaridade de 54.2 segundos. A estirpe *Salmonella* Braenderup (H9812) foi utilizada como padrão e os géis submetidos à eletroforese por 21h a uma temperatura de 14°C. As semelhanças de fragmentos foram comparadas utilizando-se o coeficiente de Dice a 1% de tolerância e 0,5% de otimização. O dendrograma foi calculado com o método de agrupamento Neighbor Joining, utilizando o Software BioNumerics, versão 7.1 (Matemática Aplicada, Sint-Martens-Latem, Bélgica) (Figura 4).

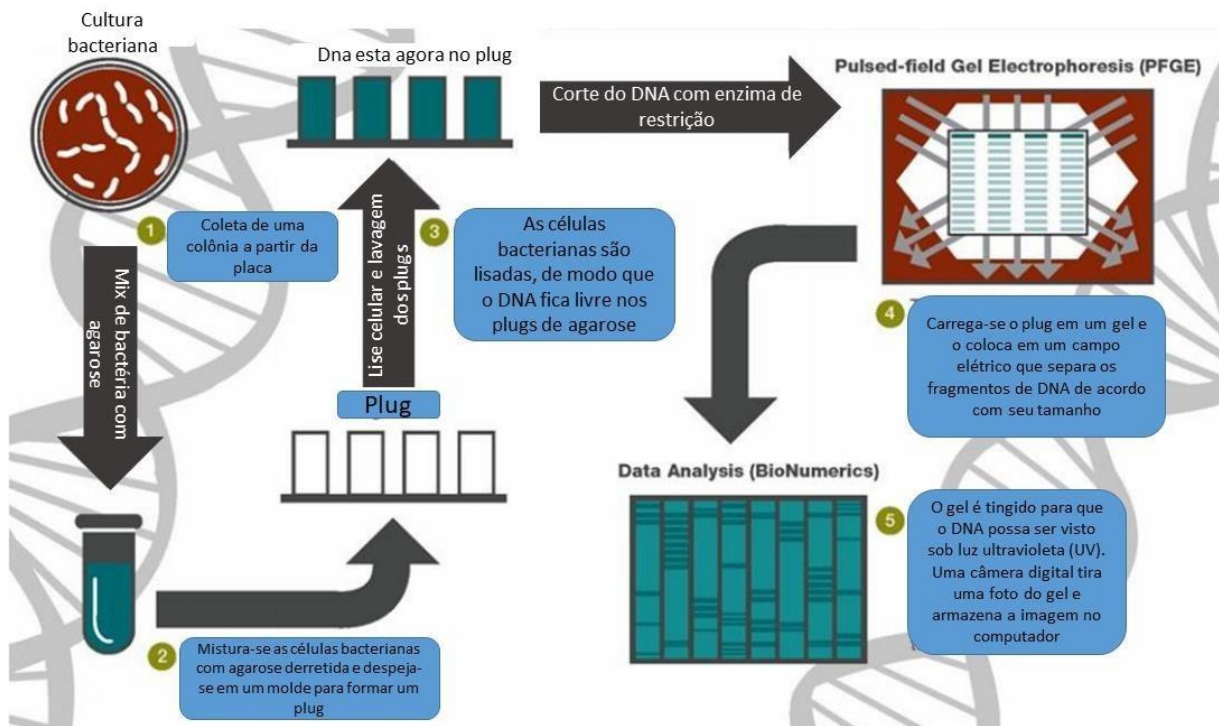


Figura 4. Esquema exemplificando as etapas da realização da Eletroforese em gel de campo pulsado. Adaptado de Association of Food and Drug Officials (<https://www.afdo.org/wp-content/uploads/2020/08/food-1530-sauders-gennext.pdf>)

Acompanhamento dos casos

Todos os cães foram acompanhados por um período mínimo de quatro semanas. As suturas de pele foram removidas com duas semanas de pós-operatório e as feridas cirúrgicas avaliadas quanto a hiperemia, edema, sensibilidade dolorosa, drenagem de secreção serosa e/ou purulenta, deiscência da sutura, abscesso e fistulações. Quando observado três ou mais dos sinais citados anteriormente ou na presença de secreção purulenta, a ferida era submetida a cultura bacteriológica (Eugster et al., 2004).

RESULTADOS

Foram isolados por meio do PCR oito microrganismos, sendo que, 7 amostras (7/65) foram positivas para *Escherichia.coli* (mão do anestesta, mão do

tutor, mão do cirurgião antes da desinquinação, celular do cirurgião, celular do enfermeiro e 2 mesas cirúrgicas) e 1 amostra positiva (1/65) para *Proteus mirabilis* (celular do anestesista) (Figura 5).

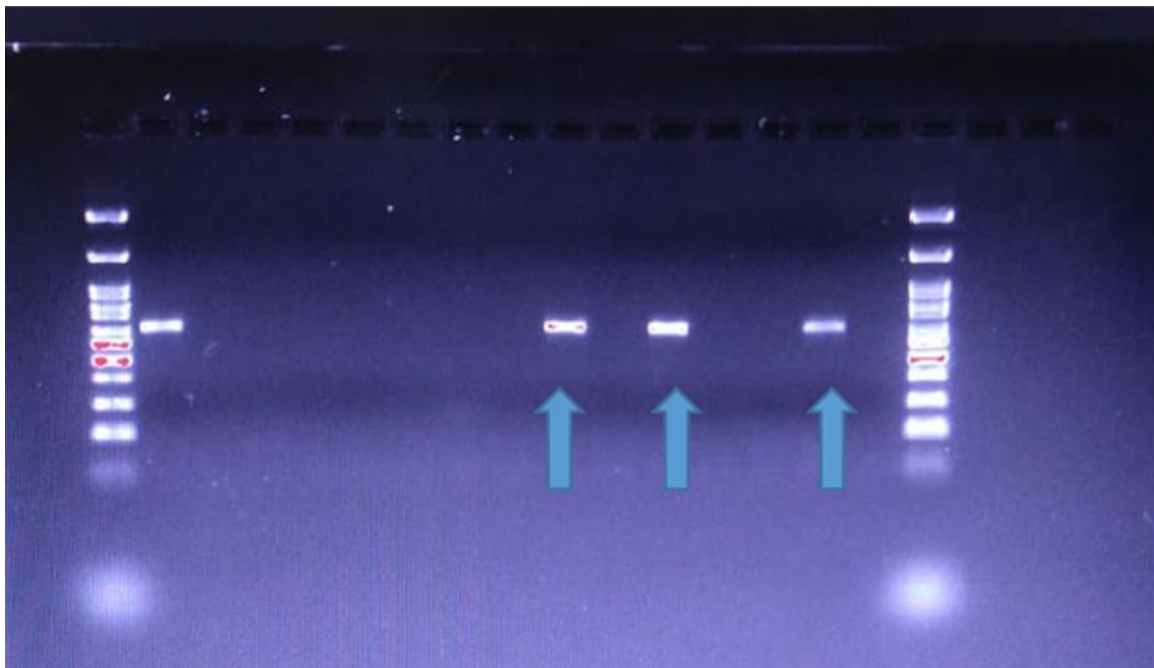


Figura 5. Eletroforese em gel de agarose a 1% referente às amostras testadas para *E. coli*. Primeira e última canaleta: marcador molecular; segunda canaleta: controle positivo; penúltima canaleta: controle negativo. Neste caso nota-se positivas as amostras correspondentes a mão do anestesista, mão do tutor e mesa (setas).

Considerando apenas os aparelhos celulares, alvo de nosso estudo, obtivemos 3 amostras positivas de um total de 25 amostras, sendo, portanto, que 12% dos aparelhos celulares estavam contaminados por bactérias patogênicas.

A eletroforese de campo pulsado foi realizada apenas dos isolados de *E. coli*, pois foi obtido apenas um isolado de *P. mirabilis*, o que impede a realização de uma análise comparativa. O PFGE mostrou que os sete isolados de *E.coli* são heterogêneos entre si, com uma similaridade inferior a 70%, o que indica que não houve contaminação cruzada entre as amostras analisadas (Figura 6).

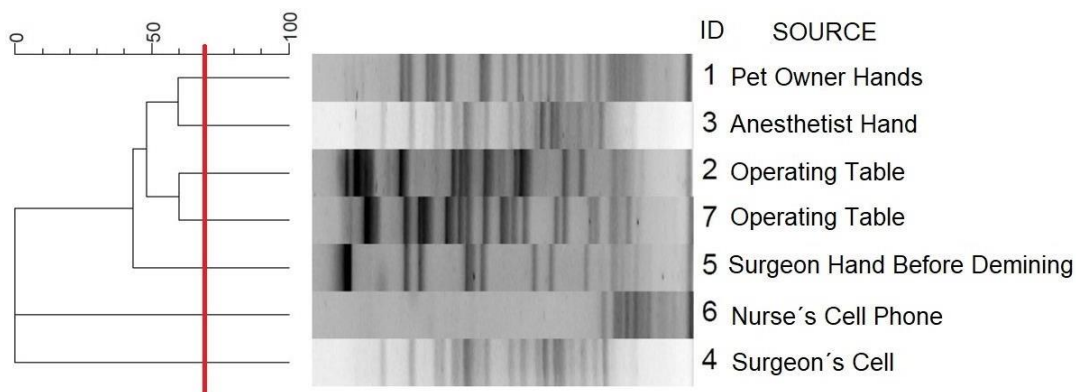


Figura 6. O dendrograma obtido através do PFGE de isolados de *E.coli*. Note que a similaridade entre as amostras é inferior a 70 % (traço vermelho), indicando que não há qualquer parentesco entre elas.

No teste de susceptibilidade aos antimicrobianos obteve-se todos os 8 isolados resistentes à múltiplas drogas, assim classificados pois se mostraram resistentes a três ou mais classes de antimicrobianos (Magiorakos et al., 2012) (Tabela 1).

Durante o acompanhamento dos pacientes ao longo das 4 semanas não foram observados sinais sugestivos de infecção cirúrgica nas feridas dos pacientes, assim como não houve nenhuma intercorrência pós-operatória que demandasse reintervenção cirúrgica.

Tabela 1. Análise de resistência as classes de antimicrobianos baseado no CLSI, 2018. R: resistente; quadro vazio: sensível; amostra 1: mão do anestesta; amostra 2: mão do tutor; amostra 3: mão do cirurgião antes da desinqueação; amostra 4 e amostra 5: mesas cirúrgicas; amostra 6: celular do cirurgião; amostra 7: celular do enfermeiro; amostra 8: celular do anestesta. AMI: amicacina; GEN: gentamicina; AMO: amoxicilina; AMC: amoxicilina com clavulanato; AMP: ampicilina; APS: ampicilina com sulbactam; CFE: cefalexina; CFZ: cefazolina; CPM: cefepime; CTX: cefotaxima; CFO: cefoxitina; CAZ: ceftazidima; CRO: ceftriaxona; IPM: imipenem; PIT: piperacilina + tazobactam; OXA: oxaciclina; AZI: azitromicina; ERI: eritromicina; CIP: ciprofloxacina; ENO: enrofloxacina; LEV: levofloxacina; NOR: norfloxacina; CLO: cloranfenicol; TET: tetraciclina; CLI: clindamicina; SUT: sulfametazol+trimetoprim; TEC: teicoplanina.

	AMINOGLICOSIDEOS		BETA LACTAMICOS													MACROLIDEOS		QUINOLONAS					ANFENICOIS	TETRACLINAS	LINCOSAMIDAS	SULFONAMIDAS	GLICOPEPTIDEOS
AMOSTRAS	AMI	GEN	AMO	AMC	AMP	APS	CFE	CFZ	CPM	CTX	CFO	CAZ	CRO	IPM	PIT	OXA	AZI	ERI	CIP	ENO	LEV	NOR	CLO	TET	CLI	SUT	TEC
1			R		R	R	R	R	R					R		R		R	R	R	R	R		R	R		R
2			R	R	R	R		R	R							R		R						R	R	R	R
3			R	R	R		R	R	R	R	R	R	R			R		R				R	R		R	R	R
4			R	R	R	R		R	R							R	R	R	R	R	R	R		R	R	R	R
5			R	R	R			R	R	R	R	R	R			R		R					R	R	R		R
6			R		R	R	R	R		R	R	R	R			R		R					R	R	R		R
7			R	R	R		R	R	R	R	R	R	R			R		R					R		R		R
8		R	R	R	R		R	R		R	R	R	R			R		R		R		R	R		R		R

DISCUSSÃO

O grande desafio nas infecções nosocomiais é a interrupção da ponte de transmissão entre a fonte e o hospedeiro susceptível (Detels et al, 2015). Neste contexto, os profissionais da saúde representam a fonte mais importante (Calfee, 2012). Apesar da higienização das mãos ter sido objeto maior de estudos da transmissão e prevenção de infecção nosocomiais nas últimas décadas (Fung e Cairncross, 2007; Rutala e Weber, 2016), os fômites pessoais de uso cotidiano vem ganhando destaque, especialmente os aparelhos eletrônicos de uso portátil. Estes objetos representam importante via de carreamento de microrganismos entre o ambiente externo e o hospitalar (Collins, 2020). Acredita-se que 5 a 21% dos telefones celulares pertencentes aos profissionais da saúde são reservatórios de bactérias altamente susceptíveis a causar infecção nosocomial (Jeske et al, 2007; Brady et al, 2006; Brady et al, 2009a; Brady et al, 2009b; Ulger et al, 2009; Sadat-Ali et al, 2010). A grande maioria dos estudos com foco no entendimento do papel dos aparelhos celulares na infecção nosocomial foi realizado em hospitais humanos com enfoque direto à saúde humana (Brady et al, 2006; Ramesh et al, 2008; Tagoe et al, 2011; Julian et al, 2012). Com inspiração na importância de se entender tal dinâmica na medicina veterinária e transpor enfoque para a saúde animal, desenvolveu-se esta pesquisa.

Todos os profissionais da saúde que estavam presentes nos procedimentos possuíam aparelho celular e portavam o aparelho consigo dentro e fora do ambiente cirúrgico, em contato com outros pacientes e com o ambiente hospitalar. Estudos anteriores já evidenciaram que 98% dos trabalhadores de saúde possuem um aparelho celular, e 84,5% o trazem para o ambiente profissional todos os dias; e mais do que isto, estes aparelhos já estão alocados em locais críticos do ambiente hospitalar, como o centro cirúrgico (Brady et al, 2006). Gunasekara e colaboradores (2015) afirmaram que 95% dos profissionais entram em contato direto com o aparelho celular no centro cirúrgico e 78% o utilizam pelo menos uma vez durante o procedimento cirúrgico, o que traz grande preocupação quando baseamos a possibilidade deste objeto se comportar como um fômite para infecções nosocomiais. Por outro lado, não se deve desconsiderar os benefícios que os aparelhos celulares trouxeram do ponto de vista técnico ao avanço da medicina.

Neste estudo foi possível isolar *E.coli* dos aparelhos celulares do cirurgião e enfermeiro veterinário e *Proteus mirabilis* do aparelho celular do anestesista, além também de *E.coli* das mãos do anestesista e do cirurgião. Estas bactérias pertencem à família das *Enterobacteriaceae* e são colonizadoras do trato gastrointestinal (Donaldson et al, 2016) , por isso sua presença nos aparelhos celulares e nas mãos são indicadoras de contaminação ambiental, fato ainda mais agravado, por terem sido isoladas dentro do centro cirúrgico e em profissionais relacionados diretamente ao ato operatório, potencializando ainda mais o risco potencial de transmissão destas bactérias entre objetos, como cateteres e sondas e até mesmo a possibilidade de transmissão direta através do contato com o paciente, já que são bactérias relacionadas diretamente a infecções nosocomiais de difícil tratamento na medicina veterinária (Normand et al, 2000). E mesmo que à primeira vista pareça que o número de isolamentos bacterianos que se obteve nos aparelhos celulares tenha sido baixo, este valor corrobora com o descrito em literatura de cerca de 8 a 12% de *E.coli* e *Proteus Mirabilis* encontrados em aparelhos celulares (Tagoe et al, 2011; Roy et al, 2013).

Apesar desse estudo não correlacionar os isolados das mãos dos proprietários aos de seus aparelhos celulares, estudos anteriores relataram esta correlação (Meadow et al, 2014), e seus resultados confluíram para a necessidade de melhorias na higienização de ambos. Apesar das diferenças metodológicas e dos resultados, nossa pesquisa sustenta a mesma recomendação. Controversamente, a taxa de cumprimento de higiene das mãos pelos profissionais da saúde humana permanece abaixo de 50% (Mcguckin et al, 2009) e não há evidências sugerindo melhor adesão por parte dos médicos veterinários, e assim como as mãos, a limpeza regular dos aparelhos celulares tem números ainda mais alarmantes, sendo realizado por cerca de 8% a 29% das profissionais (Singh et al, 2010; Brady et al, 2012).

Um segundo fato agravante ao isolamento destas bactérias nesta pesquisa foi que estas também se mostraram resistente a múltiplas drogas. A resistência antimicrobiana é tópico mundial de discussão nas últimas décadas, devido seu alto impacto na saúde pública e retrata enorme preocupação quanto à manutenção destas bactérias em fômites no interior do centro cirúrgico, bem como sua eventual disseminação a pacientes geriátricos, oncológicos, com doenças crônicas ou

imunocomprometidos (Cheadle, 2006; Turk et al, 2015), principalmente durante o ato operatório em que há a manipulação de tecidos profundos, acessos venosos periféricos e centrais e da própria ferida cirúrgica.

Ainda dentre as bactérias multirresistentes, as enterobactérias produtoras de beta-lactamase de espectro ampliado (ESBL) são motivo de grande preocupação a comunidade médica e suspeita-se de sua existência quando a *Enterobacteriaceae* mostrar resistência a pelo menos uma das cefalosporinas de terceira geração recomendadas para demonstração de ESBL (cefepodoxime, ceftazidima e cefotaxima) e sua confirmação se dá através da identificação de genes específicos pelo PCR (Jessen et al, 2019). Neste estudo os 3 isolados nos aparelhos celulares eram resistentes a ceftazidima e a cefotaxima demonstrando grandes suspeitas quanto a serem ESBL, bactérias de potencial desenvolvimento de infecção cruzada e surtos de infecções nosocomiais graves e de difícil tratamento.

A cefazolina é uma cefalosporina de primeira geração e atua, dentre outras, sobre a *E.coli* e o *Proteus mirabilis*, alvos da presente pesquisa. Devido seu espectro de ação, baixa toxicidade e custo, seu uso tem sido recomendado pela literatura como fármaco profilático ideal em cães e gatos submetidos a cirurgia (Gonzalez et al, 2019). Observou-se a resistência bacteriana a este antimicrobiano em todas as amostras isoladas em nosso estudo, fato preocupante, uma vez que a terapia profilática é parte fundamental na redução da carga microbiana e do risco de contaminação intra-operatória, por isso outros fatores podem ter confluído para não termos isolado nenhuma bactéria na ferida cirúrgica ou que nenhum de nossos pacientes tenham desenvolvido sinais de infecção no período de acompanhamento pós-operatório, como a correta antissepsia realizada pelos cirurgiões e a realizada no paciente. Apesar de termos isolado *E.coli* das mãos de um cirurgião antes da desinfecção, não foi comprovada sua permanência após as manobras de antissepsia. Além disso, o status imunológico do paciente e o tempo cirúrgico podem também colaborar para a ausência de contaminação e infecção nos pacientes (Cheadle, 2006; Burgess, 2019).

Infelizmente a maior parte das bactérias multirresistentes encontradas em hospitais veterinários também é transmissível aos seres humanos e podem ser subsequentemente transferidas para a comunidade através de pessoas, animais e

objetos colonizados (King et al, 2018). A China já lida com problemas graves quanto a genes de resistência a antibióticos amplamente distribuídos em águas superficiais, efluentes de estações de tratamento de esgoto, solos e resíduos de animais (Qiao et al, 2018), demonstrando a necessidade de mitigarmos a disseminação da resistência bacteriana a fim de evitar uma crise de saúde pública maior do que a que já vimos enfrentando nas últimas décadas.

O tamanho da amostragem neste estudo pode ser considerado a principal limitação do estudo, entretanto acredita-se não ter interferido nos resultados encontrados. Adicionalmente, mais estudos são necessários para verificar a importância dos resultados isolados nos aparelhos celulares para a disseminação da doença entre os profissionais e os pacientes, já que não foi possível confirmar a hipótese mediante este trabalho.

Os isolados de *E. coli* e *Proteus mirabilis* multirresistentes colonizando a equipe cirúrgica e seus aparelhos celulares fundamentam preocupações quanto a capacidade de transmissão de patógenos a pacientes por parte destes objetos. Mesmo que a implicação na disseminação da infecção hospitalar permaneça não comprovada, devemos levar em conta a presença massiva dos aparelhos celulares inseridos no ambiente hospitalar, podendo tornar-se uma das principais fontes exógenas de infecções nosocomiais a pacientes susceptíveis, principalmente no ambiente cirúrgico.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores desse estudo declaram que não houve conflitos de interesses.

FINANCIAMENTO

Projeto financiado através do processo nº 2019/14382-9 pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

REFERÊNCIAS

- Aronson, S. H. (1977). The Lancet on the telephone 1876–1975. *Medical history*, 21(1), 69-87.
- Beraldo, L. G., Borges, C. A., Maluta, R. P., Cardozo, M. V., Rigobelo, E. C., & de Ávila, F. A. (2014). Detection of Shiga toxigenic (STEC) and enteropathogenic (EPEC) *Escherichia coli* in dairy buffalo. *Veterinary microbiology*, 170(1-2), 162-166.

Boyle, K. K., Rachala, S., & Nodzo, S. R. (2018). Centers for Disease Control and Prevention 2017 guidelines for prevention of surgical site infections: review and relevant recommendations. *Current reviews in musculoskeletal medicine*, 11(3), 357-369.

Brady, R. R. W., Wasson, A., Stirling, I., McAllister, C., & Damani, N. N. (2006). Is your phone bugged? The incidence of bacteria known to cause nosocomial infection on healthcare workers' mobile phones. *Journal of Hospital Infection*, 62(1), 123-125.

Brady, R. R., McDermott, C., Fraise, A. P., Verran, J., & Gibb, A. P. (2009 a). Healthcare workers' mobile phones are rarely contaminated by MRSA in the non-clinical environment. *Journal of Hospital Infection*, 72(4), 373-374.

Brady, R. R., Verran, J., Damani, N. N., & Gibb, A. P. (2009 b). Review of mobile communication devices as potential reservoirs of nosocomial pathogens. *Journal of Hospital Infection*, 71(4), 295-300.

Brady, R. R., Chitnis, S., Stewart, R. W., Graham, C., Yalamarthy, S., & Morris, K. (2012). NHS connecting for health: healthcare professionals, mobile technology, and infection control. *Telemedicine and e-Health*, 18(4), 289-291.

Burgess, B. A. (2019). Prevention and surveillance of surgical infections: A review. *Veterinary Surgery*, 48(3), 284-290.

Calfee, D. P. (2012). Crisis in hospital-acquired, healthcare-associated infections. *Annual review of medicine*, 63, 359-371.

Cardozo, M. V., Borges, C. A., Beraldo, L. G., Maluta, R. P., Pollo, A. S., Borzi, M. M., ... & Ávila, F. A. D. (2018). Shigatoxigenic and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* in fish for human consumption. *Brazilian Journal Of Microbiology*, 49(4), 936-941.

Centers for Disease Control and Prevention. Preventing 2019-nCoV from spreading to others. Available: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/guidance-prevent-spread>.

Cheadle, W. G. (2006). Risk factors for surgical site infection. *Surgical infections*, 7(S1), s7-s11.

CLSI. Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. (2018). 28^a edição. *CLSI supplement M100*. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute.

Collins, A.S. (2020). Preventing health care–associated infections. In: Patient safety and quality: an evidence-based Handbook for nurses. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2683/>

Detels R, Gulliford M, Karim QA. (2015). Oxford textbook of global public health. Oxford, UK: Oxford University Press, 2015.

Donaldson, G. P., Lee, S. M., & Mazmanian, S. K. (2016). Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nature Reviews Microbiology*, 14(1), 20-32.

Eugster, S., Schawalder, P., Gaschen, F., & Boerlin, P. (2004). A prospective study of postoperative surgical site infections in dogs and cats. *Veterinary surgery*, 33(5), 542-550.

Fung, I. C. H., & Cairncross, S. (2007). How often do you wash your hands? A review of studies of hand-washing practices in the community during and after the SARS outbreak in 2003. *International journal of environmental health research*, 17(3), 161-183.

Gonzalez, O. J., Renberg, W. C., Roush, J. K., KuKanich, B., & Warner, M. (2017). Pharmacokinetics of cefazolin for prophylactic administration to dogs. *American journal of veterinary research*, 78(6), 695-701.

Gunasekara, T. D. C. P., Kudavidanage, B. P., Peelawattage, M. K., Meedin, F., Guruge, L. D., Nanayakkara, G., ... & Fernando, S. S. N. (2015). Bacterial contamination of anaesthetists hands, personal mobile phones and wrist watches used during theatre sessions. . *Sri Lankan Journal of Anaesthesiology*. v. 17, n. 1, p. 11-15.

Jeske, H. C., Tiefenthaler, W., Hohlrieder, M., Hinterberger, G., & Benzer, A. (2007). Bacterial contamination of anaesthetists' hands by personal mobile phone and fixed phone use in the operating theatre. *Anaesthesia*, 62(9), 904-906.

Jessen, L. R., Damborg, P., Spohr, A., Sørensen, T., Langhorn, R., Goericke-Pesch, S., ... & Guardabassi, L. (2019). Antibiotic use guidelines for companion animal practice. The Danish Small Animal Veterinary Association. 2, 22-23.

Julian, T., Singh, A., Rousseau, J., & Weese, J. S. (2012). Methicillin-resistant staphylococcal contamination of cellular phones of personnel in a veterinary teaching hospital. *BMC research notes*, 5(1), 1-5.

Keskimäki, M., Eklund, M., Pesonen, H., Heiskanen, T., & Siitonen, A. (2001). EPEC, EAEC and STEC in stool specimens: prevalence and molecular epidemiology of isolates. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 40(4), 151-156.

King, C., Smith, M., Currie, K., Dickson, A., Smith, F., Davis, M., & Flowers, P. (2018). Exploring the behavioural drivers of veterinary surgeon antibiotic prescribing: a qualitative study of companion animal veterinary surgeons in the UK. *BMC veterinary research*, 14(1), 1-9.

Kollef, M. H., Torres, A., Shorr, A. F., Martin-Loeches, I., & Micek, S. T. (2021). Nosocomial Infection. *Critical Care Medicine*, 49(2), 169-187.

Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. T., Carmeli, Y., Falagas, M. T., Giske, C. T., ... & Monnet, D. T. (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.

Maheuxa, A.F et al. Analytical comparison of nine PCR primer sets designed to detect the presence of *Escherichia coli*/*Shigella* in water samples. *Water Research*, 43, 3018-3028, 2009.

- McGuckin, M., Waterman, R., & Govednik, J. (2009). Hand hygiene compliance rates in the United States—a one-year multicenter collaboration using product/volume usage measurement and feedback. *American Journal of Medical Quality*, 24(3), 205-213.
- Meadow, J. F., Altrichter, A. E., & Green, J. L. (2014). Mobile phones carry the personal microbiome of their owners. *PeerJ*, 2, e447.
- Morley, P. S. (2004). Surveillance for nosocomial infections in veterinary hospitals. *Veterinary Clinics: Equine Practice*, 20(3), 561-576.
- Morvai, J., & Szabó, R. (2015). The role of mobile communication devices in the spread of infections. *Orvosi hetilap*, 156(20), 802-807.
- Normand, E. H., Gibson, N. R., Carmichael, S., Reid, S. W. J., & Taylor, D. J. (2000). Trends of antimicrobial resistance in bacterial isolates from a small animal referral hospital. *Veterinary Record*, 146(6), 151-155.
- Perez, F., Hujer, A. M., Hujer, K. M., Decker, B. K., Rather, P. N., & Bonomo, R. A. (2007). Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(10), 3471-3484.
- Qiao, M., Ying, G. G., Singer, A. C., & Zhu, Y. G. (2018). Review of antibiotic resistance in China and its environment. *Environment international*, 110, 160-172.
- Ramesh, J., Carter, A. O., Campbell, M. H., Gibbons, N., Powlett, C., Moseley Sr & Carter, T. (2008). Use of mobile phones by medical staff at Queen Elizabeth Hospital, Barbados: evidence for both benefit and harm. *Journal of Hospital Infection*, 70(2), 160-165.
- Roy, S. S., Misra, S. S., & Willayat, M. M. (2013). Isolation and identification of bacteria of public health importance from mobile phones of fish and animal handlers of Kashmir, India. **African Journal of Microbiology Research**, 7(21), 2601-2607.
- Rutala, W. A., & Weber, D. J. (2016). Disinfection, sterilization, and antisepsis: An overview. *American journal of infection control*, 44(5), e1-e6.
- Sadat-Ali, M., Al-Omran, A. K., Azam, Q., Bukari, H., Al-Zahrani, A. J., Al-Turki, R. A., & Al-Omran, A. S. (2010). Bacterial flora on cell phones of health care providers in a teaching institution. *American journal of infection control*, 38(5), 404-405.
- Sanchez, S., Stevenson, M. M., Hudson, C. R., Maier, M., Buffington, T., Dam, Q., & Maurer, J. J. (2002). Characterization of multidrug-resistant *Escherichia coli* isolates associated with nosocomial infections in dogs. *Journal of clinical microbiology*, 40(10), 3586-3595.
- Singh, S., Acharya, S., Bhat, M., Rao, S. K., & Pentapati, K. C. (2010). Mobile phone hygiene: potential risks posed by use in the clinics of an Indian dental school. *Journal of Dental Education*, 74(10), 1153-1158.
- Sprague, L. I. S. A. (2009). Health care-associated infections: is there an end in sight? *National Health Policy Forum*.2009; 830:1-14.
- Tagoe, D. N., Gyande, V. K., & Ansah, E. O. (2011). Bacterial contamination of mobile phones: When your mobile phone could transmit more than just a call. *Webmedcentral microbiology*. 2(10):WMC002294

- Turk, R., Singh, A., & Weese, J. S. (2015). Prospective surgical site infection surveillance in dogs. *Veterinary Surgery*, 44(1), 2-8.
- Turton, J. F., Perry, C., Elgohari, S., & Hampton, C. V. (2010). PCR characterization and typing of *Klebsiella pneumoniae* using capsular type-specific, variable number tandem repeat and virulence gene targets. *Journal of medical microbiology*, 59(5), 541-547.
- Ulger, F., Esen, S., Dilek, A., Yanik, K., Gunaydin, M., & Leblebicioglu, H. (2009). Are we aware how contaminated our mobile phones with nosocomial pathogens?. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 8(1), 1-4.
- Willemsen, A., Cobbold, R., Gibson, J., Wilks, K., Lawler, S., & Reid, S. (2019). Infection control practices employed within small animal veterinary practices—A systematic review. *Zoonoses and public health*, 66(5), 439-457.
- Zhang, W., Niu, Z., Yin, K., Liu, P., & Chen, L. (2013). Quick identification and quantification of *Proteus mirabilis* by polymerase chain reaction (PCR) assays. *Annals of microbiology*, 63(2), 683-689.

CAPÍTULO 3 – Considerações finais

O intuito do estudo em questão foi avaliar o potencial dos aparelhos celulares como fômites a bactérias patogênicas dentro do ambiente cirúrgico, em um hospital veterinário. Esta questão se torna relevante a cada dia, uma vez que os aparelhos celulares são utilizados com cada vez mais frequência no ambiente hospitalar, devido aos inúmeros recursos de funcionalidade que desempenham.

Já é sabido que estes objetos albergam uma grande variedade de microrganismos e devido suas características físicas, como calor e umidade, podem permitir a proliferação destes microrganismos em sua superfície.

Outra questão bastante importante que deve ser levantada é a respeito da pouca adesão na medicina veterinária a respeito do controle de infecções no ambiente hospitalar. Estratégias simples como a lavagem das mãos após a manipulação de cada paciente ou após a manipulação do aparelho celular podem se tornar efetivas para evitar a transmissão de patógenos entre os animais e os objetos em questão, porém estas medidas simples não são executadas de maneira rotineira no ambiente hospitalar veterinário. A limpeza constante dos aparelhos celulares é menos frequente ainda, o que levanta preocupações quanto a disseminação de patógenos para além do ambiente hospitalar, permitindo carrear bactérias patogênicas, como as multirresistentes que isolamos em nosso estudo, para dentro de ambientes familiares, facilitando o contato com pessoas ou animais imunossuprimidos.

Apesar de não termos conseguido correlacionar diretamente cada patógeno entre si neste estudo, tivemos resultados importantes quanto a presença de bactérias patogênicas nos aparelhos de profissionais essenciais ao ato cirúrgico, momento este que demanda de muito cuidado e por isto a possibilidade de um estudo maior se faz necessário para refutarmos ou confirmarmos de forma definitiva a transmissão dos patógenos alocados nos aparelhos celulares.

ANEXO 1 – Normas do periódico “Acta Veterinaria Hungarica”

https://akjournals.com/fileasset/author-guidelines/AVET_IFA_1.pdf