



UNIVERSIDADE
ESTADUAL de LONDRINA

JULIA VIANA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO BACTERIANA EM
SONDAS ENDOTRAQUEAIS UTILIZADAS NA ANESTESIA
VETERINÁRIA**

Londrina
2025

JULIA VIANA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO BACTERIANA EM
SONDAS ENDOTRAQUEAIS UTILIZADAS NA ANESTESIA
VETERINÁRIA**

Dissertação de mestrado apresentada na
Universidade Estadual de Londrina - UEL, como
requisito parcial para a obtenção do título de
Mestre no Programa de Mestrado Profissional
em Clínicas veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Gerson Nakazato

Londrina - Paraná
2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

O48a Oliveira, Julia Viana de.
 Avaliação de contaminação bacteriana em sondas endotraqueais utilizadas na anestesia veterinária / Julia Viana de Oliveira. - Londrina, 2026.
 52 f. : il.

 Orientador: Gerson Nakazato.
 Dissertação (Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias, 2026.
 Inclui bibliografia.

 1. Patógenos - Tese. 2. Microorganismos - Tese. 3. Antimicrobiano - Tese. 4. Cultura - Tese. I. Nakazato, Gerson. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias. III. Título.

CDU 619

AVALIAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO BACTERIANA EM SONDAS ENDOTRAQUEAIS UTILIZADAS NA ANESTESIA VETERINÁRIA

Dissertação de mestrado apresentada na
Universidade Estadual de Londrina - UEL,
como requisito parcial para a obtenção do
título de Mestre no Programa de Mestrado
Profissional em Clínicas veterinárias.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Gerson Nakazato
Orientador
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Renata K. T. Kobayashi
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Dr. Victor H. Clébis
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 27 de fevereiro de 2025.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer aos meus familiares e amigos que foram minha rede de apoio e suporte nessa jornada.

Aos meus pais, Daniela e Ismar, que sempre torceram por mim. Ao meu namorado Matheus que sempre me apoiou e me incentivou para chegar até aqui. As minhas amigas, Mariane e Rebecca, que estiveram ao meu lado mesmo em dias difíceis. Não seria possível sem vocês.

Ao meu orientador Dr. Gerson Nakazato, por todo conhecimento, paciência e tempo disponibilizado. Obrigada a professora Dra. Renata e Dr. Victor por aceitarem participar da banca.

Também gostaria de agradecer a todos do laboratório de bacteriologia NIP3 que de alguma forma me ajudaram, mas especialmente a Bruna Carolina. Obrigada Bruna por sempre me auxiliar, ensinar e ter paciência, sempre se disponibilizando mesmo com meus horários pouco flexíveis.

Muito obrigada a todos que de alguma forma contribuíram e participaram desse ciclo.

OLIVEIRA, Julia Viana de. **AVALIAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO BACTERIANA EM SONDAS ENDOTRAQUEAIS UTILIZADAS NA ANESTESIA VETERINÁRIA**. 2025. 52 p. Dissertação de mestrado apresentado à Universidade Estadual de Londrina – Programa de Pós-graduação Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias– Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil, 2025.

RESUMO

A presença de bactérias patogênicas em sondas endotraqueais de clínicas de pequenos animais (pet) pode ser uma importante fonte para infecções nesses animais, principalmente se estes microrganismos apresentarem multirresistência aos antimicrobianos convencionais. Dessa forma, a identificação de potenciais patógenos e seu perfil de sensibilidade aos antimicrobianos é fundamental para averiguar se os processos de desinfecção destas sondas estão sendo realizados com eficácia. O presente estudo teve como objetivo avaliar a contaminação bacteriana de sondas endotraqueais (lavadas e não lavadas) utilizadas na anestesia de procedimentos, assim como identificar as bactérias contaminantes e resistentes aos antimicrobianos. Um total de 18 colônias bacterianas foram isoladas em meios de cultura (Ágar Nutriente, Ágar Manitol Salgado e Ágar MacConkey) e identificadas pelos testes bioquímicos como *Enterococcus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Escherichia sp.*, *Proteus sp.* Neste estudo, todas as colônias foram isoladas de sondas endotraqueais não lavadas, enquanto em sondas lavadas não foram obtidas colônias bacterianas após o processamento do material coletado. Os resultados dos ensaios de antibiograma mostraram que os isolados bacterianos apresentaram resistência a alguns antimicrobianos testados, sendo que onze foram considerados multirresistentes (“superbactérias”). A partir dos resultados obtidos durante os diferentes períodos de coletas das sondas, foi elaborado e proposto um protocolo de análise bacteriológica para sondas endotraqueais em animais de clínicas veterinárias. Este estudo demonstrou que é de grande importância a realização da análise bacteriológicas de sondas endotraqueais, para averiguar o potencial risco de infecção oriundas destas sondas, dado os perfis de resistência encontrados nos isolados bacterianos, assim como a eficácia do processo de desinfecção destes dispositivos médicos veterinários.

Palavras-chave: Patógenos; Microrganismos; Antimicrobiano; Cultura.

OLIVEIRA, Julia Viana de. **EVALUATION OF BACTERIAL CONTAMINATION IN ENDOTRACHEAL TUBES USED IN VETERINARY ANESTHESIA**. 2025. 52 p. Master's dissertation presented to the State University of Londrina – Postgraduate Program - Professional Master's Degree in Veterinary Clinics – Center for Agricultural Sciences, State University of Londrina, Londrina, Paraná, Brazil, 2025.

ABSTRACT

The presence of pathogenic bacteria in endotracheal tubes in small animal clinics (pets) can be an important source of infections in these animals, especially if these microorganisms present multidrug resistance to conventional antimicrobials. Therefore, the identification of potential pathogens and their sensitivity profile to antimicrobials is essential to verify whether the disinfection processes of these tubes are being carried out effectively. The objective of this study was to evaluate the bacterial contamination of endotracheal tubes (washed and unwashed) used in anesthesia procedures, identified contaminating and antimicrobial-resistant bacteria. A total of eighteen bacterial colonies were isolated in culture media (Nutrient Agar, Salted Mannitol Agar and MacConkey Agar) and identified by biochemical tests as *Enterococcus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Escherichia sp.*, *Proteus sp.* In this study, all colonies were isolated from unwashed endotracheal tubes, while no bacterial colonies were obtained from washed tubes after cleaning the collected material performing the standard protocol. The results of the antibiogram assays showed that the bacterial isolates presented resistance to some of the tested antimicrobials, being eleven were considered multiresistant ("superbugs"). Based on the results obtained during the different periods of tube collection, a bacteriological analysis protocol for endotracheal tubes in animals from veterinary clinics was developed and proposed. This study demonstrated that it is of great importance to perform bacteriological analysis of endotracheal tubes, to determine the potential risk of infection from these tubes, given the resistance profiles found in bacterial isolates, as well as the effectiveness of the disinfection process of these veterinary medical devices.

Keywords: Pathogens; Microorganisms; Antimicrobial; Culture.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Tipos diferentes de sondas endotraqueais	15
Figura 2 - Sondas endotraqueais armazenadas em bags estéreis antes da análise.	22
Figura 3 - A e B: tubo cônico contendo a amostra e caldo BHI após incubação na estufa a 37°C+/- 2°C por 24h.	23
Figura 4 - Coloração Gram. Aumento de 1000x.....	24
Figura 5 - A: crescimento bacteriano em meio de cultura Ágar MacConckey; B: crescimento bacteriano em meio de cultura Manitol Salgado com fermentação positiva; C: crescimento bacteriano em meio de cultura Manitol salgado com fermentação negativa.....	27
Figura 6 – Meio de cultura Chromoágar com coloração azul, resultado do crescimento de Enterococcus sp.....	31
Figura 7 - A: resultado do teste de coagulase positivo; B: meio de cultura Ágar Sangue, amostras não hemolíticas (isolados de Staphylococcus sp.) + controle.....	31
Figura 8 - A, B, C e D: meio de cultura Chromoágar com coloração branca opaca, marrom, azul metálico e rosa, respectivamente.	32
Figura 9 - Fluxograma para Protocolo de análise de contaminação bacteriana de sondas endotraqueais.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Agentes antimicrobianos utilizados no teste de sensibilidade (amostras Gram positivas).....	26
Tabela 2 - Agentes antimicrobianos utilizados no teste de sensibilidade (amostras Gram negativas).....	26
Tabela 3 - Resultados dos testes do Gram para os isolados bacterianos das sondas endotraqueais de cães obtidas de uma clínica veterinária	28
Tabela 4 - Resultados das amostras Gram negativas resistentes aos antimicrobianos.	34
Tabela 5 - Resultados das amostras de Gram positivas resistentes aos antimicrobianos.....	35

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Resultados dos testes bioquímicos para os isolados bacterianos das sondas endotraqueais de cães obtidas de uma clínica veterinária (amostras Gram negativas).....	29
Quadro 2 - Resultados dos testes bioquímicos para os isolados bacterianos das sondas endotraqueais de cães obtidas de uma clínica veterinária (amostras gênero Staphylococcus)	30
Quadro 3 - Resultado do teste de sensibilidade aos antimicrobianos das amostras de Gram negativos.....	33
Quadro 4 - Resultado do teste de sensibilidade aos antimicrobianos das amostras de Gram positivos.	35
Quadro 5 - Manual de análise de contaminação bacteriana de sondas endotraqueais	38

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS.....	13
2.1 Objetivo Geral.	13
2.2 Objetivos Específicos.	13
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
3.1 Sondas Endotraqueais e Intubação Traqueal.....	14
3.2 Microbiota Oral de Cães.....	16
3.3 Contaminação Bacteriana e Infecção Hospitalar.	17
3.4 Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos (RAM).....	19
4 MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 Amostragem.....	22
4.2 Isolamento Bacteriano.....	23
4.3 Identificação Bacteriana	24
4.4 Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos.	25
5 RESULTADOS	27
5.1 Isolamento Bacteriano.....	27
5.2 Identificação Bacteriana	28
5.3 Resistência aos Antimicrobianos.....	32
5.4 Elaboração de um Protocolo de Análise de Contaminação Bacteriana de Sondas Endotraqueais	36
6 DISCUSSÃO.....	39
7 CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	45

1 INTRODUÇÃO

As sondas ou tubos endotraqueais são utilizados durante procedimentos anestésicos para manter uma via respiratória do paciente (MOSLEY, 2017), pois esse equipamento mantém o funcionamento das vias aéreas enquanto o animal está anestesiado, e facilita a administração de oxigênio e anestésicos inalatórios, além de evitar aspiração de líquidos (THOMAS & LERCHE, 2014). Existem diferentes tipos de tubos que podem ser utilizados, dos quais a maioria é fabricada para pacientes humanos, entretanto também podem ser utilizados em pequenos animais (MOSLEY, 2017).

A intubação traqueal é a introdução da sonda na cavidade oral do animal através da glote até à traqueia, feita para o oxigênio e/ou anestésico inalatório atingir os pulmões (FUDGE, 2023). Esse procedimento é considerado invasivo, levando em consideração que pode favorecer o isolamento de microrganismos no trato respiratório do paciente. Embora seja essencial para um procedimento cirúrgico e anestésico, a intubação pode proporcionar um risco ao paciente (HACKETT, 2003; MARTINS et al., 2004), principalmente devido a microbiota oral de animais ser composta por diversas bactérias, as quais podem causar lesões como gengivites, formação de placas, úlceras, cálculos dentários e doenças periodontais (FRIAS et al., 2018). Além disso, a intubação impede o funcionamento normal dos mecanismos de defesa das vias respiratórias, como o fechamento da glote e a tosse preventiva, favorecendo uma rota de contaminação bacteriana (HACKETT, 2003; MARTINS et al., 2004).

A contaminação bacteriana também pode ocorrer por falha do procedimento de desinfecção dos equipamentos, e consequentemente, pode levar a

uma infecção hospitalar (WEESE, 2012). Essa contaminação pode ocorrer de diversas formas, até mesmo pelas mãos do médico veterinário, portanto, algumas medidas são necessárias para redução dos riscos, como a desinfecção frequente, cuidados com a higiene pessoal e limpeza do ambiente com desinfetantes potentes (FOSSUM, 2019). As infecções podem ser causadas por patógenos endógenos e exógenos. Os endógenos habitam a microbiota normal do próprio paciente, enquanto os exógenos são carregados através de equipamentos e acessórios contaminados (LACERDA et al., 1992; BROWN 2012).

As Infecções Relacionadas a Assistência à Saúde (IRAS), também conhecidas como infecções hospitalares, são aquelas que o paciente adquire durante a internação, ou seja, em ambiente hospitalar, podendo manifestar durante a internação ou após a alta (FARIA et al., 2022). São muitos os estudos sobre infecção hospitalar na medicina humana, com uma estimativa de 5% dos pacientes desenvolvendo uma infecção a cada ano. Em comparação, na veterinária os números são escassos (KLEVENS et al. 2007, STULL & WEESE 2015). De acordo com Stull & Weese (2015), na medicina veterinária, os maiores problemas das infecções hospitalares estão associados à lambertura de feridas, higiene do paciente e protocolos de desinfecção menos estabelecidos. Especificamente no campo de animais de companhia, como cães e gatos, o aumento das infecções hospitalares tornou-se uma preocupação, devido à melhora dos cuidados intensivos, que incluem dispositivos intravasculares, sondas vesicais, extensão do período de hospitalização, implantação de dispositivos em procedimentos cirúrgicos e administração de medicamentos imunossupressores (ARIAS, 2013).

As bactérias resistentes são, de forma acelerada, selecionadas a partir do uso inadequado de antibióticos e, cada vez mais, animais como cães e gatos são

vistos como potenciais fontes e reservatórios dessas bactérias (LLOYD, 2007). A resistência antimicrobiana é vista e reconhecida como uma questão de saúde pública por organizações internacionais de saúde (WHO, 2023), uma vez que a saúde humana está intrinsicamente relacionada à saúde dos animais e do meio ambiente onde habitam (ROBINSON et al, 2016). Além disso, infecções resistentes a medicamentos prejudicam a saúde de animais e plantas, reduzem a produtividade agrícola e representam uma ameaça à segurança alimentar (WHO, 2023). A transmissão de bactérias resistentes é afetada por diversos fatores como contaminação ambiental, falha no controle de infecções, deslocamento geográfico de seres humanos e animais (HUIJBERS, 2015), e até por contaminantes não antimicrobianos como metais e plásticos (SHI et al, 2022).

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a contaminação bacteriana de sondas endotraqueais utilizadas na anestesia de procedimentos de uma clínica veterinária, assim como realizar antibiograma para avaliar o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos, das amostras.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a contaminação bacteriana presentes em sondas endotraqueais utilizadas nas anestésias de procedimentos de uma clínica veterinária, identificar as bactérias e seu perfil de sensibilidade aos antimicrobianos.

2.2 Objetivos Específicos

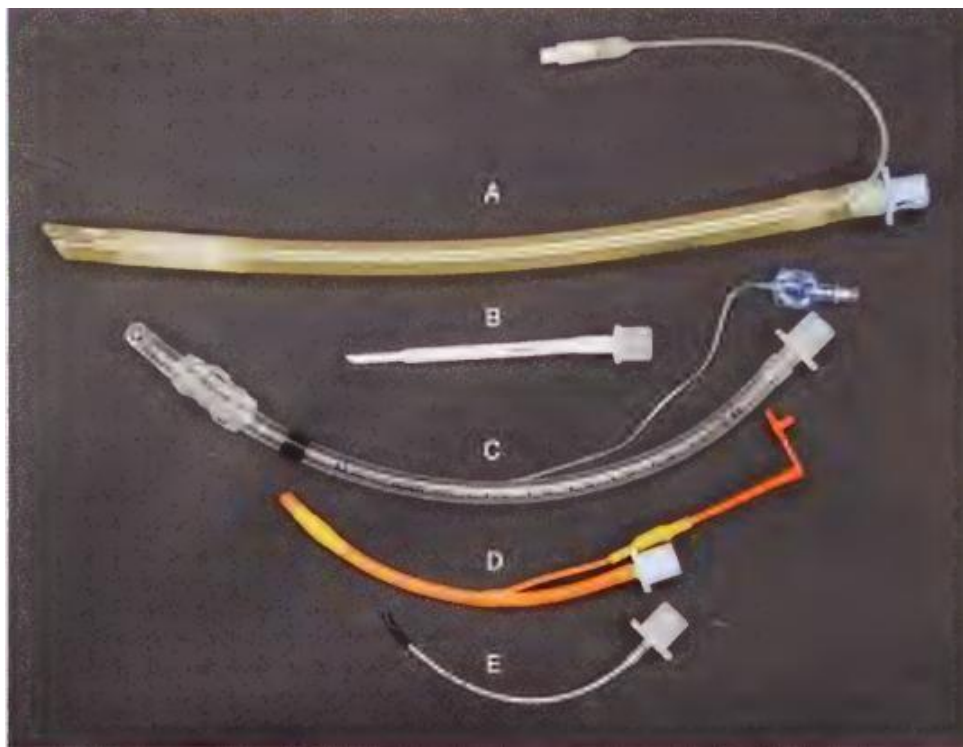
- Selecionar as sondas endotraqueais para análises microbiológicas;
- Isolar e identificar bactérias Gram positivas e Gram negativas das sondas endotraqueais em diferentes meios de cultivo (caldo BHI, Ágar Nutriente, Manitol Salgado, Ágar MacConckey);
- Verificar o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos convencionais dos isolados bacterianos, conforme a metodologia sugerida pelo BrCast (2024).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Sondas Endotraqueais e Intubação Traqueal

A sonda ou tubo endotraqueal é um equipamento muito utilizado na rotina veterinária, principalmente em procedimentos anestésicos, para manter uma via respiratória do paciente (MOSLEY, 2017), além de evitar a aspiração de líquidos ou conteúdo estomacal, facilitar a administração de oxigênio e anestésicos inalatórios, e assegurar o funcionamento das vias aéreas do paciente anestesiado (HALL & CLARKE, 1983). Diversos tipos de sondas endotraqueais podem ser utilizadas, e no geral são fabricadas para humanos, entretanto também podem ser utilizadas na veterinária (MOSLEY, 2017). Estão disponíveis em tamanho, comprimento e materiais diferentes, são feitas de borracha vermelha, silicone ou cloreto de polivinil (Figura 1) (THOMAS & LERCHE, 2014), e são atóxicas, não inflamáveis, não alergênicas e preferencialmente transparentes (COLLINS, 1993), a fim de serem inspecionadas visualmente quanto à presença de muco ou sangue (MOSLEY, 2017).

Figura 1- Tipos diferentes de sondas endotraqueais



Fonte: Adaptado de Thomas & Lerche, 2014. (A – sonda de silicone 11 mm com cuff; B – sonda tipo Cole 2.5 mm; C – sonda de cloreto de polivinil 8 mm com cuff; D – sonda de borracha vermelha 4 mm com cuff; E – sonda de cloreto de polivinil 2 mm sem cuff).

A sonda endotraqueal é composta das seguintes partes: um conector que liga a sonda ao circuito respiratório anestésico, e o cuff semelhante a um balão que, quando inflado, proporciona uma vedação entre o tubo e a mucosa traqueal. O cuff é ligado por um pequeno tubo ao balão piloto e uma válvula, que é utilizada para inflar o cuff. O balão piloto permite que o veterinário anestesista monitore a insuflação do cuff (THOMAS & LERCHE, 2014). O conector do tubo endotraqueal, localizado na extremidade do tubo, apresenta um tamanho uniforme de 15 mm de diâmetro externo (O.D), proporcionando uma conexão universal a todos os aparelhos e circuitos anestésicos considerados conforme o padrão (MOSLEY, 2017). Em relação ao tamanho dos tubos, é utilizado o diâmetro interno (I.D) como escala, e esses

tamanho variam de 3.0 a 14 mm de I.D (THOMAS & LERCHE, 2014).

A intubação endotraqueal é o procedimento de inserção de um tubo endotraqueal no lúmen da traqueia. As três principais indicações são para promover uma via aérea livre em um paciente com obstrução respiratória, proteção contra aspiração de líquidos em um paciente anestesiado e administração de oxigênio (FUDGE, 2023). De todos os métodos de intubação, a endotraqueal é a mais rápida, oferecendo um trajeto mais curto até a traqueia e uma abertura maior para a introdução da sonda por ser a cavidade oral (ANDRADE, 2002). A intubação endotraqueal é comumente realizada através da visualização da laringe e inserção direta do tubo com cuff de tamanho apropriado, e para esta técnica o paciente precisa de um nível adequado de anestesia. O tubo é em seguida conectado a uma fonte de oxigênio, como um aparelho de anestesia, e o cuff é inflado até que oclua suavemente a via aérea externa ao tubo (FUDGE, 2023).

Embora seja essencial para um procedimento cirúrgico e anestésico, a intubação endotraqueal pode proporcionar um risco ao paciente, pois impede o funcionamento normal de mecanismos de defesa das vias respiratórias, como o fechamento da glote e a tosse preventiva, favorecendo uma rota de contaminação bacteriana (HACKETT, 2003; MARTINS et al., 2004). Além disso, a intubação pode resultar em descamação das células epiteliais, que pode levar à aderência bacteriana e colonização do trato respiratório (GALLO & HUDAK, 1997).

3.2 Microbiota Oral de Cães

A microbiota oral normal dos cães é bastante complexa e diversificada, composta por diversos microrganismos como bactérias e fungos, dentre elas, *Staphylococcus sp.*, sendo elas comensais na maioria das vezes (BRAGA et al.,

2005). Entretanto podem se tornar patogênicos a depender de mudanças do ambiente e da imunidade do hospedeiro (SAMPAIO-MAIA, et al. 2016), podendo causar lesões como gengivite, doença periodontal, úlcera e cálculo dentário (DIDRY et al., 1998).

Durante anos acreditava-se na hipótese de que a composição da microbiota de humanos e cães era semelhante (HARDHAM et al., 2005), porém, Dewhirst et al. (2012) determinou a composição da microbiota oral canina pela primeira vez com técnicas de sequenciamento genético, e Davis et al. (2013) identificou diferentes espécies na microbiota oral de cães, e observou que, ambos microbiomas, humano e canino, possuem espécies e quantidades bacterianas distintas em situações de saúde ou enfermidade oral. Em cães hígidos, existe uma predominância de bactérias gram-negativas aeróbicas, enquanto a gengivite é causada por bactérias gram-positivas (DAVIS et al., 2013).

Um estudo realizado por Kačirová et al. (2022), identificou *Treponema denticola* em cães com doença periodontal, *Porphyromonas gulae* e *Tannerella forsythia* em animais hígidos, assim como em cães com doença periodontal. Devido à complexidade e diversidade da microbiota oral, diferentes gêneros bacterianos podem ser encontrados como *Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Capnocytophaga*, *Flavobacterium*, *Gemella*, *Abiotrophia*, *Streptococcus* e *Frederiksenia* (BELL et al., 2020).

3.3 Contaminação Bacteriana e Infecção Hospitalar

As infecções hospitalares são aquelas adquiridas durante a hospitalização do paciente, podendo se manifestar durante a internação ou após a alta (FERNANDES et al, 2000; SANTOS et al, 2012). Essas infecções são resultado da interação entre o

microrganismo patogênico e o hospedeiro, que geralmente apresenta a imunidade alterada, promovendo a transmissibilidade de doenças (SENAC, 2009). As infecções hospitalares podem ter origem endógena ou exógena. A endógena ocorre devido a alguma doença ou condição clínica predisponente, enquanto a exógena é causada por contaminação de equipamentos, material, ambiente hospitalar e, as vezes, pelas mãos do próprio profissional da saúde (LACERDA et al., 1992; BROWN 2012). Diferente da infecção, a contaminação é apenas a presença transitória de microrganismos em objetos, superfícies ou em hospedeiros, sem danos ou invasão tecidual, já as infecções são os danos causados devido a multiplicação dos microrganismos patogênicos e suas toxinas (FERNANDES et al., 2000). Frequentemente, as bactérias relacionadas a estas infecções são resistentes aos antibióticos utilizados na rotina (JOHNSON 2002, SANTOS et al. 2012).

Segundo Weese (2012), a falha de higienização e desinfecção adequada dos profissionais da saúde de um hospital veterinário, e de alunos e tutores, podem aumentar as chances de contaminação do ambiente e, conseqüentemente, o risco de infecções hospitalares. Essa contaminação pode ocorrer de diversas formas, até mesmo pelas mãos do médico veterinário, portanto, algumas medidas são necessárias para redução dos riscos, como a desinfecção frequente, cuidados com a higiene pessoal e limpeza do ambiente com desinfetantes potentes (FOSSUM, 2019).

Um hospital veterinário apresenta um fluxo de pessoas muito intenso e uma rotação de pacientes frequente, favorecendo uma contaminação heterogênea e, conseqüentemente, o ambiente funciona como um vetor de contaminação para todos os envolvidos, do médico veterinário, aos alunos, tutores e funcionários, tornando-se um problema de saúde pública (SFACIOTTE, 2021). Médicos veterinários e funcionários de um hospital veterinário tem grande risco de contrair doenças de

pacientes e animais internados (zoonoses), além de serem colonizados por microrganismos resistentes existentes no local (WALTHER et al., 2017). Dos microrganismos que podem persistir no ambiente e apresentar resistência a antibióticos podemos citar *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Pseudomonas spp.* e *Escherichia coli* (TURK et al., 2015; NELSON, 2011).

3.4 Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos (RAM)

Um dos maiores desafios que o mundo enfrenta atualmente é a resistência aos antimicrobianos, uma questão comum tanto na medicina humana quanto na medicina veterinária, uma vez que grande parte dos antimicrobianos empregados em humanos também é usado em animais. A subutilização, o uso excessivo e a utilização inadequada de antimicrobianos podem contribuir para a ineficácia dos tratamentos e piorar os impactos na saúde tanto de animais quanto de humanos (PESCOTT, 2017; PIÑEIRO et al., 2021).

Anualmente, cerca de 50.000 mortes são estimadas na Europa e nos Estados Unidos resultantes de infecções causadas por bactérias resistentes. Entretanto, considerando um contexto maior da população mundial, pode-se contabilizar várias centenas de milhares, o que pode sugerir que este número seja subestimado (O'NEILL, 2014). A globalização levou à crescente disseminação da transmissão de patógenos resistentes aos antimicrobianos, uma vez que a interação entre diversas espécies de microrganismos, em particular, das bactérias, facilita o surgimento de novas cepas resistentes (MARQUES et al., 2024).

Na medicina veterinária, por muitos anos, os antimicrobianos foram utilizados como “promotores de crescimento” em animais de produção, possivelmente favorecendo o desenvolvimento da resistência bacteriana (MARQUES et al., 2024).

Além disso, o uso inadequado e o fácil acesso desses medicamentos sem prescrição, no caso de casas agropecuárias e petshops, promove a seleção de bactérias resistentes (AQUINO, 2008).

A resistência bacteriana pode ser classificada de duas formas: intrínseca e adquirida. A resistência intrínseca é um mecanismo natural de um gênero ou espécie bacteriana, como as bactérias Gram negativas que são intrinsicamente menos permeáveis a muitos antibióticos devido a presença de uma membrana externa em sua parede celular. A resistência adquirida pode ser originada a partir de mutações cromossômicas, transferência de genes via plasmídeos, entre outros mecanismos, sendo favorecida pelo uso excessivo e inadequado de antibióticos (GREENE & BOOTHE, 2015). Entretanto, a velocidade da descoberta e produção de novos antimicrobianos não está acompanhando o surgimento de bactérias multirresistentes (FERRI et al., 2017; HUTTNER et al., 2013). A propagação de bactérias multirresistentes é influenciada por múltiplos fatores como contaminação ambiental, falha no controle de infecções, movimentação de animais e humanos infectados. Além disso, alguns locais são considerados reservatórios de resistência como ambientes agrícolas, fazendas, hospitais, água e animais (HUIJBERS et al., 2015).

Cada vez mais animais de companhia, como cães e gatos, são vistos como potenciais fontes e reservatórios de bactérias resistentes a antimicrobianos (LLOYD, 2007; GUARDABASSI et al., 2004; GWENZI et al., 2021), apresentando riscos diretos e indiretos à saúde humana (POMBA et al., 2017). Alguns microrganismos patogênicos como *E. coli*, *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter jejuni* podem ser encontrados em animais e no ambiente, apresentam resistência e podem ser transmitidos para humanos (AMVA, 2020). De acordo com a

Associação Médica Veterinária Americana (2020), *C. jejuni* pode ser transmitida de animais para pessoas e causar doenças com sintomas como diarreia com sangue, cólicas abdominais e febre.

A infecção causada por estas bactérias multirresistentes é um grande desafio no contexto de Saúde Única, pois aumenta a mortalidade, a morbidade e os custos relacionados à saúde (MCEWEN & COLLIGNON, 2018). Considerando o potencial zoonótico de grande parte das espécies bacterianas multirresistentes associadas a infecções ressalta-se a importância da medicina veterinária no combate à propagação e transmissão desses agentes patogênicos (SUTHAR et al., 2014; MCEWEN & COLLIGNON, 2018; GUARDABASSI et al., 2004). De acordo com

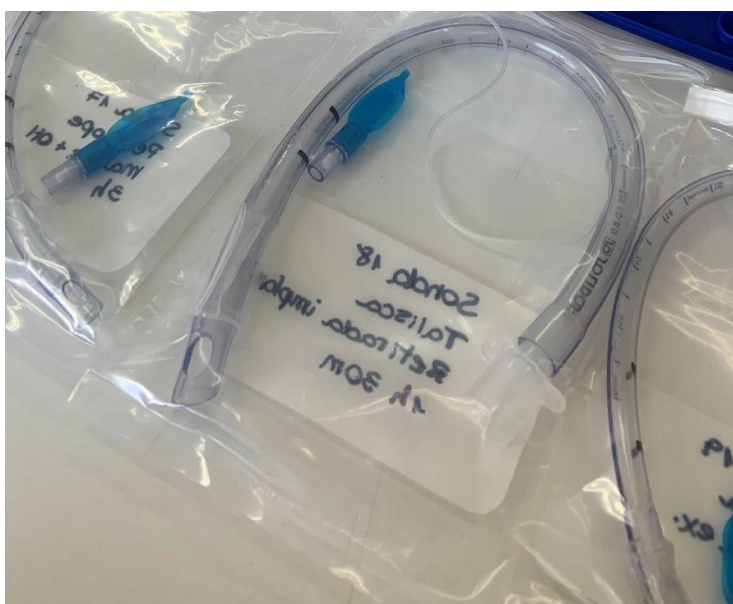
Mcewen e Collignon (2018), alguns grupos bacterianos são os mais prevalentes em hospitais na unidade de terapia intensiva, tanto de humanos quanto de animais. Além disso, são uma causa comum de infecções pós-operatórias e adquiridas em hospitais, dentre eles podemos citar *Staphylococcus* resistente à metilina (MRSA), *Enterococcus* resistente à vancomicina, enterobactérias produtoras de ESBL, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostragem

Para a realização deste trabalho foram utilizadas 40 sondas endotraqueais de tamanhos diversos, provenientes de uma clínica veterinária de Londrina – Paraná. As sondas foram divididas em dois grupos, 20 sondas foram coletadas logo após o uso de procedimentos anestésicos e em seguida foram levadas para o laboratório para análise, enquanto o outro grupo após a coleta passou pelo processo de limpeza de rotina da clínica. A limpeza de rotina foi feita a partir de uma solução contendo 20 mL de clorexidina degermante e 12,5 mL de cloreto de benzalcônio 20% (Hysteril®), onde as sondas foram imersas durante 20 minutos e após lavadas com clorexidina novamente. As sondas foram escolhidas aleatoriamente e armazenadas em *bags* estéreis para evitar a contaminação ambiental e de manuseio (Figura 2).

Figura 2 - Sondas endotraqueais armazenadas em bags estéreis antes da análise.

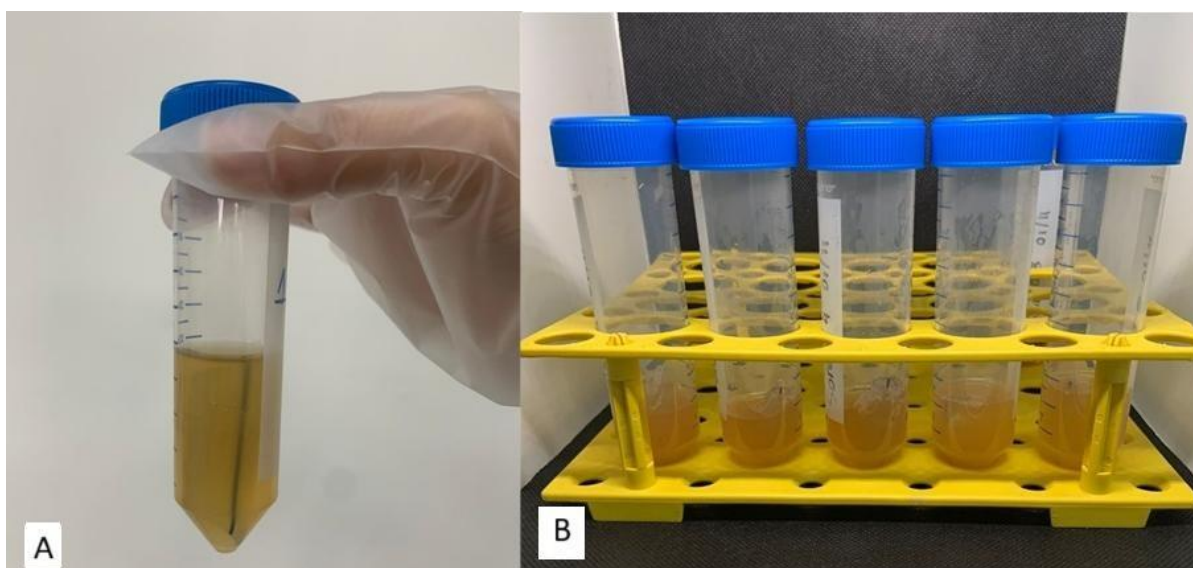


Fonte: Arquivo pessoal (2024).

4.2 Isolamento Bacteriano

As sondas foram cortadas em amostras de comprimento entre 3 e 5 cm, abrangendo a região do *cuff* (região das sondas mais interna a traqueia), com bisturi estéril, próximo ao bico de Marckel. Os fragmentos foram adicionados em um tubo cônico contendo caldo BHI (*Brain-Heart Infusion*) para o enriquecimento das amostras, e incubados na estufa a 37 °C +/- 2°C por 24 h (Figura 3).

Figura 3 - A e B: tubo cônico contendo a amostra e caldo BHI após incubação na estufa a 37°C +/- 2°C por 24h.



Fonte: Arquivo pessoal (2024).

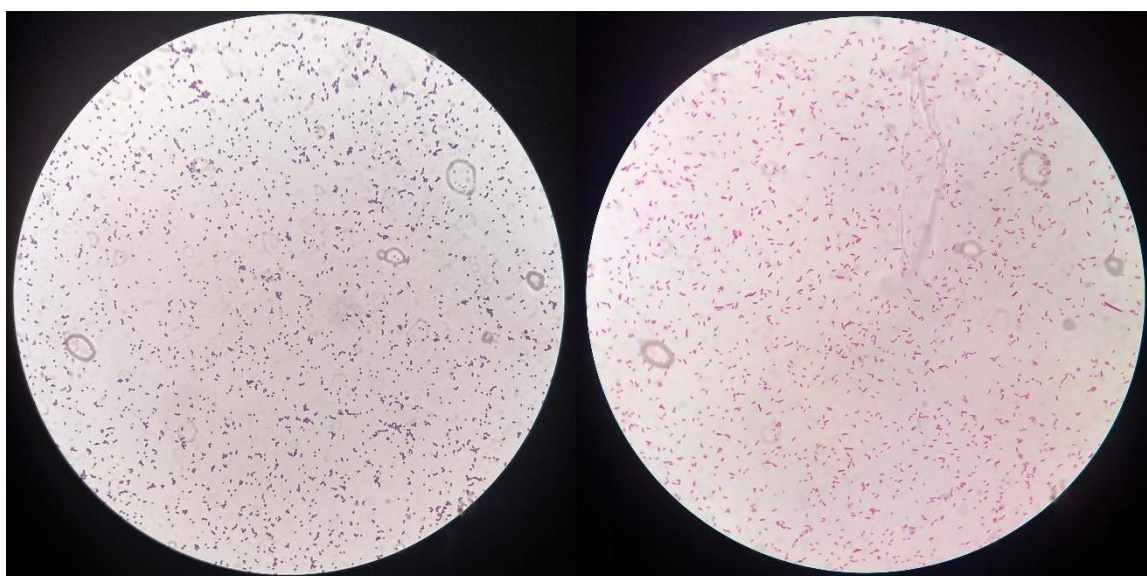
Em seguida, as amostras foram inoculadas nos meios Ágar Nutriente, Ágar Manitol salgado para a seleção de cepas do gênero de *Staphylococcus* e Ágar MacConkey para a seleção de bactérias Gram negativas, e depois foram incubadas a 37 °C +/- 2 °C, por 24 h e 48 h.

Após o crescimento, foram selecionadas colônias de interesse, as quais foram inoculadas no mesmo meio de cultura do qual cresceram previamente, para assim obter o isolamento das amostras.

4.3 Identificação Bacteriana

A identificação das amostras ocorreu por testes bioquímicos e aspectos morfológicos dos isolados. Sendo assim, as primeiras características foram descritas durante o processo de isolamento com a identificação de bactérias fermentadoras ou não-fermentadoras de lactose (quando isoladas em ágar MacConkey) e fermentadoras ou não-fermentadoras de Manitol (quando isoladas em Ágar Manitol salgado), após esse processo, foi utilizado a coloração de Gram para a identificação morfológica das amostras (Figura 4).

Figura 4 - Coloração Gram. Aumento de 1000x.



Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Em seguida, as amostras triadas passaram pelos testes bioquímicos: nas amostras de cocos Gram positivos foi realizado os testes de catalase e coagulase para a identificação de bactérias do gênero *Staphylococcus*, também foi realizado o teste de DNase e o isolamento em Ágar Sangue e Chromo ágar. Já nas amostras Gram negativas, além do isolamento em Chromo ágar, foram realizados os testes de

EPM, onde foi avaliado quanto a produção de gás, fermentação de glicose, produção de H₂S, hidrólise de urease e desaminação de triptofano; meio Mili foi avaliado quanto a motilidade, descarboxilação da Lisina e produção do indol; e meio citrato de Simmons, onde foi avaliado a capacidade da bactéria utilizar o citrato como única fonte de Carbono.

4.4 Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos

O teste de sensibilidade aos antimicrobianos foi realizado através do método disco-difusão de acordo com o manual BrCAST (2024). As amostras foram diluídas em um tubo de ensaio com solução salina até atingir a escala 0,5 de MacFarland. Em seguida, com um swab estéril, as amostras foram inoculadas em meio Ágar Mueller-Hinton a temperatura ambiente, de maneira uniforme, e os discos de antibióticos foram aplicados firmemente à placa dentro de 15 minutos da inoculação. As placas foram incubadas, em até 15 minutos após a aplicação dos discos, a $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ por $18 \pm 2\text{h}$. A interpretação das amostras foi feita de acordo com o manual BrCAST (2024) e CLSI Veterinário (2020). A escolha dos antimicrobianos foi baseada no CLSI Veterinário (2020), no BrCAST (2024) e na prática clínica veterinária, tendo como base os antimicrobianos mais utilizados na rotina. Nas tabelas 1 e 2 estão demonstrados os antimicrobianos de escolha e suas respectivas classes.

Tabela 1 - Agentes antimicrobianos utilizados no teste de sensibilidade (amostras Gram positivas).

Classes de antimicrobianos	Agentes antimicrobianos
Penicilinas	Amoxicilina com ácido clavulânico; ampicilina; oxacilina; penicilina
Cefalosporinas 1ª a 3ª geração	Cefazolina; cefoxitina; cefotaxima; ceftiofur
Macrolídeos	Azitromicina; eritromicina
Lincosamidas	Clindamicina
Anfenicóis	Cloranfenicol
Fluorquinolonas	Enrofloxacino
Aminoglicosídeos	Gentamicina
Glicopeptídeos	Vancomicina
Tetraciclina	Tetraciclina

Fonte: Adaptado de World Organization for Animal Health (2018).

Tabela 2 - Agentes antimicrobianos utilizados no teste de sensibilidade (amostras Gram negativas).

Classes de antimicrobianos	Agentes antimicrobianos
Penicilinas	Amoxicilina com ácido clavulânico; ampicilina
Cefalosporinas 1ª a 4ª geração	Cefalexina; cefalotina; cefazolina; cefoxitina; ceftriaxona; cefotaxima; cefepime
Anfenicóis	Cloranfenicol, florfenicol
Fluorquinolonas	Enrofloxacino
Aminoglicosídeos	Gentamicina; neomicina; tobramicina
Tienamicinas	Imipenem
Tetraciclina	Tetraciclina

Fonte: Adaptado de World Organization for Animal Health (2018).

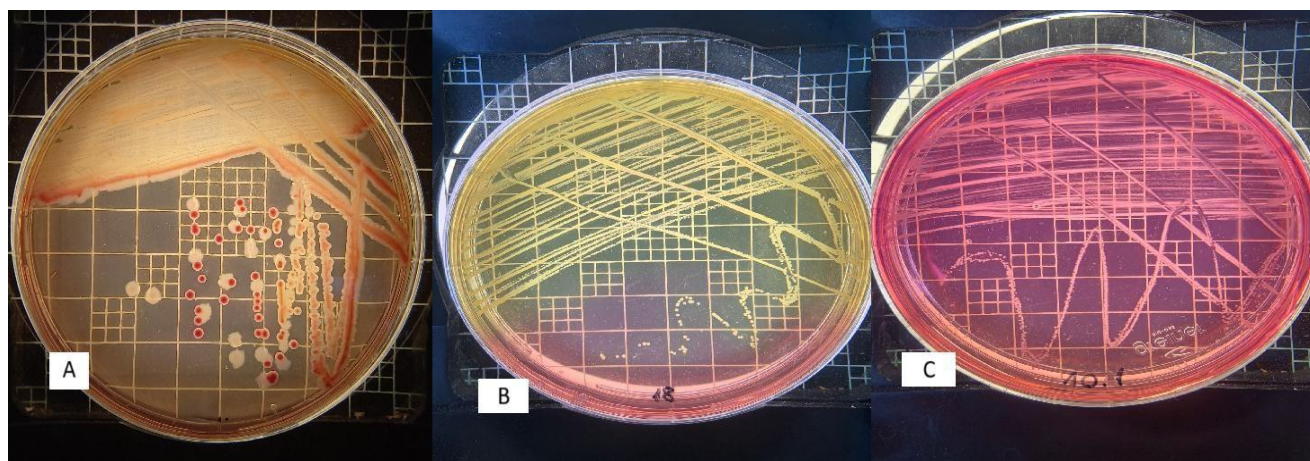
5 RESULTADOS

5.1 Isolamento das Amostras

De 40 amostras coletadas, houve crescimento bacteriano em 16 placas de Ágar Nutriente, sendo estas as amostras do grupo de sondas endotraqueais que não passaram pelo processo de desinfecção. Destas amostras, 5 tiveram crescimento bacteriano em Manitol salgado e 7 em Ágar MacConkey (Figura 5). Foi necessário um novo isolamento para algumas colônias, devido ao crescimento de duas colônias de uma mesma sonda.

Em relação às 20 amostras de sondas que passaram pelo processo de desinfecção de rotina da clínica, não houve crescimento bacteriano.

Figura 5 - A: crescimento bacteriano em meio de cultura Ágar MacConckey; B: crescimento bacteriano em meio de cultura Manitol Salgado com fermentação positiva; C: crescimento bacteriano em meio de cultura Manitol salgado com fermentação negativa



Fonte: Arquivo pessoal (2024).

5.2 Identificação Bacteriana

Na identificação bacteriana das amostras, após a coloração de Gram (Tabela 3) e os testes bioquímicos (Figura 6 e 7), foram identificadas bactérias Gram positivas como *Staphylococcus spp.* e *Enterococcus spp.*, e bactérias Gram negativas como *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella sp.* e *Enterobacter*. A identificação das amostras 19.2 e 20.1 (ambas *Enterococcus spp.*) foi realizada apenas através do isolamento e Chromágar Orientation (Figura 6). Os resultados dos testes bioquímicos estão demonstrados nos Quadros 1 e 2.

Tabela 3 - Resultados dos testes do Gram para os isolados bacterianos das sondas endotraqueais de cães obtidas de uma clínica veterinária

Isolado bacteriano	Resultado da Coloração de Gram
6	Coco Gram positivo
7	Bacilo Gram Negativo
8	Coco Gram positivo
10.1	Coco Gram positivo
10.2	Coco Gram positivo
11	Bacilo Gram Negativo
11.1	Bacilo Gram negativo
11.2	Bacilo Gram negativo
15	Bacilo Gram negativo
16	Bacilo Gram negativo
16.2	Bacilo Gram negativo
17	Bacilo Gram negativo
18	Coco Gram positivo
19.1	Bacilo Gram negativo
19.2	Coco Gram positivo
19.3	Bacilo Gram negativo
20.1	Coco Gram positivo
20.2	Bacilo Gram negativo

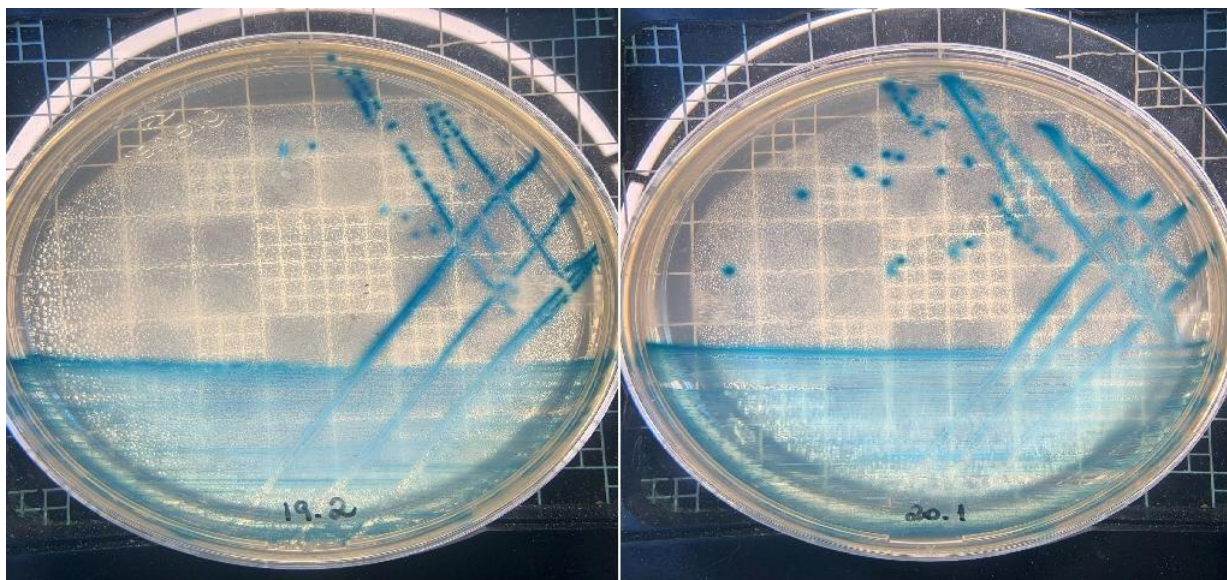
Quadro 1 - Resultados dos testes bioquímicos para os isolados bacterianos das sondas endotraqueais de cães obtidas de uma clínica veterinária (amostras Gram negativas)

Testes/Isolados	11.1	11.2	19.1	20.2	16	11	15	16.2	17	19.3	7
Fermentação da Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Produção de Gás	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
Triptofano	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
H ₂ S	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Urease	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Motilidade	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-
Indol	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-
Lisina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Citrato	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+
Fenilalanina	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Chromoágar	Rosa	Rosa	Rosa	Azul Metálico	Marrom	Rosa	Azul metálico	Azul	Azul Metálico	Rosa	Azul metálico
Identificação	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>E. coli</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>E. coli</i>	<i>Klebsiella sp.</i>

Quadro 2 - Resultados dos testes bioquímicos para os isolados bacterianos das sondas endotraqueais de cães obtidas de uma clínica veterinária (amostras gênero *Staphylococcus*)

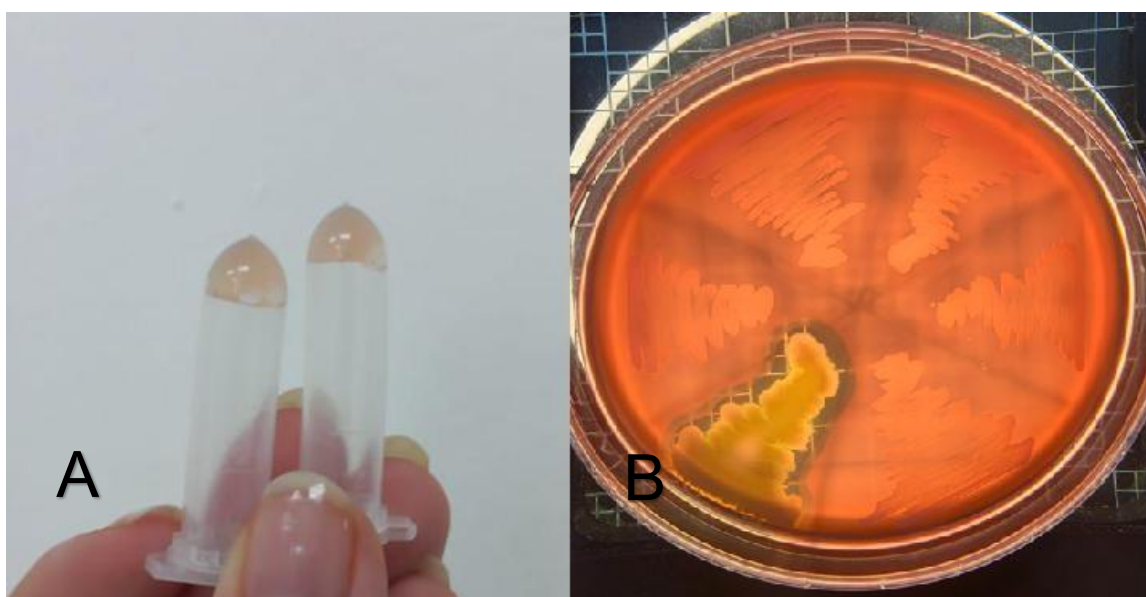
Testes/Isolados	10.1	10.2	8	18	6
Chromoágar	Branca opaca	Rosa	Rosa	Branca opaca	Branca opaca
Coagulase	+	+	+	+	-
Catalase	+	+	+	+	+
Manitol	Fermentação -	Fermentação -	Fermentação -	Fermentação +	Fermentação +
DNAse	+	+	+	+	+
Ágar Sangue	Não-hemolítico	Não-hemolítico	Não-hemolítico	Não-hemolítico	Não-hemolítico
Identificação	Estafilococos coagulase positiva	Estafilococos coagulase positiva	Estafilococos coagulase positiva	Estafilococos coagulase positiva	<i>Staphylococcus</i> sp.

Figura 6 – Meio de cultura Chromoágar com coloração azul, resultado do crescimento de *Enterococcus* sp.



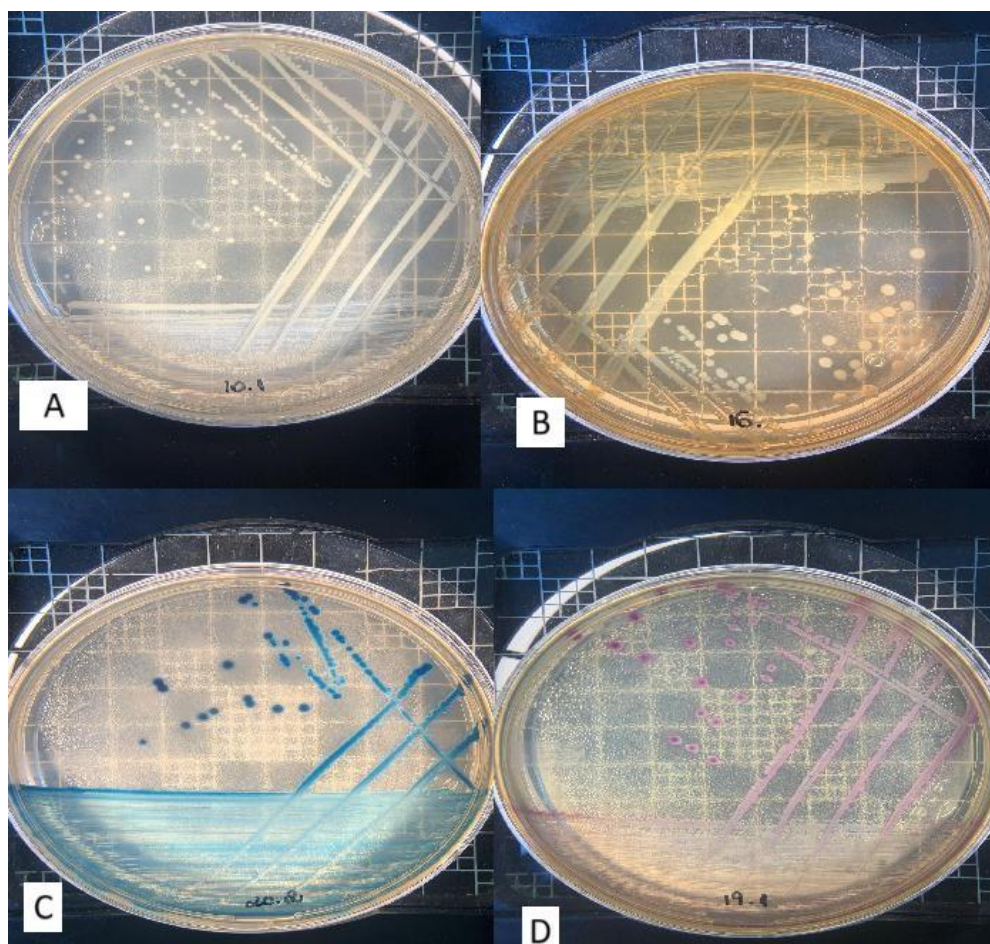
Fonte: Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Figura 7 - A: resultado do teste de coagulase positivo; B: meio de cultura Ágar Sangue, amostras não hemolíticas (isolados de *Staphylococcus* sp.) + controle.



Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Figura 8 - A, B, C e D: meio de cultura Chromoágar com coloração branca opaca, marrom, azul metálico e rosa, respectivamente.



Fonte: Arquivo pessoal (2024).

5.3 Resistência aos Antimicrobianos

Resistência a múltiplos antimicrobianos foi observada em alguns isolados, a classificação do perfil de resistência foi definida de acordo com Magiorakos et al. (2012). Das 17 amostras de Gram negativos, 10 apresentaram resistência a um ou mais antimicrobianos, destes, 7 foram multirresistentes (MDR). Dos 16 isolados Gram positivos, 5 apresentaram resistência, e destes, 4 apresentaram resistência a pelo menos 3 classes de antimicrobianos. Durante a análise foi observado que as amostras 20.1 e 19.2 são de *Enterococcus spp.* resistente a vancomicina e oxacilina, respectivamente.

De todos os antimicrobianos analisados, a ampicilina, cefalotina e cefalexina foram os que mais apresentaram resistência. Os resultados encontrados estão demonstrados nos quadros 3 e 4 e nas tabelas 4 e 5.

Quadro 3 - Resultado do teste de sensibilidade aos antimicrobianos das amostras de Gram negativos

antimicrobiano	Isolado									
	15	11.1	11.2	16	20.2	19.1	16.2	17	19.3	7
AMC	9	30	32	22	14	17	17	0	19	28
CRO	25	27	28	14	26	25	18	24	27	29
CFO	0	20	21	26	19	13	0	0	20	22
CPM	23	29	26	20	25	25	20	24	26	31
CTX	26	29	26	18	25	26	19	24	20	31
AMP	0	0	0	16	0	8	11	14	15	10
CFE	10	14	13	10	20	0	11	0	0	23
CFL	0	12	11	17	0	12	0	0	15	22
CFZ	0	20	15	16	0	15	7	0	25	25
CLO	6	20	24	0	22	7	18	18	19	24
EN	25	25	24	25	13	23	21	24	22	23
FLF	19	23	26	24	22	20	21	25	25	22
GEN	14	18	20	17	12	18	9	18	19	15
IPM	21	25	24	22	25	23	22	19	28	27
NEO	10	11	12	18	15	5	15	14	10	15
TET	19	0	18	0	18	0	21	0	19	20
TOB	13	13	13	14	11	12	13	12	16	19

Legenda: AMC = amoxicilina com ácido clavulânico; CRO = ceftriaxona; CFO = ceftiofina; CPM = cefepime; CTX = cefotaxima; AMP = ampicilina; CFE = cefalexina; CFL = cefalotina; CFZ = cefazolina; CLO = cloranfenicol; EN = enrofloxacina; FLF = florfenicol; GEN = gentamicina; IPM = imipenem; NEO = neomicina; TET = tetraciclina; TOB = tobramicina. Vermelho = resistente; amarelo = intermediário; verde = sensível. Os números que constam no quadro referem ao diâmetro do halo de inibição em milímetros.

Tabela 4 - Resultados das amostras Gram negativas resistentes aos antimicrobianos.

Isolados	Resistência	Número de Classes
7 - <i>Klebsiella sp.</i>	GEN, NEO	1 classe
11.1 – <i>E.coli</i>	AMP, CFE, CLF, TET, TOB	4 classes - MDR
11.2 – <i>E.coli</i>	AMP, CFE, CFL, CFZ	2 classes
15 - <i>Enterobacter</i>	AMC, CFO, AMP, CFE, CFL, CFZ, CLO	3 classes - MDR
16 – <i>Proteus vulgaris</i>	CFE, CLO, TET	3 classes - MDR
16.2 - <i>Enterobacter</i>	CFO, AMP, CFL, NEO	3 classes - MDR
17 - <i>Enterobacter</i>	AMC, CFO, CFE, CFL, CFZ, TET, TOB	4 classes - MDR
19.1 – <i>E.coli</i>	CFO, AMP, CFE, CFL, CLO, NEO, TET, TOB	5 classes - MDR
19.3 – <i>E.coli</i>	CFE	1 classe
20.2 - <i>Enterobacter</i>	AMC, AMP, CFL, CFZ, EN, GEN, TOB	4 classes - MDR

Legenda: MDR - Multi-drug resistant bacteria. Fonte: Magiorakos et al. (2012).

Quadro 4 - Resultado do teste de sensibilidade aos antimicrobianos das amostras de Gram positivos.

Antimicrobianos	Isolados						
	10.1	20.1	19.2	8	10.2	6	18
AMC	30	25	25	23	22	22	32
AMP	35	20	25	17	18	19	34
AZI	19	8	10	0	0	24	0
CFZ	33	10	12	27	25	30	32
CTZ	18	0	0	18	20	17	15
CTF	28	12	15	30	20	32	32
CFO	13	0	11	30	31	26	17
CLI	21	0	17	17	4	21	20
CLO	23	0	14	0	21	23	22
EN	19	15	0	20	0	19	6
ERI	24	18	10	0	0	20	0
GEN	12	10	14	23	14	23	22
OXA	22	0	0	0	11	22	24
PEN	25	9	16	13	15	14	29
TET	28	20	0	7	0	28	26
VAN	15	6	16	15	5	18	16

Legenda: AMC = amoxicilina com ácido clavulânico; AMP = ampicilina; AZI = azitromicina; CFZ = cefazolina; CTZ = cefotaxima; CTF = ceftiofur; CFO = cefoxitina; CLI = clindamicina; CLO = cloranfenicol; EN = enrofloxacino; ERI = eritromicina; GEN = gentamicina; OXA = oxacilina; PEN = penicilina; TET = tetraciclina; VAN = vancomicina. Vermelho = resistente; amarelo = intermediário; verde = sensível. Os números que constam no quadro referem ao diâmetro do halo de inibição em milímetros.

Tabela 5 - Resultados das amostras de Gram positivas resistentes aos antimicrobianos.

Isolados	Resistência	Número de Classes
8 - <i>Estafilococos coagulase positiva</i>	AZI, CTZ, CLO, OXA, TET	5 classes - MDR
10.2 - <i>Estafilococos coagulase positiva</i>	AZI, CLI, EN, ERI, TET	4 classes - MDR
18 - <i>Estafilococos coagulase positiva</i>	AZI, EN, ERI	2 classes
19.2 - <i>Enterococcus sp</i>	AZI, CFZ, CTZ, EN, OXA, TET	5 classes - MDR
20.1 - <i>Enterococcus sp</i>	AZI, CFZ, CTZ, CFO, CLI, CLO, OXA, PEN, VAN	6 classes - MDR

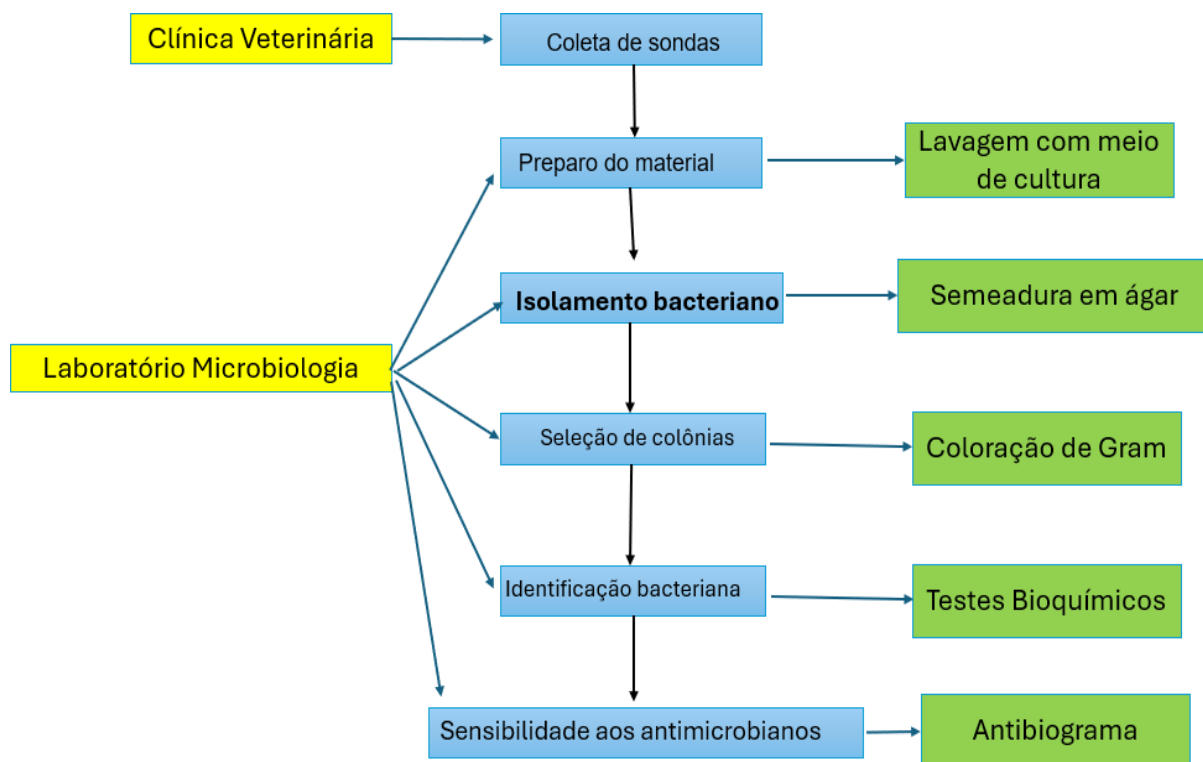
Legenda: MDR - Multi-drug resistant bacteria. Fonte: Magiorakos et al. (2012).

5.4. Elaboração de um Protocolo de Análise de Contaminação Bacteriana de Sondas Endotraqueais

As sondas endotraqueais são dispositivos muito utilizados na rotina da clínica veterinária e de uso único, não sendo indicado a reutilização ou reesterilização das mesmas. Entretanto, diversas clínicas, hospitais e profissionais reaproveitam estes dispositivos médicos, favorecendo a contaminação bacteriana. Para minimizar o risco de contaminação, clínicas veterinárias e profissionais devem adotar protocolos de manejo rigorosos e práticas adequadas de assepsia. A instrução e formação da equipe em técnicas de manejo asséptico também é essencial para reduzir a incidência de infecções (LEMOS e SOUZA, 2018).

No presente estudo, frente a escassez de protocolos e técnicas para coleta e preparo de materiais como sondas endotraqueais, elaboramos um manual e protocolo de análise bacteriológica para uso por médicos veterinários com apoio de um laboratório de microbiologia, para identificação bacteriana em dispositivos médicos, assim como a presença de bactérias resistentes ou multirresistentes aos antimicrobianos. O protocolo foi elaborado a partir do BrCast (2024), Trabulsi e Alterthum (2015) e Silva et al. (2021).

Figura 9 - Fluxograma para Protocolo de análise de contaminação bacteriana de sondas endotraqueais



Quadro 5 - Manual de análise de contaminação bacteriana de sondas endotraqueais

Etapas	Métodos	Descrição	Período
1 ^a	Coleta de materiais (sondas endotraqueais)	Coletar a sonda logo após o uso e armazenar em <i>bags</i> esterilizados.	Dia 1 (1-2 horas)
2 ^o	Preparo do material	Cortar a sonda na região do cuff (balão) e colocar em caldo BHI na estufa a 37 °C +/- 2°C por 24 h.	Dia 1 (1-2 horas)
3 ^a	Isolamento bacteriano	Semear o material de lavagem com caldo nos meios Ágar Nutriente, Manitol Salgado e Ágar MacConkey 37 °C +/- 2 °C, por 24 h e 48 h (obtenção de colônias isoladas).	Dia 2 (1-2 horas)
4 ^a	Seleção de cepas	Realizar a escolhas de diferentes colônias a partir de suas características (cor, tamanho, forma, aspecto) Realizar a coloração de Gram das colônias selecionadas	Dia 3 (1 hora) Dia 3 (2 horas)
5 ^o	Identificação bacteriana	Realizar os testes bioquímicos de acordo com os grupos bacterianos característicos	Dia 3 (18-24 horas)
6 ^o	Teste de sensibilidade aos antimicrobianos	Método disco-difusão em ágar de acordo com o manual BrCAST (2024).	Dia 4 (18-24 horas)

6 DISCUSSÃO

A microbiota oral dos cães é bastante complexa e diversificada, sendo composta por bactérias Gram positivas e negativas (BRAGA et al., 2005). Entre as bactérias Gram negativas, foram isolados *Klebsiella spp.*, *Escherichia*, *Proteus*, *Enterobacter*; e Gram positivas *Staphylococcus sp.* e *Enterococcus sp.*

Alguns autores afirmam que, em animais hígidos, geralmente são encontradas bactérias Gram positivas (DORN, 1998; GREENE, 2006) como as do gênero *Streptococcus* e *Staphylococcus* (DORN, 1998). Entretanto, Davis et al. (2013) utilizaram tecnologias de sequenciamento genético para estudar a microbiota oral canina e, concluíram que, populações de bactérias diferentes habitam em situações de saúde e enfermidade oral. Em cães saudáveis foi observado uma população maior de bactérias Gram negativas, enquanto em animais com doença periodontal foi observado uma presença maior de bactérias Gram positivas.

Frias et al. (2018) coletando amostras de 80 cães, isolaram da cavidade oral *Enterococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella spp.*, *Staphylococcus spp.*, entre outros, corroborando com os resultados obtidos neste estudo. No entanto, em uma análise realizada por Braga et al. (2005) com 29 cães da raça Pastor Alemão, foi encontrado um predomínio dos gêneros *Pasteurella*, *Staphylococcus*, *Porphyromonas* e *Fusobacterium* na cavidade oral desses animais. Um estudo realizado por Kačirová et al. (2022), concluiu que *Treponema denticola* está associado a doença periodontal em cães, *Tannerella forsythia* é comum de ser encontrado na microbiota oral, e a maior prevalência de *Porphyromonas gulae* foi observada em animais com doença periodontal. Ambos estudos citados anteriormente identificaram patógenos anaeróbios na microbiota oral de cães, discordando dos resultados do presente estudo, pois não foram utilizados métodos de anaerobiose.

Algumas das bactérias observadas, como *Escherichia coli* e *Klebsiella spp.*, são causas comuns de infecções hospitalares. Segundo Diekema et al. (2019), a *Escherichia coli* é o patógeno mais frequentemente vinculado aos casos de bacteremia. *Klebsiella spp.*, um patógeno oportunista, com frequência acomete pacientes hospitalizados e em Unidade de Terapia Intensiva, devido a imunidade comprometida e comorbidades associadas (TRABULSI e ALTERTHUM, 2015).

A formação de biofilmes nas sondas endotraqueais pode ser facilitada pela presença de patógenos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, e *Escherichia coli*, que são comumente encontrados em ambientes hospitalares. Esses biofilmes tornam os microrganismos mais resistentes à ação de antibióticos e ao sistema imunológico do hospedeiro, dificultando a erradicação da infecção (GAUTHIER e BROWN, 2014).

De acordo com Marra et al. (2011), estudo multicêntrico conduzido entre 2007 e 2010 em 16 hospitais no Brasil revelou que 58,5% dos casos de infecções sanguíneas adquiridas em hospitais são originados de bactérias Gram negativas, enquanto as Gram positivas representaram 35,4%. Os principais agentes isolados deste estudo foram *Staphylococcus aureus* e *K. pneumoniae*. Geralmente os patógenos envolvidos em infecções hospitalares apresentam resistência à múltiplos antimicrobianos, especialmente aqueles que são frequente utilizados no hospital em questão, o que dificulta ainda mais o tratamento e recuperação do paciente (STULL e WEESE, 2015).

A contaminação de sondas endotraqueais em clínicas veterinárias de pequenos animais é uma preocupação significativa em termos de controle de infecção, segurança do paciente e manejo clínico adequado. A introdução de sondas endotraqueais é uma prática comum em procedimentos anestésicos e cirúrgicos, mas

a sua manipulação inadequada pode levar à introdução de patógenos e ao desenvolvimento de infecções respiratórias e outras complicações (GONZALEZ, 2015). A seguir, apresento a importância deste tema com algumas referências bibliográficas que discutem as implicações dessa contaminação.

Em relação à resistência aos antimicrobianos, Menezes et al. (2022) realizaram um estudo epidemiológico com o objetivo de avaliar a incidência e o perfil de resistência antimicrobiana de cocos Gram positivos e bacilos Gram negativos presentes no sítio cirúrgico, nas mãos do cirurgião e no ambiente cirúrgico. Os bacilos Gram negativos apresentaram maior resistência à cefazolina, cefotaxima e azitromicina, enquanto os cocos Gram positivos apresentaram resistência à penicilina, cefoxitina, eritromicina, entre outros. Embora alguns antimicrobianos e patógenos tenham sido semelhantes aos observados no presente estudo, é possível atribuir a variação na prevalência bacteriana às regiões distintas, a dinâmica local e temporal da epidemiologia bacteriana.

No presente estudo, foram encontrados diversos isolados multirresistentes (MDR), dentre eles o *Enterococcus* resistente a vancomicina (VRE). É facilmente encontrado em ambientes hospitalares, unidades de terapia intensiva e a disseminação ocorre devido a falha de higienização e uso inadequado de antibióticos (SANTOS et al., 2021). A alta prevalência de bactérias multirresistentes, aliada à falta de tratamento eficiente, tem se mostrado um dos maiores obstáculos para o controle das infecções. Essas representam um grave problema de saúde pública, uma vez que elevam a morbidade e a mortalidade, além dos custos (PINHEIRO et al., 2023).

A contaminação de sondas endotraqueais pode resultar na introdução de bactérias multirresistentes, que são comuns em ambientes hospitalares, incluindo clínicas veterinárias. Patógenos como *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus*

aureus multirresistente pode ser transmitidos por meio de sondas contaminadas, complicando ainda mais o tratamento de infecções (PEREIRA e LIMA, 2017).

Em nosso estudo, alguns isolados mostraram resistência aos antimicrobianos, sendo alguns multirresistentes, o que aumentaria a severidade das infecções adquiridas por estes dispositivos médicos. De forma geral, as contaminações de sondas endotraqueais são oriundas da microbiota animal ou do meio ambiente, sendo a primeira de maior ocorrência. Dessa forma, resultados de sensibilidade aos antimicrobianos (antibiograma) pode fornecer informações importantes relacionados à terapia antibacteriana que podem explicar algumas condutas ou intensidade no uso de determinados antimicrobianos para uso veterinário. Em nosso estudo, apesar do número baixo da amostragem não permitir traçar a proporção de resistência aos antimicrobianos, foi possível discutir e apontar isolados de grande importância clínica. Entretanto não conseguimos avaliar e discutir a eficácia da lavagem das sondas (processo de desinfecção), apesar de aparentemente tal processo se mostrar eficaz.

Para minimizar o risco de contaminação, clínicas veterinárias devem adotar protocolos rigorosos de manejo, que incluam práticas adequadas de assepsia e a utilização de sondas endotraqueais com sistemas de ventilação fechados quando necessário. A formação contínua da equipe em técnicas de manejo asséptico também é essencial para reduzir a incidência de infecções (LEMOS e SOUZA, 2018). Nesse sentido, em nosso estudo, elaboramos um protocolo de análise bacteriológica para uso por médicos veterinários com apoio de um laboratório de microbiologia, para identificação bacteriana em dispositivos médicos (sondas endotraqueais), assim como a presença de bactérias resistentes ou multirresistentes aos antimicrobianos. Tais informações ou achados, nortearia o profissional sobre algumas práticas nas clínicas

veterinárias, como o processo de desinfecção de dispositivos médicos ou outros materiais relevantes.

Baseados nas metodologias utilizadas neste estudo e resultados obtidos, este protocolo se mostrou bastante eficaz quando analisamos os objetivos pretendidos neste trabalho. Entretanto, mais ensaios de isolamento e identificação seria mais adequado, uma vez que outras bactérias (esporuladas por exemplo) e até outros tipos de microrganismos (fungos por exemplo) poderiam estar presentes nestas sondas.

A contaminação de sondas endotraqueais é uma questão crítica em clínicas veterinárias, particularmente em procedimentos anestésicos e cirúrgicos em pequenos animais. A implementação de protocolos rigorosos de esterilização, o uso de materiais descartáveis, a educação contínua da equipe veterinária e o monitoramento constante dos pacientes são essenciais para minimizar os riscos de infecções respiratórias e outras complicações.

7 CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou a importância da realização da análise bacteriológica em sondas endotraqueais de clínicas veterinárias de pequenos animais (pet), pois a presença de bactérias potencialmente patogênicas representa um risco de infecção para os animais envolvidos.

A identificação de bactérias multirresistentes nestas sondas não lavadas mostrou a necessidade da análise de sensibilidade bacteriana aos antimicrobianos convencionais, principalmente aos de uso veterinário.

Dessa forma, acreditamos que a elaboração de um protocolo ou manual de análise bacteriológicas em dispositivos médicos-veterinários (contribuição metodológica do estudo) pode contribuir para nortear as boas práticas de desinfecção destes materiais de uso contínuo na clínica veterinária.

Novas análises microbiológicas (incluindo fungos e bactérias diferentes deste estudo, por exemplo) e ensaios (biofilmes microbianos) podem ser incorporados neste protocolo ou manual, para uma maior acurácia na análise microbiológica de materiais clínicos ou dispositivos médicos.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, M. T. S. **Guias práticos de enfermagem: cuidados intensivos**. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill. p. 219-228, 2002.

AQUINO, D. Por que o uso racional de medicamentos deve ser uma prioridade? **Ciência e Saúde Coletiva**. v. 13, p. 733-736, 2008.

ARIAS, M. V. B. et al. Estudo da ocorrência de infecção hospitalar em cães e gatos em um centro cirúrgico veterinário universitário. **Pesqui. Vet. Bras.**, v. 33, n. 6, p. 771-779, 2013.

AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION. **Resistant Pathogens Affecting Animal Health in the United States**. p. 19-23, Illinois: 2020.

BELL, S. E. et al. An Assessment of the Stability of the Canine Oral Microbiota After Probiotic Administration in Healthy Dogs Over Time. **Frontiers in Veterinary Science**. v. 7, 2020.

BRAGA, C. et al. Isolamento e identificação da microbiota periodontal de cães da raça Pastor Alemão. **Ciência Rural**, v.35, n.2, p.385-390, 2005.

BRAZILIAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING, BRCAST. Orientações do EUCAST/BRCAST para teste de sensibilidade aos antimicrobianos, método de disco-difusão BrCAST-EUCAST. Versão 2024.

BROWN, D. C. Wound infection and antimicrobial use. In: TOBIAS, K.M. & JOHNSTON, S.A. S.A. (Eds), **Veterinary Surgery: Small Animals**. Elsevier Saunders, Missouri. p.135-139, 2012.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, CLSI. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals VET01S. 5 ed. Outubro 2020.

COLLINS, V. J. **Principles of Anesthesiology**, 3th Ed, Philadelphia, Lea &Febiger, p.460-517, 1993.

DAVIS, I. J. et al. A cross-sectional survey of bacterial species in plaque from client owned dogs with healthy gingiva, gingivitis. **PLoS ONE**, v. 8, n. 12, p. 1–12, 2013.

DEWHIRST, F. E. et al. The canine oral microbiome. **PLoS ONE**, v. 7, n. 4, p. 1–12, 2012.

DIDRY, N. et al. Antimicrobial activity of aerial parts of *Drosera Peltata* smithson oral bacteria. **Journal of Ethnopharmacology**, v.60, p.91-96, 1998.

DIEKEMA, D. J. et al. The Microbiology of Bloodstream Infection: 20-Year Treans from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 63, n. 7, 2019.

DORN, A. S. Introdução para a odontologia veterinária. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1998.

FARIA, L. et al. Prevalência de infecções hospitalares e assistência odontológica: um estudo transversal. **Revista Estomatologia**. v. 30, n.1, 2022.

FERNANDES, A. T. et al. **Infecção Hospitalar e suas Interfaces na Área de Saúde**. Atheneu, São Paulo. 953 p. 2000.

FERRI, M. et al. Antimicrobial resistance: A global emerging threat to public health systems. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**., v. 57, n. 13, p. 2857-2876, 2017.

FOSSUM, T. W. & WILLARD M.D. Surgical infection and antibiotic selection, p.79-89. In: Fossum T.W. (Ed.), **Small Animal Surgery**. 5 ed. Mosby Elsevier, Missouri., 2019.

FRIAS, D. F. R. et al. Identification of the Gingival Microbiota of Apparently Healthy Dogs. **Nucleus**, v.15, n.1, p.129-136, 2018.

FUDGE, M. Endotracheal Intubation and Tracheostomy. In: SILVERSTEIN, D., HOPPER, K. **Small Animal Critical Care Medicine**. Elsevier Science, p. 1131- 1136, 2023.

GALLO, B. M., HUDAK, M. C. **Cuidados Intensivos de Enfermagem. Uma abordagem holística**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997.

GAUTHIER, J.; BROWN, J. Biofilm formation in veterinary hospital settings: implications for the management of ventilator-associated pneumonia in small animal practice. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, n. 5, p.1346- 1356, 2014.

GUARDABASSI, L. et al. Transmission of multiple antimicrobial resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. **Veterinary Microbiology**, v. 98 p. 23–27, 2004

GUARDABASSI, L. et al. Pet animals as reservoirs of antimicrobial resistant bacteria. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy** v. 54, p. 321–332, 2004

GONZALEZ, J. Ventilator-associated pneumonia in veterinary patients: a review of the pathophysiology, risk factors, and prevention strategies. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 45, n. 5, 827-842, 2015.

GREENE, C.E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3.ed. St. Louis: Saunders, 1387p, 2006.

GREENE, C. E., BOOTHE, D. M. Quimioterapia antibacteriana. In: GREENE, C. E. **Doenças infecciosas em cães e gatos**. 4a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; Cap. 30, p. 623-73, 2015.

GWENZI, W, et al. Insects, rodents, and pets as reservoirs, vectors, and sentinels of antimicrobial resistance. **Antibiotics**, v.10, n.1, 2021.

HACKETT, T. Care of Respiratory Patients. In: SLATTER, D. **Textbook of Small Animal Surgery**. Philadelphia: Elsevier Science, p. 892, 2003.

HALL, L. W.; CLARKE, K. W. **Veterinary Anaesthesia**. Philadelphia, Saunders, 1983.

HARDHAM, J. et al. Pigmented-anaerobic bacteria associated with canine periodontitis. **Veterinary Microbiology**, v. 106, n. 1–2, p. 119–128, 2005.

HUIJBERS, P. et al. A. Role of the environment in the transmission of antimicrobial resistance to humans: a review. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 20, p. 1-45, 2015.

HUTTNER, A. et al. Antimicrobial resistance: a global view from the 2013 World Healthcare-Associated Infections Forum. **Biomed Central**, v. 2, n. 31, p. 1-13, 2013.

JOHNSON, J. A. Nosocomial infections. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. v. 32, n. 5, p. 1101-1126, 2002.

KAČÍROVÁ, J. et al. Detection of Periodontal Pathogens from Dental Plaques of Dogs with and without Periodontal Disease. **Pathogens**. v. 11, n.4, 2022.

KLEVENS, R.M. et al. Estimativa de infecções e mortes associadas aos

cuidados de saúde em hospitais dos EUA. **Publ. Rep. de Saúde** v.122, n. 2, p.160-166, 2007.

LACERDA, R. et al. Buscando **Compreender a Infecção Hospitalar no Paciente Cirúrgico**. São Paulo, Atheneu, 178 p., 1992.

LEMOS, R.; SOUZA, R. Sterile handling protocols in veterinary anesthetic procedures. **Journal of Veterinary Anesthesia and Surgery**, v.15, n. 2, 245-250, 2018.

LLOYD, D.H. Reservoirs of antimicrobial resistance in pet animals. **Clinical Infectious Diseases**.p.148–52, 2007.

MAGIORAKOS, A. et al. Multidrug-resistente, extensively drug-resistant and pandrug- resistente bactéria: na international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistente. **Clinical Microbiology and Infection**. v. 18, n. 3, 2012.

MARQUES, G. et al. Desafios e estratégias na gestão responsável de antimicrobianos na medicina veterinária. **Ciência Animal e Veterinária**. v. 4, 2024.

MARRA, A. R. et al. Nosocomial Bloodstream Infections in Brazilian Hospitals: Analysis of 2,563 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study. **Journal of Clinical Microbiology**., v. 49, p.1866–1871, 2011.

MARTINS, R. H. G., DIAS, N. H., BRAZ, J. R. C., CASTILHO, E. C. Complicações das vias aéreas relacionadas à intubação endotraqueal. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**. Botucatu. v.70, n.5, p. 671-7, 2004.

MCEWEN, S. A., COLLIGNON, P. J. Antimicrobial resistance: a one health perspective. **Microbiology Spectrum**., v. 6, p.1–26, 2018.

MENEZES, M., et al. Multidrug-Resistant Bacteria Isolated From Surgical Site of

Dogs, Surgeon's Hands and Operating Room in a Veterinary Teaching Hospital in Brazil. **Topics in Companion Animal Medicine.**, v. 49, 2022.

MOSLEY, C. Equipamento Anestésico. *In*: GRIMM, K. A., LAMONT, L. A., TRANQUILLI, W. J., GREENE, S. G., ROBERTSON, S. A. **Anestesiologia e Analgesia em Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

NELSON, L. Surgical site infections in small animal surgery. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. v. 41, n. 5, p.1041–1056; 2011.

O'NEILL, J. Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. **Review on Antimicrobial Resistance**, Londres, 2014.

PEREIRA, D.; LIMA, F. Antimicrobial resistance in veterinary settings: challenges and strategies for prevention. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 31, n.3, p.815-826, 2017.

PIÑEIRO, S. A; CERNIGLIA, C. E. Antimicrobial drug residues in animal-derived foods: Potential impact on the human intestinal microbiome. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. v. 44, n. 2, p.215–22, 2021.

PINHEIRO, F. L., et al. Enterococcus Resistente à Vancomicina e Enterobacterales Resistentes aos Carbapenêmicos em Culturas de Vigilância. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**. V. 17, n. 1, p. 287, 2023.

POMBA, C., et al. Public health risk of antimicrobial resistance transfer from companion animals. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**., v. 72, n. 4, p. 957–68, 2017.

PRESCOTT, J. F. History and current use of antimicrobial drugs in veterinary

medicine. **Microbiology Spectrum**. v.5, n.6, 2017.

ROBINSON, T. P. et al. Antibiotic resistance is the quintessential One Health issue. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 110, n.7, p.377-380, 2016.

SAMPAIO-MAIA, B. et al. The Oral Microbiome in Health and Its Implication in Oral and Systemic Diseases. **Advances in Applied Microbiology**, v. 97, p.171- 210, 2016.

SANTOS, M. A., et al. Enterococcus Resistente a Vancomicina (VRE): Perfil Geral. **Revista JRG de Estudos Academicos**. v. IV, n. 8, p. 127-139, 2021.

SANTOS, W. G. et al. 2012. Infecção hospitalar em medicina veterinária. **Revista Veterinária e Zootecnia**. Minas v. 21, p.10-15., 2012.

SENAC. **Saúde e prevenção de doenças**. Senac Nacional, Rio de Janeiro, 175 p.2009.

SFACIOTTE, R. et al. Detection of the main multiresistant microorganisms in the environment of a teaching veterinary hospital in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 41, 2021.

SHI, X. et al. Accelerated spread of antibiotic resistance genes (ARGs) induced by non-antibiotic conditions: Roles and mechanisms. **Water Research**, v. 224, p. 119060, 2022.

SILVA, J. et al. Avaliação microbiológica da sala de internamento de uma clínica veterinária do município de Santarém – PA. **Conjecturas**. v. 21, n.7, 2021.

STULL, J.W.; WEESE, J.S. Hospital-associated infections in small animal practice.Clin. N. Am., **Small Animal. Practice**. v. 45, n.2, p.217-233, 2015.

SUTHAR, N., et al. An individual-based model of transmission of resistant bacteria in a veterinary teaching hospital. **PLoS ONE.**, v. 9, p.1–11, 2014.

THOMAS, J., LERCHE, P. Veterinary Anesthesia. In: BASSERT, J., THOMAS, J. **MCCurnin`s Clinical Textbook for Veterinary Techicians**. St. Louis: Saunders, Elsevier Inc, p. 1097, 2014.

TRABULSI, L.B., & ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 6 ed. Atheneu, São Paulo, 888 p., 2015.

TURK, R. et al. Prospective surgical site infection surveillance in dogs. **Veterinary Surgery**. v. 44, p. 2–8, 2015.

WALTHER, B. et al. Multidrug-resistant opportunistic pathogens challenging veterinary infection control, **Veterinary Microbiology**. v. 200, p.71–78, 2017.

WEESE, J.S. Monitoring for surgical infection. In: TOBIAS, K.M. & JOHNSTON, S.A. (Eds), **Veterinary Surgery: Small Animals**. Elsevier Saunders, Missouri. p.170-179, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Antimicrobial resistance. 21 nov, 2023. Disponível em: < <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>> Acesso em 28 março de 2025.

WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH. List of antimicrobial agents of veterinary importance. Paris, OIE, 2018.