



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CAMPINA GRANDE

**CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE PATOS**

**ESTUDO MICROBIOLÓGICO DE CADELAS SUBMETIDAS À OVÁRIO-
HISTERECTOMIA: ANÁLISE DA ANTISSEPSIA COM OU SEM BANHO
PRÉVIO E IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS CAUSADORAS DE
PIOMETRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande- UFCG, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

LYLIAN KARLLA GOMES DE MEDEIROS

PATOS – PB

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CAMPINA GRANDE

**CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE PATOS**

**ESTUDO MICROBIOLÓGICO DE CADELAS SUBMETIDAS À OVÁRIO-
HISTERECTOMIA: ANÁLISE DA ANTISSEPSIA COM OU SEM BANHO
PRÉVIO E IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS CAUSADORAS DE
PIOMETRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande- UFCG, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

LYLIAN KARLLA GOMES DE MEDEIROS

Orientador: Prof. Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto

PATOS – PB

2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

- M488e Medeiros, Lylian Karlla Gomes de
 Estudo microbiológico de cadelas submetidas à ovário-histerectomia: análise da antissepsia com ou sem banho prévio e identificação e de bactérias causadoras de piometra / Lylian Karlla Gomes de Medeiros. – Patos, 2015.
 48f.
- Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2015.
- “Orientação: Prof. Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto ”
- Referências.
1. Campo operatório. 2. Clorexidina. 3. PVP-I. 4. ESBL. 5. *Escherichia coli*. I. Título.

CDU 612.017:619

LYLIAN KARLLA GOMES DE MEDEIROS
**ESTUDO MICROBIOLÓGICO DE CADELAS SUBMETIDAS À OVÁRIO-
HISTERECTOMIA: ANÁLISE DA ANTISSEPÇÃO COM OU SEM BANHO
PRÉVIO E IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS CAUSADORAS DE
PIOMETRA**

FICHA DE AVALIAÇÃO

Aprovada em: __/__/__

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG

Prof. Dr. Adílio Santos de Azevedo
Instituto Federal de Ensino Básico, Técnico e Tecnológico da Paraíba/IFPB

Prof. Dr. Albério Antonio de Barros Gomes
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG

DEDICO

À minha filha Laura, minha princesa, amor da minha vida. Obrigada por tornar os meus dias mais felizes. Você é minha maior vitória, a você dedico esta nova conquista.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre presente em minha vida guiando os meus passos.

À minha família, meu alicerce, agradeço imensamente pelo amor dedicado: Minha mãe Nita, que sempre torceu por mim, me dando força e acreditando na minha capacidade; Meu marido, Rodrigo, que suportou minha ausência e me deu conforto nos maus momentos, obrigada pelo amor e carinho; Meus irmãos, Júnior, Kalline e Kelle, agradeço pelo carinho e pela confiança que vocês depositaram em mim; Meus sobrinhos lindos, Pedro, Vinícius, Maria Luíza e Mateus, meus amores, obrigado por vocês existirem; Meu padrasto Almir, agradeço pelo apoio; Minha cunhada, comadre e madrinha, Ivamessia, agradeço pelos conselhos; Minha cunhadinha, Pietra, obrigado pela amizade; Meus cunhados, Ferreira, Bilu, Pedro, Solírio e Pietro, agradeço pelo incentivo; Ao meu sogro, Pedro Oliveira, e minhas sogras Soliandra e Elena, agradeço pela confiança; À Tia Dudu, Marlene, Flavinha e Felipe, agradeço pelo carinho.

Ao meu orientador, professor Pedro Isidro, exemplo de profissional e de ser humano, obrigada pela confiança depositada, por seus ensinamentos, pela dedicação e acima de tudo pela amizade. Sinto-me imensamente honrada em ser sua orientada.

À minha equipe, a melhor do mundo: Alane, Fernanda, Gabriela, Gracineide, Kalyne, Meire e Renato. Nada teria sido possível sem o auxílio de vocês. Agradeço pela amizade, disposição, competência, companheirismo, momentos de descontração, enfim, obrigada por fazerem parte da minha vida.

Às minhas amigas queridas amigas de ontem, hoje e sempre: Mariana, Rafaela, Samara, Janinha, Thays, Pamela, Maedy, Júlia e Jayane, com quem posso contar sempre.

Aos residentes de cirurgia e anestesia veterinária da UFCG: David, Juliana, Amara, Érica, Kath, e Nyanne, agradeço pelo carinho e compreensão. Aos residentes de Clínica de Pequenos Animais e Patologia clínica: Aline e Márcio Eduardo, agradeço pela ajuda.

Aos membros do laboratório de microbiologia da UFCG: Felício Garino, Daniele, Ednaldo, Layse, e Rodrigo, agradeço muito pelos ensinamentos, paciência e apoio.

Aos professores Almir Pereira, Rodrigo Mendes, Ana Lucélia e a Rosileide Carneiro agradeço pelos ensinamentos e amizade.

Aos funcionários do Hospital Veterinário da UFCG, que sempre estiveram disponíveis a ajudar no que fosse necessário.

Aos animais que participaram deste projeto, pois sem eles nada teria sido realizado. A vocês e todos os outros animais dedico todo meu carinho e dedicação.

À banca, pela disponibilidade e contribuição foi conferida pela correção deste estudo.

Muito obrigada a todos os que passaram pela minha vida e que mesmo sem ter sido citado, me ajudaram de algum modo nesta conquista.

RESUMO

Com o objetivo de realizar um estudo microbiológico de cadelas submetidas à ovariário-histerectomia esta dissertação é composta de dois capítulos. O primeiro capítulo avalia os efeitos do banho prévio, da tricotomia e da antissepsia na redução da contaminação do sítio cirúrgico, bem como a eficiência antisséptica do gluconato de clorexidina 0,5% e da polivinilpirrolidona iodada 1%. O segundo trata-se de um estudo clínico e microbiológico de cadelas com piometra. No primeiro capítulo, foram utilizadas 20 cadelas hípidas, alocadas ao acaso em 2 grupos de 10 animais: os animais do Grupo I foram submetidos ao banho 24 horas antes do procedimento cirúrgico, enquanto os do Grupo II não passaram por este procedimento. Foram isolados diversos gêneros bacterianos antes e após o uso dos antissépticos. Significância estatística foi verificada entre os Grupos quanto ao efeito do banho prévio à cirurgia, apenas 2 horas após a aplicação de clorexidina. A tricotomia reduziu 26,48% da carga microbiana nos animais do Grupo I e elevou a carga microbiana em 41,19% nos animais do Grupo II, revelando diferença estatística. Após o uso dos antissépticos, não foi observada diferença estatística entre os grupos em nenhum momento. Do mesmo modo, a comparação da eficiência dos antissépticos com ou sem banho, não revelou significância estatística. A polivinilpirrolidona iodada causou reação alérgica em 15% dos animais e não foi observada irritação cutânea causada pela clorexidina. Conclui-se que o banho prévio tem efeito na redução da carga bacteriana apenas após 2 horas de antissepsia com clorexidina; a tricotomia é mais eficaz na redução microbiana quando o animal é submetido ao banho e os dois antissépticos são igualmente eficazes na antissepsia cirúrgica por até 2 horas quer o animal tome banho ou não previamente à cirurgia. No segundo capítulo utilizaram-se 35 cadelas acometidas por piometra. A idade média dos animais foi de 5,88 anos, sendo os sem raça definida os mais acometidos (62,86%). A taxa de óbito foi de 5,71%. Secreção vaginal (71,43%), inapetência (42,86%), apatia (22,86%) e distensão abdominal (20%) foram os sinais clínicos apresentados com maior frequência. Leucocitose, hipoalbuminemia, hiperglobulinemia, hiperproteinemia e elevação dos níveis de proteína C reativa foram as alterações laboratoriais observadas. A *Escherichia coli* foi a bactéria encontrada no maior número de amostras (34,29%). Norfloxacin (60,42%), imipenem (52,08%) e

gentamicina (50%) foram os antibióticos mais eficazes contra bactérias gram-negativas e neomicina (88,89%), gentamicina (84,13%) e norfloxacina (79,37%) para gram-positivas. A pesquisa de β -lactamases de espectro estendido foi realizada em todos os isolados de *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca* e constatou-se que a positividade média pelo teste de aproximação de disco e pelo E-teste foi de 80,56% e 44,44% respectivamente, indicando que algumas bactérias causadoras de piometra são produtoras de ESBL.

Palavras-chave: Campo operatório; Clorexidina, PVP-I; ESBL; *Escherichia coli*

ABSTRACT

Aiming to evaluate the microbiological study of bitches undergoing ovariohysterectomy this dissertation consists of two chapters. The first is a study evaluating the effect of prior bathing, shaving and antisepsis in reducing contamination of the surgical site, as well as the antiseptic efficiency of 0.5% chlorhexidine gluconate and 1% polyvinylpyrrolidone-iodine. The second it is a clinical and microbiological study of bitches with pyometra. In the first chapter, 20 healthy bitches, allocated randomly into 2 groups of 10 animals: Group I underwent bath 24 hours before surgery, whereas Group II did not undergo this procedure. Many bacterial genera have been isolated before and after use of antiseptics. Statistical significance was observed between the groups regarding the effect of bath prior to surgery, just two hours after application of chlorhexidine. Shaving reduced 26.48% of the microbial load in Group I and increased the microbial load in 41.19% in Group II, showing statistical difference. After the use of antiseptics, there was no statistical difference between the groups at any time. Similarly, comparison of the efficiency of the bath with or without antiseptic showed no statistical significance. The iodine polyvinylpyrrolidone caused allergic reaction in 15% of animals and was not observed skin irritation caused by chlorhexidine. We conclude that the prior bath is effective in reducing bacterial load just after 2 hours of antisepsis with chlorhexidine; shaving is more effective in reducing microbial when the animal is subjected to the bath and the two antiseptic agents are equally effective in surgical antisepsis or for up to 2 hours the animal did not take a bath or prior to surgery. In the second study 35 bitches suffering from pyometra were used. The average age of the animals was 5.88 years, and mongrel bitches were the most affected (62.86%). The death rate was 5.71%. Vaginal discharge (71.43%), inappetence (42.86%), apathy (22.86%) and bloating (20%) had clinical signs presented more frequently. Leukocytosis, hypoalbuminemia, hypergammaglobulinemia, hyperproteinemia and elevated C-reactive protein levels and alkaline phosphatase were laboratory abnormalities observed. The bacteria *Escherichia coli* was found in the larger number of samples (34.29%). Norfloxacin (60.42%), imipenem (52.08%) and gentamicin (50%) were the most effective antibiotics against gram-negative bacteria and neomycin (88.89%), gentamicin (84.13%) and norfloxacin (79.37%) to gram-positive.

The β -lactamases of extended-spectrum survey was conducted in all isolates of *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* and it was found that the average positivity by disk approximation test and by the E-test was 80.56% and 44.44% respectively, indicating that some bacteria that cause pyometra are producing ESBL.

Keywords: Field operative; Chlorhexidine, PVP-I; ESBL; *Escherichia coli*

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS.....	13
LISTA DE TABELAS	15
LISTA DE ABREVIACOES, SIGLAS E SMBOLOS	16
1 INTRODUÇÃO GERAL	17
2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18
3 CAPÍTULO I: EFEITOS DO BANHO PRÉVIO, DA TRICOTOMIA E DA ANTISSEPSIA NA REDUÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DO SÍTIO CIRÚRGICO	19
ABSTRACT.....	20
RESUMO:.....	20
INTRODUÇÃO	21
MATERIAL E MÉTODOS.....	22
RESULTADOS.....	23
DISCUSSÃO	24
CONCLUSÃO	26
REFERÊNCIAS.....	26
4 CAPÍTULO II: ASPECTOS CLÍNICOS, LABORATORIAIS E MICROBIOLÓGICOS DA PIOMETRA EM CADELAS	33
Resumo:	34
Abstract:.....	34
Introdução	35
Material e métodos.....	36
Resultados e discussão	37
Referências.....	45
5 CONCLUSOES GERAIS	49

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO I

	Pág.
Quadro 1 - Bactérias isoladas e respectiva frequência (%) antes (M1) e após a tricotomia (M2), quatro minutos após a antissepsia com clorexidina (M3c) e com polivinilpirrolidona iodada (M3p) e duas horas após a antissepsia cutânea com clorexidina (M4c) e com polivinilpirrolidona iodada (M4p), em cadelas submetidas à ovário-histerectomia que foram (Grupo I) ou não (Grupo II) submetidas a um banho 24 horas antes da cirurgia.....	29
Quadro 2 - Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por cm ² encontradas na pele de cadelas submetidas à ovário-histerectomia que foram submetidas a um banho 24 horas antes da cirurgia (Grupo I), nos momentos: antes (M1) e após a tricotomia (M2), quatro minutos após a antissepsia com clorexidina (M3c) e com polivinilpirrolidona iodada (M3p) e duas horas após a antissepsia com clorexidina (M4c) e com polivinilpirrolidona iodada (M4p).....	30
Quadro 3 - Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por cm ² encontradas na pele de cadelas submetidas à ovário-histerectomia que não foram submetidas a um banho 24 horas antes da cirurgia (Grupo II), nos momentos: antes (M1) e após a tricotomia (M2), quatro minutos após a antissepsia com clorexidina (M3c) e com polivinilpirrolidona iodada (M3p) e duas horas após a antissepsia com clorexidina (M4c) e com polivinilpirrolidona iodada (M4p).....	31
Quadro 4 - Medianas (± desvios interquartílicos) da Redução de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por cm ² (%) antes (M1) e após a tricotomia (M2), quatro minutos após a antissepsia com clorexidina (M3c) e com polivinilpirrolidona iodada (M3p) e duas horas após a antissepsia com clorexidina (M4c) e com polivinilpirrolidona iodada (M4p), em cadelas submetidas à ovário-histerectomia que foram (Grupo I) ou não (Grupo II) submetidas a um banho 24 horas antes da cirurgia.....	32

Quadro 5 - Medianas (\pm desvios interquartílicos) da Redução de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por cm² (%) quatro minutos após a antissepsia cutânea com clorexidina (M3c) e com polivinilpirrolidona iodada (M3p) e duas horas após a antissepsia com clorexidina (M4c) e com polivinilpirrolidona iodada (M4p), em cadelas submetidas à ovário-histerectomia, independente de terem ou não sido submetidas a um banho 24 horas antes da cirurgia..... **32**

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

	Pág.
Tabela 1 - Principais sinais clínicos e alterações no exame físico observados em cadelas com piometra, com respectivas frequências (percentual e absoluta).....	38
Tabela 2 - Médias e desvios padrão dos parâmetros laboratoriais observados em cadelas com piometra.....	39
Tabela 3 - Frequência (%) de isolamento bacteriano em culturas de conteúdo uterino de cadelas com piometra.....	41
Tabela 4 - Porcentagem de sensibilidade antimicrobiana das bactérias gram-negativas isoladas em culturas de conteúdo uterino de cadelas com piometra.....	42
Tabela 5 - Porcentagem de sensibilidade antimicrobiana das bactérias gram-positivas isoladas em culturas de conteúdo uterino de cadelas com piometra.....	42
Tabela 6- Pesquisa de ESBL através dos testes de aproximação de disco e E-teste em isolados de <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> e <i>Klebsiella oxytoca</i> provenientes do conteúdo uterino de cadelas com piometra.....	44

LISTA DE ABREVIACOES, SIGLAS E SÍMBOLOS

ALT - Alanina aminotransferase

BHI - Brain Heart Infusion

cm² - centímetro quadrado

ESBL - β -lactamases de espectro estendido

g/dL - Gramas/decilitro

mg/dL - Miligrama/decilitro

mg/L - Miligrama/litro

mm³ - milímetro cúbico

OH - Ovário-histerectomia

PCA - Plate Count Agar

PCR - proteína C reativa

PVP-I - polivinilpirrolidona iodada

Tab -Tabela

U/L -Unidades/litro

UFC - Unidades Formadoras de Colônia

VM - vermelho de metila

VP - Voges-Proskauer

μ L - microlitro

1 INTRODUÇÃO GERAL

A ovário-histerectomia (OH) constitui o procedimento cirúrgico mais realizado na clínica de pequenos animais e tem como principais objetivos o controle populacional e a prevenção e terapêutica de doenças de ordem reprodutiva (BELCHIOR, 2008; SILVA, 2011).

A OH eletiva é considerada de fácil execução (SILVEIRA et al., 2013), porém, podem ocorrer algumas complicações decorrentes principalmente de procedimentos técnicos realizados de forma inadequada (SANTOS et al., 2009). A infecção cirúrgica constitui um destes problemas, uma vez que pode ser desencadeada pela ausência de uma técnica asséptica eficiente. Para sua prevenção, dentre outros cuidados, a antisepsia representa fator fundamental, e tem como objetivo impedir o crescimento de bactérias no campo cirúrgico (MAGALINE et al., 2013). A clorexidina e a polivinilpirrolidona iodada (PVP-I) são os antissépticos utilizados com maior frequência na antisepsia cirúrgica, no entanto, a eficácia desses antissépticos ainda é controversa (GARCIA, 2010).

A OH é considerada o tratamento de eleição para algumas patologias de ordem reprodutiva (VICENTE et al., 2013) dentre as quais destaca-se a piometra. A piometra é uma doença ocorrida principalmente no diestro, caracterizada por acúmulo de conteúdo purulento no útero. As cadelas portadoras desta patologia podem apresentar diversos sinais clínicos, podendo evoluir para quadros graves (JOHNSON, 2010). A confirmação do diagnóstico deve ser realizada por meio de ultrassonografia (BIGLIARDI et al., 2004). Quanto ao tratamento, o mais preconizado é a OH terapêutica, contudo, a realização do exame microbiológico do conteúdo uterino é de grande valia, visto que na ausência da utilização de antibióticos corretos o tratamento pode ser falho.

Com o objetivo de realizar um estudo microbiológico de cadelas submetidas à OH esta dissertação é composta de dois capítulos. No primeiro capítulo avaliam-se os efeitos do banho prévio, da tricotomia e da antisepsia na redução da contaminação do sítio cirúrgico em animais submetidos à cirurgia eletiva. O segundo trata-se de um estudo clínico e microbiológico de cadelas com piometra, onde foi realizada a OH terapêutica.

2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELCHIOR, C. **Comparação do Efeito Analgésico entre Morfina, Tramadol e Buprenorfina em Gatas Submetidas a Ovariosalpingo-histerectomia Eletiva.** 2008. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2008.

BIGLIARDI, E. et al. Ultrasonography and cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. **Reprod Domest Anim.**, v.39, n.3, p.136-140, 2004.

GARCIA, R. Surgical Skin Antisepsis. **Perioperative Nursing Clinics.** v.5, p.457-477, 2010.

JOHNSON, C. A. Distúrbios do Sistema Reprodutivo. In: NELSON R.W.; COUTO C.G. (Eds). **Manual de medicina interna de pequenos animais.** 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p.885-982.

MAGALINE, S. et al. Observational study on preoperative surgical field disinfection: povidone-iodine and chlorhexidine-alcohol. **Eur Rev Med Pharmacol Sci.**, v.17, n.24, p.3367-3375, 2013.

SANTOS, F. C. et al. Complicações da esterilização cirúrgica de fêmeas caninas e felina. Revisão da literatura. **Vet. e Zootec.**, v.16, n.1, p.8-18, 2009.

SILVA, F. L. **Analgesia preemptiva em cadelas submetidas à ovariosalpingohisterectomia: avaliação de distintos protocolos terapêuticos.** 2011. Tese (doutorado em Ciência Animal) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, 2011.

SILVEIRA, C. P. et al. Estudo retrospectivo de ovariosalpingo-histerectomia em cadelas e gatas atendidas em Hospital Veterinário Escola no período de um ano. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.65, n.2, p.335-340, 2013.

VICENTE, P. U. C., et al. Técnica de ovario-salpingo-histerectomia, em felinos da espécie *Felis catus* (gato doméstico), sem o uso de fios ou lacres. **A Hora Veterinária**, n.191, 2013.

3 CAPÍTULO I: EFEITOS DO BANHO PRÉVIO, DA TRICOTOMIA E DA ANTISSEPSIA NA REDUÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DO SÍTIO CIRÚRGICO

Manuscrito submetido à revista
Pesquisa Veterinária Brasileira

Efeitos do banho prévio, da tricotomia e da antissepsia na redução da contaminação do sítio cirúrgico¹

Lylian K. G. Medeiros*², Renato O. Rego², Meire M. S. Macêdo², Fernanda V. Henrique², Kalyne D. S. Oliveira³, Felício G. Júnior², Almir P. Sousa² e Pedro I. Nóbrega Neto²

ABSTRACT: Medeiros L.K.G., Rego R.O., Macêdo M.M.S, Henrique F.V., Oliveira K.D.S., Garino Júnior F., Sousa A.P & Pedro I. Nóbrega Neto. [Effects of the previous bath, the trichotomy and antiseptics in reducing contamination of the surgical site.] Efeitos do banho prévio, da tricotomia e da antissepsia na redução da contaminação do sítio cirúrgico. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Av. Universitária, s/n. Bairro Sta. Cecília. Patos, PB 58.708-110, Brazil. E-mail: lyliankarlla@hotmail.com.

The objective of this study is to analyze the influence of bath 24 hours before surgery and shaving in reducing microbial count of the operating field skin and antiseptic efficiency of 0.5% chlorhexidine gluconate and 1% iodine polyvinylpyrrolidone for antiseptics of the surgical site, by checking its action four minutes and 2 hours after application. We used 20 healthy bitches, randomly allocated into 2 groups of 10 animals: Group I underwent bath 24 hours before surgery, whereas Group II did not undergo this procedure. Many bacterial genera have been isolated before and after use of antiseptics. Statistical significance was observed between the groups regarding the effect of bath prior to surgery, just two hours after application of chlorhexidine. Shaving reduced 26.48% of the microbial load in Group I and increased the microbial load in 41.19% in Group II, showing statistical difference. After the use of antiseptics, there was no statistical difference between the groups at any time. Similarly, comparison of the efficiency of the bath with or without antiseptic showed no statistical significance. The iodine polyvinylpyrrolidone caused allergic reaction in 15% of animals and was not observed skin irritation caused by chlorhexidine. We conclude that the prior bath is effective in reducing bacterial load just after 2 hours of antiseptics with chlorhexidine; shaving is more effective in reducing microbial when the animal is subjected to the bath and the two antiseptic agents are equally effective in surgical antiseptics or for up to 2 hours the animal did not take a bath or prior to surgery.

INDEX TERMS: Antiseptic, Operative field, Chlorhexidine, PVP-I

RESUMO: Objetivou-se com este estudo analisar a influencia do banho 24 horas antes do procedimento cirúrgico e da tricotomia na redução da contagem microbiana da pele do campo operatório, bem como a eficiência antisséptica do gluconato de clorexidina 0,5% e da polivinilpirrolidona iodada 1% para antissepsia do sítio cirúrgico, verificando sua ação 4 minutos e 2 horas após aplicação. Utilizaram-se 20 cadelas hípidas, alocadas

¹ Recebido em

Aceito para publicação em

²Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Av. Universitária, s/n. Bairro Sta. Cecília. CEP: 58.708-110, Patos, PB. E-mails: renato_otaviano@yahoo.com.br, meiremacedo@yahoo.com.br, nandinhavh@gmail.com, garinofjr@hotmail.com, almir@cstr.ufcg.edu.br, pedroisidro@ymail.com

*Autor para correspondência: lyliankarlla@hotmail.com

³Curso de Graduação em Medicina Veterinária, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Av. Universitária, s/n. Bairro Sta. Cecília. CEP: 58.708-110, Patos, PB. E-mails

ao acaso em 2 grupos de 10 animais: os animais do Grupo I foram submetidos ao banho 24 horas antes do procedimento cirúrgico, enquanto os do Grupo II não passaram por este procedimento. Foram isolados diversos gêneros bacterianos antes e após o uso dos antissépticos. Significância estatística foi verificada entre os Grupos quanto ao efeito do banho prévio à cirurgia, apenas 2 horas após a aplicação de clorexidina. A tricotomia reduziu 26,48% da carga microbiana nos animais do Grupo I e elevou a carga microbiana em 41,19% nos animais do Grupo II, revelando diferença estatística. Após o uso dos antissépticos, não foi observada diferença estatística entre os grupos em nenhum momento. Do mesmo modo, a comparação da eficiência dos antissépticos com ou sem banho, não revelou significância estatística. A polivinilpirrolidona iodada causou reação alérgica em 15% dos animais e não foi observada irritação cutânea causada pela clorexidina. Conclui-se que o banho prévio tem efeito na redução da carga bacteriana apenas após 2 horas de antissepsia com clorexidina; a tricotomia é mais eficaz na redução microbiana quando o animal é submetido ao banho e os dois antissépticos são igualmente eficazes na antissepsia cirúrgica por até 2 horas quer o animal tome banho ou não previamente à cirurgia.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Antisséptico, Campo operatório, Clorexidina, PVP-I

INTRODUÇÃO

A infecção da ferida cirúrgica constitui um aspecto preocupante devido à sua alta taxa de morbidade e mortalidade (Oliveira et al. 2002). É determinada por diversos fatores, entre eles, quantidade e tipo de contaminação, técnica cirúrgica e anestésica empregada e resistência do indivíduo (Rocha 2008). Na medicina veterinária, estudos observaram índices de infecção do sítio cirúrgico de 5,9 a 9,5% (Bernis Filho et al. 1998, Nicholson et al. 2002, Braga 2008, Arias et al. 2013).

A prevenção da infecção representa aspecto determinante para evitar as complicações pós-cirúrgicas (Reis 2014). A administração profilática de antimicrobianos é muito utilizada no controle de infecções cirúrgicas (Braga et al. 2012), contudo, o emprego errôneo desses fármacos favoreceu o aparecimento de microrganismos resistentes, diminuindo a eficiência desta prática (Oliveira et al. 2011). Assim sendo, a forma mais eficaz de prevenção da infecção cirúrgica é através do uso de uma técnica asséptica rigorosa, que envolve a preparação do paciente, da equipe cirúrgica, esterilização dos equipamentos, preparação das instalações cirúrgicas, emprego de uma técnica operatória adequada e cuidados pós-operatórios (Cockshutt 2007).

Quanto à preparação do paciente, preconiza-se a realização do banho 24 horas antes da cirurgia, bem como a remoção dos pelos e antissepsia do local cirúrgico (Silva et al. 2009). A antissepsia consiste em um processo que inibe ou extermina os microrganismos de um determinado ambiente, através do uso de antissépticos (Moriya & Módena 2008) e representa papel essencial no procedimento cirúrgico, devendo agir sobre os microrganismos presentes na pele (Monteiro et al. 2001, Magaline et al. 2013). A microbiota da pele é classificada como residente e transitória, sendo a residente composta pelas bactérias que habitam normalmente a pele, e a transitória pelas adquiridas pelo contato direto com o ambiente. Os microrganismos residentes na pele canina são *Staphylococcus epidermitis*, *Corynebacterium spp.*, *Micrococcus spp.* e *Pityrosporum spp.* Os transitórios são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus intermedius*, *Escherichia coli* (Silva et al. 2009).

Segundo Garcia (2010) embora a utilização de antissépticos seja muito difundida, ainda não se sabe de fato qual o que possui maior eficácia. Dentre os antissépticos utilizados, destacam-se a clorexidina, um antisséptico pertencente ao grupo das biguanidas que possui amplo espectro de ação, tem mínima absorção sistêmica e efeito rápido e duradouro (Ibáñez & Casamada 2005) e a polivinilpirrolidona iodada (PVP-I) um composto hidrossolúvel de polivinilpirrolidona e iodo, efetivo contra bactérias, vírus e fungos (Delucia 2007).

Desta forma, objetivou-se com este estudo analisar a influência do banho realizado 24 horas antes do procedimento cirúrgico e da tricotomia na redução da contagem microbiana da pele do campo operatório, bem como a eficiência antisséptica do gluconato de clorexidina 0,5% e da PVP-I 1% para antissepsia do sítio cirúrgico, verificando sua ação 4 minutos e 2 horas após aplicação.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado no Centro Cirúrgico e no Laboratório de Microbiologia do Hospital Veterinário da UFCG, em Patos- PB. Foram utilizadas 20 cadelas híginas, sem alterações cutâneas, de raças, pesos e idades variadas, provenientes da rotina clínico-cirúrgica do referido Hospital, as quais foram submetidas ao procedimento de ovário-histerectomia eletiva. Após autorização por escrito dos proprietários e parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa da UFCG (protocolo 216/2014), os animais foram alocados, ao acaso, em dois grupos de igual quantidade: os animais do Grupo I foram submetidos ao banho com xampu comercial neutro para cães, 24 horas antes do procedimento cirúrgico, enquanto que os animais do Grupo II não foram submetidos ao banho.

As amostras foram coletadas na região abdominal retroumbilical, no sentido craniocaudal e lateral, com auxílio de *swabs* estéreis embebidos em água peptonada 0,1% estéril, contida em tubo de ensaio, retornando ao mesmo tubo imediatamente após a coleta. A área de coleta da amostra foi delimitada com o auxílio de moldes de papel estéril, com uma janela medindo 4x4 centímetros. Em cada animal a antissepsia foi realizada com os dois antissépticos, sendo um lado do abdome com PVP-I 1% e o outro com clorexidina 0,5%. O lado a ser tratado com clorexidina foi escolhido através de sorteio no primeiro animal e a partir do segundo animal inverteu-se continuamente os lados tratados com cada antisséptico, de modo que ambos os produtos fossem utilizados equitativamente em ambos os quadrantes (direito e esquerdo) do abdome.

As amostras foram identificadas segundo o local de onde foram coletadas e o momento da coleta: na linha média, antes da tricotomia (M1); na linha média, imediatamente após a tricotomia (M2); na área preparada com clorexidina, quatro minutos após sua aplicação (M3c); na área preparada com PVP-I, quatro minutos após sua aplicação (M3p); na área preparada com clorexidina, duas horas após sua aplicação (M4c); e na área preparada com PVP-I, duas horas após sua aplicação (M4p). A tricotomia foi realizada com tricótomo de navalha convencional, empregando apenas água limpa.

As amostras obtidas foram agitadas por 1 minuto e em seguida diluídas em 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . De cada diluição, foram retiradas alíquotas de 1 ml e plaqueadas em duplicata pelo método de "Pour Plate" em meio Plate Count Agar (PCA), previamente fundido e resfriado a 45°C. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas para contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC)/cm². As amostras foram também

semeadas em meio de cultura Ágar sangue ovino 5% para avaliação dos aspectos morfológicos das colônias e morfotintoriais à técnica de Gram. Foi inoculado 0,1 ml de cada diluição em placa previamente preparada, com auxílio de uma alça de Drigalski, espalhando-se o inóculo por toda a superfície, sendo incubadas a 37°C e para realização da leitura após 48 horas. Para identificação de bactérias gram-positivas foram realizadas as provas da catalase, oxidase e coagulase, além da produção de urease, reação de Voges-Proskauer (VP), redução de nitrato, hidrólise de esculina e fermentação dos açúcares: D-Manitol, D-Manose, trealose, xilose, maltose, lactose, arabinose, rafinose e sacarose. Para a identificação de bactérias gram-negativas foram realizadas as provas bioquímicas de TSI, motilidade, SIM, malonato, produção de indol, produção de urease, produção de gelatinase, produção de fenilalanina desaminase, utilização de citrato, reação de vermelho de metila (VM) e Voges-Proskauer (VP), fermentação da lactose, hidrólise de esculina e redução de nitrato. Os microrganismos isolados foram identificados com base em Murray (1999).

O percentual de redução bacteriana após a tricotomia (M2), 4 minutos após a antissepsia com clorexidina (M3c) e PVP-I (M3p) e duas horas após a antissepsia com clorexidina (M4c) e PVP-I (M4p), em cada Grupo, foi calculado com um modelo matemático adaptado de Osuna et al. (1990), apresentado a seguir:

$$\text{Redução de bactérias (\%)} \text{ após a tricotomia} = \frac{\text{UFC no M1} - \text{UFC no M2}}{\text{UFC no M1}} \times 100$$

$$\text{Redução de bactérias (\%)} \text{ 4 minutos após antissepsia com clorexidina (M3c) e PVP-I (M3p) e duas horas após a antissepsia com Clorexidina (M4c) e PVP-I (M4p)} =$$

$$\frac{\text{UFC no M2} - \text{UFC no M3c, M3p, M4c ou M4p}}{\text{UFC no M2}} \times 100$$

Para comparar a eficácia média dos antissépticos, mensurou-se o percentual médio de redução bacteriana, utilizando as mesmas fórmulas citadas acima empregando os 20 animais do experimento, sem distinção entre grupos.

Os dados obtidos foram analisados com o programa Bioestat 5.3, ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$). A quantidade de colônias de bactérias obtidas em cada tratamento foi analisada empregando o teste t de Student para os dados que apresentavam distribuição normal, e o teste U de Mann-Whitney para os de distribuição não normal. A comparação dos dois antissépticos foi realizada sem distinção de grupos através do teste U de Mann-Whitney. Os dados de distribuição normal são apresentados como média \pm desvio padrão e os de distribuição não normal como mediana \pm desvio interquartilico.

RESULTADOS

Todas as amostras coletadas antes do uso de antissépticos (M1 e M2) apresentaram crescimento bacteriano. As gêneros isolados estão disponíveis no Quadro 1.

Os dados referentes ao crescimento de UFC por cm² nos Grupos I e II estão disponíveis nos Quadros 2 e 3. Não foi observada significância estatística ao comparar

os momentos M1, M2, M3c, M3p e M4p do Grupo I com o Grupo II. Porém, ao comparar o M4c dos dois grupos foi constatada diferença estatística ($p < 0,05$), indicando que após 2 horas de antissepsia com clorexidina os animais que foram submetidos ao banho prévio apresentaram menor número de UFC por cm^2 .

Após realização da tricotomia (M2), observou-se nas amostras do Grupo I medianas de redução microbiana de 26,48%, enquanto nas do Grupo II ocorreu aumento de 41,19% no número de colônias bacterianas, indicando diferença estatística significativa ($p < 0,05$) (Quadro 4). Quanto aos demais momentos experimentais, as comparações entre os grupos não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) quanto ao percentual médio de redução bacteriana (Quadro 5).

Dos 20 animais avaliados, 3 (15%) apresentaram reação alérgica ao PVP-I, manifestadas por eritema, edema e pápula, não sendo observada nenhuma reação à clorexidina.

DISCUSSÃO

Diversas bactérias foram isoladas da pele das cadelas no presente estudo. Em ambos os grupos, foi observada a presença de bactérias residentes e transitórias no M1, revelando que mesmo com a realização do banho prévio, bactérias ambientais podem ser encontradas. Tendo em vista que as bactérias ambientais são descritas como de fácil eliminação (ANVISA 2000), a presença das mesmas pode estar relacionada a uma nova colonização no período pós-banho e/ou pré-cirúrgico.

Silva et al. (2000) observaram os gêneros *Staphylococcus* sp., *Micrococcus* sp., *Bacillus* sp., *Corynebacterium* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp., *Escherichia coli* e *Acinetobacter* sp. na pele canina imediatamente após a tricotomia, resultado semelhante ao encontrado no presente estudo, indicando que a microbiota cutânea destes animais é pouco variável.

Após o uso da clorexidina (M3c), em ambos os grupos foi observada resistência de 4 gêneros bacterianos, discordando de Monteiro et al. (2001), onde o único gênero resistente foi o *Bacillus* sp., o que, segundo os autores, pode ser justificado pelo espectro de ação da clorexidina que não atua em microrganismos que esporulam. No presente estudo a resistência verificada aplicou-se tanto às bactérias que esporulam, quanto as que não esporulam, fato que pode estar relacionado à concentração do antisséptico utilizado (0,5%) que era inferior a dos autores citados (2%).

As bactérias observadas após o uso da PVP-I (M3p), em ambos os Grupos, denotam que assim como o ocorrido com a clorexidina, alguns microrganismos são resistentes a este antisséptico. Araújo et al. (2013) observaram em seu estudo o crescimento de *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *E. coli* e cocos gram-negativos antes da antissepsia e, após a realização da mesma com PVP-I, verificou-se que apenas *Streptococcus* sp. foi destruído pelo antisséptico. Monteiro et al. (2001) que observaram a presença de *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus* sp., *S. aureus* e *Streptococcus* sp. antes da utilização, constatou que o PVP-I além de ter sido efetivo contra *Streptococcus* sp., eliminou também *E. coli* e *Proteus mirabilis*. Estes achados sugerem que o espectro de ação do PVP-I pode variar, podendo estar relacionado não apenas a espécie e sim aos fatores intrínsecos da bactéria isolada.

Nos momentos M4c e M4p também foram encontrados diversos tipos bacterianos em ambos os grupos, e evidenciou-se que do mesmo modo que algumas

bactérias que estavam presentes em M3c e M3p não foram mais observadas, o que pode estar relacionado com a necessidade de um maior tempo de exposição para sua eliminação, outras, que haviam sido destruídas, voltaram a aparecer, possivelmente devido ao efeito residual reduzido do antisséptico, que permitiu uma recolonização provavelmente a partir da pele circunvizinha à área tricotomizada.

Arias et al. (2013) conferiram a presença de *Pseudomonas* sp., *Streptococcus* sp., *Acinetobacter* sp. e um bacilo gram-negativo associados a infecções cirúrgicas de cães e gatos. Em humanos, infecções cirúrgicas causadas por *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* já foram descritas (Lima et al. 2007, Nogueira et al. 2009). Percebe-se que as bactérias descritas anteriormente como promotoras de infecção cirúrgica em animais e humanos foram isoladas da pele das cadelas analisadas neste trabalho, contudo, das isoladas em infecções de cães e gatos, apenas a *Pseudomonas* sp. não foi eliminada com o uso de antissépticos. Vale salientar ainda, que a simples presença de bactérias no sítio cirúrgico não indica grande risco de infecção, pois é necessário que se atinja o nível crítico de contaminação bacteriana de 10^5 bactérias/g de tecido para que uma infecção se instale (Dunning 2007). Além disso, a presença de fatores de risco no paciente também deve ser considerada (Nicholson et al. 2002).

Quanto à ação do banho prévio, embora na maioria dos momentos os grupos não tenham diferido entre si, a diferença verificada no M4c indica a importância da sua realização, pois sugere que, embora o banho aparentemente não interfira na contaminação trans-cirúrgica, sua ausência pode facilitar a contaminação pós-cirúrgica. Araújo et al. (2013) acreditam que o alto valor de UFC observado antes da aplicação de antissépticos em seu estudo pode ter sido relacionado à ausência do banho pré-operatório porém, mesmo com a ausência do banho o número de colônias observadas foi inferior a 10^5 bactérias/g de tecido.

A redução da contagem bacteriana conferida após a realização da tricotomia se mostrou eficiente nos animais submetidos ao banho (Grupo I), uma vez que houve decréscimo no número de UFC após execução da mesma. Em contrapartida, observou-se no Grupo II aumento significativo no número de bactérias, o qual pode ter sido ocasionado pelo carreamento de bactérias do pelo sujo para a pele, devido ao maior contato pelo-pele que ocorre durante a tricotomia. Assim sendo, evidencia-se a importância do banho prévio ao procedimento cirúrgico, tendo em vista que o pelo após o banho apresenta colonização microbiana reduzida, transportando assim menor número de bactérias para a pele durante a tricotomia. Contudo, segundo Paula & Carvalho (2010) a tricotomia pode aumentar o risco de infecção, pois causa lesões epidérmicas rapidamente colonizadas por bactérias residentes, principalmente se realizada através de navalha (Fossum 2014), como no presente estudo.

A ausência de significância estatística na comparação da redução média de bactérias, entre os momentos M3c, M3p, M4c e M4p, em ambos os Grupos, mostra que independentemente de o animal ter sido ou não submetido ao banho prévio, a redução de bactérias após o uso dos antissépticos foi semelhante. Porém, este achado pode não estar relacionado à ineficiência do banho prévio, e sim à eficácia dos antissépticos utilizados.

A mensuração do percentual médio de redução bacteriana após a aplicação dos antissépticos mostrou que ambos foram eficientes na antisepsia do campo cirúrgico 4 minutos e 2 horas após sua aplicação, quando a amostra englobou tanto animais submetidos quanto não submetidos ao banho 24 horas antes do procedimento cirúrgico.

Este achado é semelhante ao observado por Osuna et al. (1990) que verificaram redução microbiana satisfatória tanto com o uso da PVP-I quanto da clorexidina a 4%, até 8 horas após a aplicação. Silva et al. (2000) em seu estudo com clorexidina a 4% e tintura de iodo a 2% também observaram redução bacteriana adequada em até 2 horas após a aplicação. Desta forma, pode-se constatar que a utilização de ambos os antissépticos pode ser realizada com segurança para redução de bactérias em procedimentos cirúrgicos, uma vez que conferiram ação satisfatória após 4 minutos, bem como efeito residual de 2 horas mesmo na presença de sangue e fluidos existentes no procedimento de ovário-histerectomia eletiva de cadelas.

As reações cutâneas observadas em alguns animais do Grupo II foram desencadeadas pela PVP-I, embora Moriya & Módena (2008) citem que os iodóforos raramente provocam reações alérgicas. Estas alterações foram também verificadas por Osuna et al. (1990), onde 50% dos animais que tiveram a pele preparada com PVP-I apresentaram reação alérgica. De acordo com Quinn et al. (2005) um antisséptico ideal não deve causar irritação local, portanto, quanto a este aspecto, houve superioridade na antissepsia realizada com a clorexidina, onde não foi encontrada reação alérgica em nenhum animal.

CONCLUSÃO

Conclui-se que diversos tipos de bactérias podem ser isolados de cadelas submetidas ou não ao banho prévio e que mesmo após o uso de antissépticos esta microbiota permanece variada; o banho prévio à cirurgia reduz a contagem microbiana da pele do campo operatório apenas após 2 horas de antissepsia com clorexidina; a tricotomia é mais eficaz na redução desta contagem quando o animal toma banho previamente à cirurgia; e a eficácia antisséptica e o efeito residual da clorexidina 0,5% são iguais aos do PVP-I 1%, independentemente de o animal tomar ou não banho previamente à cirurgia.

REFERÊNCIAS

- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). 2000. Curso Básico de Controle de Infecção Hospitalar. (Caderno C). Ministério da Saúde, Brasília. 388p.
- Arias M.V.B, Aiello G., Battaglia L.A. & Freitas J.C. 2013. Estudo da ocorrência de infecção hospitalar em cães e gatos em um centro cirúrgico veterinário universitário. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 33:771-779.
- Araújo S.B., Mello A.C., Monteiro N.M.O, Stipp D.T., & Buquera L.E.C. 2013. Avaliação bacteriológica do sítio cirúrgico antes e após a antissepsia e ao final do procedimento cirúrgico. *Acta Veterinaria Brasilica*.7:104-106.
- Bernis Filho W.O., Rezende C.M.F., Abreu V.L.V. & Bernis V.M.O. 1998. Infecções hospitalares em feridas cirúrgicas de pequenos animais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 50:127-132.

Braga D.P., Borges A.P.B., Carvalho T.B, Santos L.C. & Corsinis C.M.M. 2012. Antibioticoprofilaxia em cirurgias de cães e gatos: Necessidade e realidade. *Rev. Ceres.* 59:758-764.

Braga D.P. 2008. Incidência e fatores de risco associados à infecção do sítio cirúrgico na clínica de cães e gatos do hospital veterinário da Universidade Federal de Viçosa. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 104p.

Cockshutt J. 2007. Princípios de Assepsia Cirúrgica, p. 149-155. In: SLATTER, D. (Ed), *Manual de Cirurgia de Pequenos Animais.* 3rd ed. Manole, São Paulo.

Delucia R. 2007. *Farmacologia Integrada.* 3rd ed. Revinter, Rio de Janeiro. 701p.

Dunning D. 2007. Infecção da ferida cirúrgica e uso de antimicrobianos, p. 113-122. In: SLATTER, D. (Ed), *Manual de Cirurgia de Pequenos Animais.* 3rd ed. Manole, São Paulo.

Fossum TW. 2014. Preparação do campo operatório, p. 39-44. In: Fossum, TW (Ed), *Cirurgia de Pequenos animais.* 4rd ed. Elsevier, Rio de Janeiro.

Garcia R . 2010. Surgical Skin Antisepsis. *Perioperative Nursing Clinics.* 5:457–477.

Ibanéz N. & Casamada N. 2005. Chlorhexidine: the ideal antiseptic. *Rev Enferm.*28:31-35.

Lima M. E., Andrade D., Haas V.J. 2007. Avaliação Prospectiva da Ocorrência de Infecção em Pacientes Críticos de Unidade de Terapia Intensiva. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva.* 19:342-347.

Magaline S., Pepe G., Panuzi S., De gaetano A., Abatini C., Di Giorgi A., Foco M. & Gui d. 2013. Observational study on preoperative surgical field disinfection: povidone-iodine and chlorhexidine-alcohol. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.,* 17:3367-3375.

Monteiro V.L.C., Coelho M.C.O.C., Mota R.A., Carrazzoni P.G. Tenório Filho F. Lima E.T. & Monteiro F.G.C. 2001. Anti-sepsia de pele de cães utilizando-se clorhexidina a 2%, povidine a 10% e álcool iodado a 5%. *Ciência Animal.* 12:7-12.

Moriya T. & Módena J.L.P. 2008. Assepsia e antissepsia: técnicas de esterilização. *Medicina.* 41:261-269.

Murray P.R. 1999. *Manual of Clinical Microbiology.*7th ed. American Society for Microbiology, Washington. 1773p.

Nicholson M., Beal M., Shofer F. & Brow D.C. 2002. Epidemiologic evaluation of postoperative wound infection in clean-contaminated wounds: A retrospective study of 239 dogs and cats. *Veterinary Surgery.* 31:577-581.

- Nogueira P.S.F., Moura E.R.F. Costa M.M.F, Monteiro W.M.S & Brondi L. 2009. Perfil da infecção hospitalar em um hospital universitário nosocomial. Rev. enferm. UERJ. 17:96-101.
- Oliveira A.C., Martins M.A., Martinho G.H., Clemente W.T. & Lacerda R.A. 2002. Estudo comparativo do diagnóstico da infecção do sítio cirúrgico durante e após a internação. Rev Saúde Pública. 36:717-722.
- Oliveira F.B.M., Lima L.M., Moura M.E.B., Nunes B.M.V.T & Oliveira B.M. 2011. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: uma reflexão no tratamento das infecções hospitalares. Revista Interdisciplinar NOVAFAPI. 4:72-77.
- Osuna D.J., DeYoung D.J., Walker R.L. 1990. Comparison of three skin preparation techniques; part 2: Clinical trial in 100 dogs. Vet. Surg. 19:20-23.
- Paula R.A. & Carvalho M.V.H. 2010. Cuidados com a região a ser operada. Perspectivas Médicas. 1:33-38.
- Quinn P.J. 2005. Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas. Artmed, Porto Alegre. 512p
- Reis U.O.P. 2014. Controle da infecção hospitalar no centro cirúrgico: revisão integrativa. Revista Baiana de Enfermagem. 28:303-310.
- Rocha J.J.R. 2008. Infecção em cirurgia e cirurgia das infecções. Medicina. 41:487-490.
- Silva D.A.R., Costa M.M., Vargas A.C., Alievi M.M., Schossler .E.W & Silva T.R. 2000. O gluconato de clorexidina ou o álcool-iodo-álcool na anti-sepsia de campos operatórios em cães. Ciência Rural. 30:431- 437.
- Silva A.C., Aleixo G.A.S. & Potier G.M.A. 2009. Profilaxia das infecções, p. 49-66. In: TUDURY, A. E.; Potier, G. M. A. (Eds), Tratado de Técnica Cirúrgica Veterinária. 1th ed. Medvet, São Paulo.

Quadro 1 – Bactérias isoladas e respectiva frequência (%) antes (M1) e após a tricotomia (M2), quatro minutos após a antissepsia com clorexidina (M3c) e com polivinilpirrolidona iodada (M3p) e duas horas após a antissepsia cutânea com clorexidina (M4c) e com polivinilpirrolidona iodada (M4p), em cadelas submetidas à ovário-histerectomia que foram (Grupo I) ou não (Grupo II) submetidas a um banho 24 horas antes da cirurgia

MOMENTOS	GRUPO I	GRUPO II
M1	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 30%	<i>Bacillus</i> sp. 40%
	<i>Acinetobacter</i> sp. 20%	<i>S. aureus</i> 40%
	<i>Bacillus</i> sp. 20%	<i>Acinetobacter</i> sp. 20%
	<i>Micrococcus</i> sp. 20%	<i>Micrococcus</i> sp. 20%
	<i>S. aureus</i> 20%	<i>S. chromogenes</i> 20%
	<i>S. xylosum</i> 20%	<i>S. saprophyticus</i> 20%
	<i>Corynebacterium</i> sp. 10%	<i>Streptococcus</i> sp. 20%
	<i>E. coli</i> 10%	<i>Corynebacterium</i> sp. 10%
	<i>S. chromogenes</i> 10%	<i>E. coli</i> 10%
	<i>S. epidermidis</i> 10%	<i>Pseudomonas</i> sp. 10%
	<i>S. intermedius</i> 10%	<i>S. intermedius</i> 10%
	<i>S. lugdunensis</i> 10%	<i>S. xylosum</i> 10%
	<i>S. saprophyticus</i> 10%	
M2	<i>S. aureus</i> 40%	<i>S. aureus</i> 40%
	<i>S. saprophyticus</i> 30%	<i>Micrococcus</i> sp. 30%
	<i>Corynebacterium</i> sp. 20%	<i>Corynebacterium</i> sp. 20%
	<i>S. chromogenes</i> 20%	<i>S. chromogenes</i> 20%
	<i>Bacillus</i> sp. 10%	<i>S. intermedius</i> 20%
	<i>K. pneumoniae</i> 10%	<i>S. saprophyticus</i> 20%
	<i>Micrococcus</i> sp. 10%	<i>Bacillus</i> sp. 10%
	<i>Pseudomonas</i> sp. 10%	<i>E. coli</i> 10%
	<i>S. intermedius</i> 10%	<i>S. epidermidis</i> 10%
	<i>S. lugdunensis</i> 10%	<i>S. lugdunensis</i> 10%
<i>S. xylosum</i> 10%		
M3c	<i>Bacillus</i> sp. 10%	<i>S. aureus</i> 30%
	<i>Corynebacterium</i> sp. 10%	<i>Bacillus</i> sp. 20%
	<i>K. pneumoniae</i> 10%	<i>S. intermedius</i> 20%
	<i>S. aureus</i> 10%	<i>E. coli</i> 10%
	<i>S. epidermidis</i> 10%	<i>Pseudomonas</i> sp. 10%
	<i>S. lugdunensis</i> 10%	<i>S. chromogenes</i> 10%
<i>S. xylosum</i> 10%	<i>S. saprophyticus</i> 10%	
M3p	<i>Bacillus</i> sp. 10%	<i>S. aureus</i> 50%
	<i>K. pneumoniae</i> 10%	<i>Bacillus</i> sp. 10%
	<i>S. lugdunensis</i> 10%	<i>Corynebacterium</i> 10%
	<i>S. saprophyticus</i> 10%	<i>S. lugdunensis</i> 10%
<i>S. xylosum</i> 10%	<i>S. saprophyticus</i> 10%	

M4c	<i>S. aureus</i> 20%	<i>Bacillus sp.</i> 50%
	<i>S. chromogenes</i> 20%	<i>Micrococcus</i> 20%
	<i>Bacillus sp.</i> 10%	<i>S. intermedius</i> 20%
	<i>Micrococcus sp.</i> 10%	<i>S. aureus</i> 10%
	<i>S. lugdunensis</i> 10%	<i>S. epidermidis</i> 10%
M4p	<i>Micrococcus sp.</i> 20%	<i>S. aureus</i> 40%
	<i>S. chromogenes</i> 30%	<i>Bacillus sp.</i> 30%
	<i>S. aureus</i> 10%	<i>Micrococcus sp.</i> 10%
	<i>S. epidermidis</i> 10%	<i>Pseudomonas sp.</i> 10%
	<i>S. saprophyticus</i> 10%	<i>S. epidermidis</i> 10%
		<i>S. intermedius</i> 10%
	<i>S. saprophyticus</i> 10%	

Quadro 2: Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por cm² encontradas na pele de cadelas submetidas à ovariectomia que foram submetidas a um banho 24 horas antes da cirurgia (Grupo I), nos momentos: antes (M1) e após a tricotomia (M2), quatro minutos após a antissepsia com clorexidina (M3c) e com polivinilpirrolidona iodada (M3p) e duas horas após a antissepsia com clorexidina (M4c) e com polivinilpirrolidona iodada (M4p)

ANIMAL	MOMENTO					
	M1	M2	M3c	M3p	M4c	M4p
A1	10,62	5,78	0	0	9,37	0,62
A2	4,37	9,37	0	0	0	1,87
A3	17,5	3,75	0,62	1,87	0	0
A4	3,59	1,87	1,87	1,25	0,62	0,62
A5	10,15	45,93	0	0	0	0
A6	88,43	109,37	5,62	6,25	0	0
A7	79,16	90,62	1,56	1,56	0,62	0,62
A8	72,29	12,08	0,31	1,25	0,31	2,5
A9	32,65	6,87	1,25	0,93	0,31	3,12
A10	60,83	56,35	3,75	0	0,31	0,62
Média/ Mediana	37,96 ^a	10,72 ^c	0,94 ^c	1,09 ^c	0,31 ^c	0,62 ^c
Desvio padrão/ Desvio interquartilico	33,70 ^b	47,69 ^d	1,72 ^d	1,48 ^d	0,55 ^d	1,40 ^d

^aMédia, ^bDesvio padrão, ^cMediana, ^dDesvio interquartilico

Quadro 3: Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por cm² encontradas na pele de cadelas submetidas à ovariectomia que não foram submetidas a um banho 24 horas antes da cirurgia (Grupo II), nos momentos: antes (M1) e após a tricotomia (M2), quatro minutos após a antissepsia com clorexidina (M3c) e com polivinilpirrolidona iodada (M3p) e duas horas após a antissepsia com clorexidina (M4c) e com polivinilpirrolidona iodada (M4p)

ANIMAL	MOMENTO					
	M1	M2	M3c	M3p	M4c	M4p
A11	25,83	37,5	1,25	5	0,62	5,62
A12	13,75	17,5	1,87	0	1,25	1,25
A13	12,18	28,12	0,93	0,93	0	0,62
A14	23,75	9,68	2,5	1,87	0,62	1,25
A15	13,43	18,43	2,5	1,87	1,25	0,31
A16	45,41	49,37	0,62	1,25	0,62	1,25
A17	36,45	98,43	1,25	1,25	0,62	1,25
A18	23,95	15,93	1,56	0,62	3,12	0,31
A19	17,39	14,16	0	0	1,25	1,87
A20	46,66	183,64	3,75	4,06	1,25	3,28
Média/ Mediana	25,88 ^a	23,28 ^c	1,25 ^a	1,67 ^a	0,94 ^{ce}	1,25 ^c
Desvio padrão/ Desvio interquartilico	12,89 ^b	30,07 ^d	1,08 ^b	1,65 ^b	0,62 ^d	0,94 ^d

^aMédia, ^bDesvio padrão, ^cMediana, ^dDesvio interquartilico, ^eDiferente do Grupo I segundo o teste de *U* de Mann-Whitney ($p < 0,05$).

Quadro 4: Medianas (\pm desvios interquartílicos) da Redução de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por cm² (%) após a tricotomia (M2), quatro minutos após a antissepsia com clorexidina (M3c) e com polivinilpirrolidona iodada (M3p) e duas horas após a antissepsia com clorexidina (M4c) e com polivinilpirrolidona iodada (M4p), em cadelas submetidas à ovário-histerectomia que foram (Grupo I) ou não (Grupo II) submetidas a um banho 24 horas antes da cirurgia

Momento	GRUPO I		GRUPO II	
	Mediana	Desvio interquartílico	Mediana	Desvio interquartílico
M2	26,48 ^a	92,26	-41,19 ^b	146,83
M3c	96,14	13,73	97,31	7,60
M3p	98,28	12,81	97,63	7,84
M4c	99,38	4,06	98,19	5,87
M4p	94,04	20,34	97,62	9,75

^{a, b} - Diferentes segundo o teste de *U* de Mann-Whitney ($p < 0,05$).

Quadro 5 - Medianas (\pm desvios interquartílicos) da Redução de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por cm² (%) quatro minutos após a antissepsia cutânea com clorexidina (M3c) e com polivinilpirrolidona iodada (M3p) e duas horas após a antissepsia com clorexidina (M4c) e com polivinilpirrolidona iodada (M4p), em cadelas submetidas à ovário-histerectomia, independente de terem ou não sido submetidas a um banho 24 horas antes da cirurgia

	MOMENTO			
	M3c	M3p	M4c	M4p
Mediana	97,04	97,62	99,02	97,62
Desvio interquartílico	10,48	11,09	6,53	12,67

4 CAPÍTULO II: ASPECTOS CLÍNICOS, LABORATORIAIS E MICROBIOLÓGICOS DA PIOMETRA EM CADELAS

Manuscrito submetido à Revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia/UFMG– Belo Horizonte.

ASPECTOS CLÍNICOS E MICROBIOLÓGICOS DA PIOMETRA EM CADELAS

[Clinical and microbiological pyometra in bitches]

L. K. G Medeiros^{1*}; M. M. S. Macedo¹; R. O. Rêgo¹; G. C. Felipe¹; A. P. Alves¹; A. V. C. Moura¹; A. P. Souza¹; P. I. Nóbrega Neto¹

¹Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária- Universidade Federal de Campina Grande - Patos, PB. *E-mail: lyliankarlla@hotmail.com

Resumo: Objetivou-se com este estudo avaliar os aspectos clínicos e microbiológicos de 35 cadelas acometidas por piometra. A idade média dos animais foi de 5,88 anos, sendo os sem raça definida os mais acometidos (62,86%). A taxa de óbito foi de 5,71%. Secreção vaginal (71,43%), inapetência (42,86%), apatia (22,86%) e distensão abdominal (20%) foram os sinais clínicos apresentados com maior frequência. Leucocitose, hipoalbuminemia, hiperglobulinemia, hiperproteinemia e elevação dos níveis de proteína C reativa foram as alterações laboratoriais observadas. A *Escherichia coli* foi a bactéria encontrada no maior número de amostras (34,29%). Norfloxacin (60,42%), imipenem (52,08%) e gentamicina (50%) foram os antibióticos mais eficazes contra bactérias gram-negativas e neomicina (88,89%), gentamicina (84,13%) e norfloxacin (79,37%) para gram-positivas. A pesquisa de β -lactamases de espectro estendido foi realizada em todos os isolados de *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca* e constatou-se que a positividade média pelo teste de aproximação de disco e pelo E-teste foi de 80,56% e 44,44% respectivamente, indicando que algumas bactérias causadoras de piometra são produtoras de ESBL.

Palavras-chave: Antibióticos; ESBL; *Escherichia coli*; PCR

Abstract: The objective of this study was to evaluate the clinical and microbiological aspects of 35 bitches affected from pyometra. The average age of the animals was 5.88 years and mongrel bitches were the most affected (62.86%). The death rate was 5.71%. Vaginal discharge (71.43%), inappetence (42.86%), apathy (22.86%) and bloating (20%) had clinical signs presented more frequently. Leukocytosis, hypoalbuminemia, hypergammaglobulinemia, hyperproteinemia and elevated C-reactive protein levels were laboratory abnormalities observed. The bacteria *Escherichia coli* was found in the

larger number of samples (34.29%). Norfloxacin (60.42%), imipenem (52.08%) and gentamicin (50%) were the most effective antibiotics against gram-negative bacteria and neomycin (88.89%), gentamicin (84.13%) and norfloxacin (79.37%) to gram-positive. The β -lactamases of extended-spectrum survey was conducted in all samples of *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* and it was found that the average positivity by disk approximation test and by the E-test was 80.56% and 44.44% respectively, indicating that some bacteria that cause pyometra are producing ESBL.

Keywords: Antibiotics; ESBL; *Escherichia coli*; PCR

Introdução

A piometra é uma doença que acomete o trato reprodutor feminino, especialmente de cadelas e gatas (Coggan *et al.*, 2004), causada por uma infecção bacteriana no endométrio que sofreu hiperplasia cística devido a uma prolongada estimulação hormonal (Murakami *et al.*, 2011). Os principais fatores predisponentes ao surgimento desta patologia são idade, terapia hormonal anterior e o estado nulíparo (Johnson, 2010). Ocorre principalmente na fase de diestro e pode apresentar-se sob a forma aberta ou fechada, de acordo com a presença ou ausência de secreção vulvar (Hedlund, 2005; Chen *et al.*, 2007).

Depressão, anorexia, polidipsia e poliúria são alguns dos achados clínicos observados em cadelas com piometra (Jitpean *et al.*, 2014). Leucograma e dosagens séricas de fibrinogênio e de proteína C reativa podem ser úteis no diagnóstico de piometra (Carvalho *et al.*, 2008), porém a confirmação do diagnóstico deve ser obtido por meio de exame ultrassonográfico (Bigliardi *et al.*, 2004; Moreira *et al.*, 2008). A realização de ovário-histerectomia constitui o tratamento mais preconizado. No entanto, quando pretende-se preservar o potencial reprodutivo, o tratamento clínico pode ser realizado (Johnson, 2010).

Kalenski *et al.* (2012) afirmam que a rápida instituição da antibioticoterapia é um fator determinante para um bom prognóstico, assim sendo, é importante que se realize o exame microbiológico da secreção uterina (Costa *et al.*, 2007). A mais provável fonte para a infecção uterina são as bactérias da flora vaginal (Johnson, 2010), e embora diversas bactérias possam ser causadoras desta patologia, a *Escherichia coli* é

o microrganismo mais comumente identificado na piometra, fato justificado pela afinidade que esta bactéria possui pelo endométrio e miométrio (Hedlund, 2005).

Este estudo teve como objetivo avaliar cadelas acometidas por piometra, enfatizando seus aspectos clínicos, além de realizar a análise microbiológica do conteúdo uterino.

Material e métodos

Foram utilizadas 35 cadelas atendidas no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande, no período de setembro de 2013 a setembro de 2014. Os animais foram submetidos à anamnese e ao exame clínico, assim como à ultrassonografia abdominal, para estabelecimento do diagnóstico de piometra. Os dados obtidos no exame físico e os sinais clínicos foram analisados. Todos os animais receberam tratamento cirúrgico. Alguns exames laboratoriais foram solicitados de acordo com a necessidade do animal: o hemograma foi realizado em todos os animais, a proteína C reativa (PCR) foi dosada em 17 animais, ureia e creatinina em 15, alanina aminotransferase (ALT) em 11 e albumina, globulina e proteína total em 10 animais.

Para realização da análise microbiológica, imediatamente após a ovarió-histerectomia as amostras de conteúdo uterino foram obtidas através de seringas estéreis, realizando-se antisepsia prévia com álcool-iodado no local de penetração da agulha na serosa uterina. As amostras foram cultivadas em ágar sangue de carneiro (5%), ágar MacConkey (MCK) e caldo de enriquecimento Brain heart infusion (BHI), sendo incubados à 37°C com leituras de 24, 48, 72 e 96 horas. Os microrganismos foram identificados segundo Murray *et al* (1999).

Em todas as amostras foi realizado o teste de sensibilidade aos antimicrobianos. Foram testados 19 antibióticos para bactérias gram-negativas e 15 para gram-positivas. A pesquisa de bactérias produtoras de β -lactamases de espectro estendido (ESBL) foi realizada nas estirpes isoladas de *E.coli* e *Klebsiella spp.*, através da realização dos testes de aproximação de disco e E-teste. O teste de aproximação de disco foi realizado utilizando um disco de amoxicilina com ácido clavulânico situado no centro da placa e distante 20 mm dos outros discos de β -lactâmicos: cefotaxima, ceftazidima, aztreonam e ceftime. Para realização do E-teste, foi utilizada fita plástica impregnada com

ceftazidima em uma extremidade, e na outra extremidade a ceftazidima associada ao ácido clavulânico.

Resultados e discussão

No presente estudo, a idade média verificada foi de $5,88 \pm 3,46$ anos. Estudos apontam que animais com faixa etária média de 7 anos ou mais são os acometidos com maior frequência pela piometra (Evangelista *et al.*, 2010; Silveira *et al.*, 2013), assim sendo, a média encontrada foi um pouco inferior à descrita na literatura, contudo, vale salientar que além da idade, diversos outros fatores podem estar envolvidos na fisiopatologia desta doença.

A utilização de progestágenos foi constatada em 62,86% (22/35) das cadelas analisadas, e segundo Niskanen e Thrusfield (1998) o uso de indigestivo dos mesmos como método contraceptivo, aumenta o risco de desenvolvimento desta patologia. Porém, apesar da influência exercida pela idade e uso de contraceptivo, todas as cadelas podem apresentar piometra. Chen *et al.* (2007) diagnosticaram a patologia em um animal de 10 meses e nunca submetido à terapia contraceptiva.

Os animais sem raça definida foram os mais acometidos pela patologia, com 54,29% (19/35), seguido pelos das raças Poodle (17,14%; 6/35), Pinscher (17,14%; 6/35), Rottweiler (2,86%; 1/35), Pitt bull (2,86%; 1/35), Yorkshire (2,86%; 1/35) e Cocker Spaniel inglês (2,86%; 1/35). Porém, é importante salientar que a criação de animais sem raça definida na região onde o estudo foi realizado é bem mais difundida que a das demais raças. Egenvall *et al.* (2001) verificaram em seu trabalho que raças como Collie, Rottweiler, Cavalier King Charles Spaniel, Golden Retriever, Boieiro de Berna e Cocker Spaniel inglês são predispostas a desenvolverem piometra. Em contrapartida, Gorricho e Campos (2012) discordam da ideia de predisposição racial, pois acreditam que a piometra sofre maior influência hormonal do que genética.

No presente estudo evidenciou-se um grande número de cadelas nulíparas 48,57% (17/35) corroborando os resultados do estudo de Prestes *et al.* (1991), no qual 52% das cadelas eram nulíparas e segundo Johnson (2010) cadelas nulíparas são seis vezes mais predispostas à piometra do que cadelas primíparas ou múltíparas. Assim sendo, cadelas que não possuem uma vida reprodutiva ativa devem, como medida profilática, ser castradas.

No trabalho aqui relatado, dois animais foram a óbito, o que corresponde a 5,71% da população estudada. Hagman *et al.* (2009) afirmam que a taxa de mortalidade em cadelas acometidas por piometra é de 3 a 4%. A maior taxa de mortalidade dos animais no estudo em questão possivelmente está relacionada à demora em iniciar-se o tratamento, já que em ambos os casos de óbito os animais só receberam assistência médica 7 a 9 dias após o início dos sintomas e já chegaram ao Hospital Veterinário com o quadro clínico bastante grave.

Diversas alterações clínicas foram observadas, no entanto, secreção vaginal, inapetência, apatia e distensão abdominal foram os sinais apresentados com maior frequência (Tab. 1). De acordo com Hedlund (2005) secreção vaginal, distensão abdominal, febre, anorexia, letargia, poliúria, polidipsia, vômito, diarreia e perda de peso são os achados mais frequentes em cadelas com piometra. A presença de secreção vaginal classifica a piometra como aberta, e foi constatada na maioria dos animais, o que está concorde com o estudo de Gorricho e Campos (2012), onde 76,19% das cadelas apresentaram piometra aberta.

Tabela 1: Principais sinais clínicos e alterações no exame físico observados em cadelas com piometra, com respectivas frequências (percentual e absoluta).

ACHADO	FREQUÊNCIA
Secreção vaginal	71,43% (25/35)
Inapetência	42,86% (15/35)
Apatia	22,86% (8/35)
Distensão abdominal	20,00% (7/35)
Desidratação	17,14% (6/35)
Vômito	11,43% (4/35)
Congestão de mucosa	11,43% (4/35)
Nódulo mamário	11,43% (4/35)
Tumor venéreo	11,43% (4/35)
Transmissível	
Diarreia	8,57% (3/35)
Febre	8,57% (3/35)
Dor abdominal	8,57% (3/35)

Poliúria	5,71% (2/35)
Polidipsia	5,71% (2/35)
Sialorreia	2,86% (1/35)
Palidez de mucosa	2,86% (1/35)
Dispneia	2,86% (1/35)
Arritmia	2,86% (1/35)

Alguns parâmetros foram avaliados no presente estudo (Tab. 2). Segundo Carvalho *et al.* (2008), cadelas com piometra apresentam diversas alterações laboratoriais.

Tabela 2: Médias e desvios padrão dos parâmetros laboratoriais observados em cadelas com piometra.

Parâmetro	Média	Desvio padrão
Hemácias ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	5,52	1,39
Hematócrito (%)	37,31	8,84
Leucócitos Totais ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	21,17	23,95
Uréia (mg/dL)	43,31	32,44
Creatinina (mg/dL)	0,76	0,23
Alanina aminotransferase (U/L)	73,73	60,22
Albumina (g/dL)	2,47	0,61
Globulina (g/dL)	6,05	1,83
Proteínas totais (g/dL)	8,41	1,88
Proteína C Reativa (mG/L)	0,85	0,18

No hemograma, uma discreta anemia do tipo normocítica normocrômica pode ser observada (Johnson, 2010), porém neste estudo não foi evidenciado, as hemácias e hematócrito permaneceram dentro dos valores normais para espécie (Thrall, 2007). A leucocitose observada está de acordo com o estudo realizado por Carvalho *et al.* (2008). No entanto, a avaliação dos leucócitos pode não ser um parâmetro tão confiável, visto que cadelas com piometra podem apresentar valores normais, bem como leucocitose ou leucopenia (Gorricho e Campos, 2012; Hedlund, 2005).

A avaliação de ureia e creatinina obteve médias dentro dos valores de referência (Thrall, 2007), nenhum animal apresentou elevação de creatinina e apenas 2 (13,33%) tiveram a ureia aumentada, contrastando com os resultados de Andrade *et al.* (2014), que observaram aumento nos níveis de uréia em 100% dos animais e de creatinina em 22%. Contudo, a avaliação da função renal deve ser realizada sempre que possível, pois, de acordo com Evangelista *et al.* (2010) a detecção precoce de lesão renal melhora o prognóstico e sobrevida do animal.

No estudo em questão, verificou-se que os valores médios de ALT estavam normais, entretando, de acordo com Hedlund (2005) cadelas com piometra podem ter os níveis de ALT elevados devido à lesão hepatocelular causada por endotoxemia ou desidratação.

A hipoalbuminemia observada no presente estudo foi similar à relatada por Maddens *et al.* (2010). Visto que a albumina é considerada uma proteína de fase aguda negativa, em processos inflamatórios os seus níveis séricos tendem de fato a diminuir (Murata *et al.*, 2004). Outro aspecto que pode ter favorecido a redução da mesma foi a alimentação deficiente, uma vez que muitas cadelas apresentavam-se inapetentes. Detectou-se também hiperglobulinemia e hiperproteinemia, anormalidades bioquímicas comuns em animais com piometra (Johnson, 2010), estando igualmente associadas ao processo inflamatório estabelecido por esta doença.

Os níveis de PCR obtidos neste estudo foram maiores que os referenciais (0,35 mG/L \pm 0,41) (Battisti *et al.*, 2013), concordando com os achados de Carvalho *et al.* (2008), que afirmam que a PCR apresenta-se elevada em cadelas com piometra e pode auxiliar no estabelecimento do diagnóstico.

Das 35 amostras coletadas, houve crescimento bacteriano em 30 (85,71%). Em 2 amostras observou-se a presença de *E. coli* associada à *Klebsiella pneumoniae* e em uma amostra *Serratia marcescens* associada ao *Staphylococcus aureus*. O resultado dos cultivos bacterianos está disponível na Tab. 3.

Tabela 3: Frequência (%) de isolamento bacteriano em culturas de conteúdo uterino de cadelas com piometra.

BACTÉRIA	FREQUÊNCIA (%)
<i>Escherichia coli</i>	28,57% (10/35)
<i>Staphylococcus aureus</i>	17,14% (6/35)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	11,43% (4/35)
<i>Streptococcus</i> spp.	8,57% (3/35)
<i>Klebsiella oxitoca</i>	5,71% (2/35)
<i>Escherichia coli</i> + <i>Klebsiella pneumoniae</i>	5,71% (2/35)
<i>Serratia marcencens</i>	2,86% (1/35)
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	2,86% (1/35)
<i>Serratia marcencens</i> + <i>Staphylococcus aureus</i>	2,86% (1/35)
Sem crescimento	14,29% (5/35)

A *E. coli* foi a bactéria encontrada no maior número de amostras do presente estudo, e considerando a presença nas culturas puras e associadas obteve frequência de 34,29% (12/35). A frequência de isolamento da *E. coli* em piometra de cadelas também foi maior nos estudos realizados por Coggan *et al.* (2004) e Weiss *et al.* (2004), onde foram encontrados os valores de 79,16% e 36%, respectivamente.

Segundo Hedlund *et al.* (2005) os principais microrganismos isolados em cadelas com piometra são *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp., *Pasteurella* spp., *Klebsiella* spp., *Haemophilus* spp., *Serratia* spp. e *Moraxella* spp. Dentre estes, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp, *Klebsiella* spp. e *Serratia* spp. foram também observados no presente estudo. O *Corynebacterium pseudotuberculosis* foi isolado em apenas uma amostra, discordando do estudo realizado por Costa *et al.* (2007) que teve como principal bactéria isolada o *Corynebacterium* sp., com um total de 28,57% das amostras. Portanto, fica claro que apesar da *E. coli* ser a bactéria mais comumente isolada na maioria dos estudos, uma grande variedade de gêneros bacterianos podem ser desencadeantes de piometra.

O teste de sensibilidade antimicrobiana foi realizado em todas as amostras isoladas e demonstrou índices bastante variados (Tab. 4 e 5).

Tabela 4: Porcentagem de sensibilidade antimicrobiana das bactérias gram-negativas isoladas em culturas de conteúdo uterino de cadelas com piometra.

ANTIBIÓTICO	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Serratia marcescens</i>	MÉDIA (%)
AMICACINA	41,66%	50%	100%	0	47,92%
AMOXICILINA					
+CLAVULANATO	58,33%	66,66%	0	0	31,25%
AMPICILINA	16,66%	16,66%	0	0	8,33%
CEFALEXINA	33,33%	33,33%	0	0	16,67%
CEFALOTINA	33,33%	33,33%	50%	0	29,17%
CEFEPIME	33,33%	16,66%	0	0	12,50%
CEFOTAXIMA	33,33%	16,66%	0	0	12,50%
CEFOXITINA	25%	16,66%	0	0	10,42%
CEFTAZIDIMA	25%	33,33%	0	0	14,58%
CEFTIOFUR	33,33%	33,33%	0	0	16,67%
CLORANFENICOL	25%	33,33%	0	0	14,58%
ENROFLOXACINA	33,33%	66,66%	0	50%	37,50%
GENTAMICINA	33,33%	66,66%	0	100%	50%
IMIPENEM	41,67%	66,66%	50%	50%	52,08%
KANAMICINA	25%	50%	0	50%	31,25%
NEOMICINA	8,3%	50%	0	50%	27,08%
NORFLOXACINA	58,33%	83,33%	0	100%	60,42%
POLIMIXINA	16,66%	83,33%	0	0	25%
TETRACICLINA	25%	0	0	0	6,25%

Tabela 5: Porcentagem de sensibilidade antimicrobiana das bactérias gram-positivas isoladas em culturas de conteúdo uterino de cadelas com piometra.

ANTIBIÓTICO	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	MÉDIA (%)
AMICACINA	57,14%	66,67%	100%	74,60%
AMOXICILINA				
+CLAVULANATO	57,14%	33,33%	100%	63,49%
AMPICILINA	42,85%	66,67%	0	36,51%
CEFALOTINA	42,85%	33,33%	0	25,39%
CEFOTAXIMA	57,14%	33,33%	100%	63,49%
CEFOXITINA	42,85%	33,33%	0	25,39%
CLORANFENICOL	28,57%	33,33%	0	20,63%
ENROFLOXACINA	71,43%	33,33%	100%	68,25%
GENTAMICINA	85,72%	66,67%	100%	84,13%
KANAMICINA	85,72%	66,67%	0	50,80%
NEOMICINA	100%	66,67%	100%	88,89%
NORFLOXACINA	71,43%	66,67%	100%	79,37%
OXACILINA	28,57%	33,33%	0	20,63%
PENICILINA	0	0	0	0
AZITROMICINA	85,72%	33,33%	100%	73,02%

Os antibióticos que apresentaram maior efetividade nas estirpes de *E. coli* foram a amoxicilina + clavulanato e a norfloxacin. A *Klebsiella pneumoniae* teve maior sensibilidade à polimixina e à norfloxacin. A *Klebsiella oxytoca* teve um grande índice de resistência frente aos antibióticos testados, sendo sensíveis apenas à amicacina, à cefalotina e ao imipenem. Quanto à *Serratia marcescens*, também foi observada marcante resistência, sendo os antibióticos mais efetivos a norfloxacin e a gentamicina. De um modo geral, norfloxacin, imipenem e gentamicina foram os antibióticos mais eficazes contra as bactérias gram-negativas, portanto, o índice de sucesso no tratamento de piometra causada por agentes deste tipo tende a ser maior ao empregarem-se os mesmos na terapêutica.

Com relação às bactérias gram-positivas isoladas, foi observado que os antibióticos mais efetivos sobre *Staphylococcus aureus* foram a gentamicina, a kanamicina e a azitromicina. Sobre *Streptococcus spp.* ampicilina, amicacina, gentamicina, kanamicina, neomicina e norfloxacin tiveram maior eficiência. O *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolado foi sensível a amoxicilina + clavulanato, amicacina, cefotaxima, enrofloxacin, gentamicina, neomicina, norfloxacin e azitromicina. Desta forma, os fármacos considerados de eleição para o tratamento de piometra causada por agentes gram-positivos de um modo geral são a gentamicina, a neomicina e a norfloxacin.

Hagman e Greko (2005) realizaram o teste de resistência antimicrobiana nas *E. Coli* de 80 animais com piometra e constataram baixos índices de resistência, o que difere dos resultados obtidos por Lara *et al.* (2008) que verificou 100% de resistência antimicrobiana, no entanto, apenas 8 fármacos foram avaliados. No presente estudo, onde 22 antibióticos foram testados, alto índice de resistência bacteriana também foi observado, indicando que as bactérias causadoras de piometra podem ser resistentes a diversos tipos de antibióticos, fato que aumenta a importância da realização do antibiograma em cada caso desta afecção.

Gorricho e Campos (2012) observaram em seu estudo que a cefalexina, a ceftriaxona e o ceftiofur foram os antibióticos mais utilizados empiricamente no tratamento antimicrobiano de cadelas com piometra. No entanto, os resultados obtidos no presente estudo demonstram que nem sempre as cefalosporinas são tão eficientes

contra bactérias causadoras de piometra em cadelas, deixando um alerta aos clínicos quanto à possível ineficácia da sua utilização.

Todas as bactérias gram-positivas testadas foram resistentes à penicilina, e grande índice de resistência também foi observado com a tetraciclina quando testada para as bactérias gram-negativas, inviabilizando o uso dos dois fármacos para o tratamento da piometra em cadelas.

A possibilidade de resistência antimicrobiana através da produção de ESBL não pode ser descartada. Desta forma, resultados de sensibilidade positivos para os antibióticos β -lactâmicos podem ser falsos se a bactéria for produtora desta enzima (Souza *et al.*, 2010). Os resultados da pesquisa de ESBL estão expostos na Tab. 6.

Tabela 6: Pesquisa de ESBL através dos testes de aproximação de disco e E-teste em isolados de *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca* provenientes do conteúdo uterino de cadelas com piometra.

BACTÉRIAS	Aproximação de disco		E-teste		
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Não determinado
<i>E.coli</i>	75%	25%	50%	33,33%	16,67%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	66,67%	33,33%	33,33%	50%	16,67%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	100%	0	50%	0	50%
Média	80,56%	19,44%	44,44%	27,78%	27,78%

Das 12 amostras de *E. coli* avaliadas, 9 (75%) foram positivas para produção de ESBL pelo teste de aproximação de disco e 6 (50%) pelo E-teste. De um total de 6 amostras de *Klebsiella pneumoniae* avaliadas observou-se positividade em 4 (66,67%) pelo teste de aproximação de disco e em 2 (33,33%) pelo E-teste. Para *Klebsiella oxytoca* foi detectado 100% (2/2) de produção de ESBL pelo teste de aproximação de disco e 50% pelo E- teste. A positividade média pelo teste de aproximação de disco e pelo E-teste foi de 80,56% e 44,44% respectivamente. Portanto, fica claro que as *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca* isoladas a partir do conteúdo uterino de cadelas podem ser produtoras de ESBL, e o uso de antibióticos β -lactâmicos nos animais portadores de infecção por este tipo de bactéria podem ter desfecho clínico desfavorável.

Conclusão

Pode-se concluir que diversas alterações clínicas são observadas em cadelas com piometra; *E. coli* é a bactéria isolada com maior frequência, embora outras bactérias possam ser causadoras desta patologia; e que testes de sensibilidade antimicrobiana são de extrema importância para escolha do antibiótico com maior eficácia terapêutica, visto que muitos são resistentes e podem produzir ESBL.

Referências

- ANDRADE, M. C. M G.; LEME, F. O . P; PAES, P. R. O.; GHELLER, V. A. Avaliação da gama-glutamyltransferase na urina de cadelas com piometra, *Vet. Not.*, v.20, n.1, p.1-7, 2014.
- BATTISTI, M. K. B.; SILVA, D. M.; REUSING, M. S. O. et al. Proteínas de fase aguda em cadelas com neoplasia mamária. *Ciência Rural*, v.43, n.5, p.902-907, 2013.
- BIGLIARDI, E.; PARMIGIANI E.; CAVIRANI S. et al. Ultrasonography and cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Reprod Domest Anim.*, v.39, n.3, p.136-140, 2004.
- CARVALHO, C. C. D.; RÊGO, E. W.; QUEQUE, M.; SOARES, P. C. Avaliação da proteína C reativa, fibrinogênio e leucograma em cadelas com e sem piometra. *Medicina Veterinária*, v.2, n.2, p.1-8, 2008.
- CHEN, R. F. F.; ADDEO, P. M. D.; SASAKI, A. Y. Piometra aberta em uma cadela de 10 meses. *Rev. Acad.*, v.5, n.3, p.317-322, 2007.
- COGGAN, J. A.; OLIVEIRA, C. M.; FAUSTINO, M. et al. Estudo microbiológico de conteúdo intra-uterino de cadelas com piometra e pesquisa de fatores de virulência em cepas de *Escherichia coli*. *Arq. Inst. Biol.*, v.71, p. 513-515, 2004.
- COSTA, R. G.; ALVES, N. D.; NÓBREGA, R. M. et al. Identificação dos principais microrganismos anaeróbios envolvidos em piometras de cadelas. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.35, p.650-651, 2007.

EGENVALL, A., HAGMAN, R., BONNETT, B. N. et al. Breed Risk of Pyometra in Insured Dogs in Sweden. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.15, n.6, p.530-538, 2001.

EVANGELISTA, L. S. M.; QUESSADA, A. M.; ALVES, R. P. A. et al. Função renal em cadelas com piometra antes e após Ovariosalpingohisterectomia. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.4, n.3, p.153-161, 2010.

GORRICHIO, C. M.; CAMPOS, A. G. Ocorrência de piometra em cadelas atendidas nas clínicas veterinárias no município de Ituverava/SP no primeiro semestre de 2011. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, n.18, 2012.

HAGMAN, R.; GREKO, C. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from bitches with pyometra and from urine samples from other dogs. *Vet. Rec.*, v.157, n.7, p.193-197, 2005.

HAGMAN, R.; REEZIGT, B. J.; LEDIN, H. B.; KARLSTAM, E. Blood lactate levels in 31 female dogs with pyometra. *Acta vet. scand.*, v.51, n.2, p.1-9, 2009.

HEDLUND, C. S. Cirurgia dos sistemas reprodutivo e genital. In: FOSSUM, T. W. (Ed). Cirurgia de pequenos animais. 2. ed. São Paulo: Roca, 2005. 610-672p.

JITPEAN, S.; PETTERSSON, A.; HÖGLUND, O.V. et al. Increased concentrations of Serum amyloid a in dogs with sepsis caused by pyometra. *BMC Veterinary Research*, v.273, n.10, p.1-9, 2014.

JOHNSON, C. A. Distúrbios do Sistema Reprodutivo. In: NELSON R.W.; COUTO C.G. (Eds). Manual de medicina interna de pequenos animais. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p.885-982.

KALENSKI, T. A.; REINOLDES, A.; KITSIS, M. et al. Identificação das bactérias envolvidas na sepse grave de fêmeas caninas com piometra submetidas a ovariectomia terapêutica. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.49, n.2, p.130-138, 2012.

LARA, V. M.; DONADELI, M. P.; CRUZ, F. S. F.; CARREGARO, A. B. Multirresistência antimicrobiana em cepas de *Escherichia coli* isoladas de cadelas com

piometra. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 60, n.4, p.1032-1034, 2008.

MADDENS, B.; DAMINET, S.; SMETS, P.; MEYER, E. Escherichia coli Pyometra Induces Transient Glomerular and Tubular Dysfunction in Dogs. *J Vet Intern Med*, v.24, p.1263-1270, 2010.

MOREIRA, H. R.; MIRANDA, S. A., BRITO, A. B. et al. Complexo hiperplasia endometrial cística-piometra em uma cadela tratada com acetato de medroxiprogesterona como método contraceptivo. *RPCV*, v.103, p.233-238, 2008.

MURAKAMI, V. Y.; FREITAS, E. B.; BRITO, A. A. et al. Piometra – Relato de Caso. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, n.17, 2011.

MURATA, H.; SHIMADA N.; YOSHIOKA M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *The Veterinary Journal*, v. 168, n. 1, p. 28-40, 2004.

MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A. et al. Manual of Clinical Microbiology. 7. ed. Washington: American Society for Microbiology, 1999. 1773p.

NISKANEN, M.; THRUSFIELD, M. V. Associations between age, parity, hormonal therapy and breed, and pyometra in Finnish dogs. *Veterinary Record*, v.143, n.18, p.493-498, 1998.

PRESTES, N. C.; LOPES, M. D.; BICUDO, S. D. et al. Piometra canina: aspectos clínicos, laboratoriais e radiológicos. *Semina*, v.12, n.1, p.53-56, 1991.

SILVEIRA, C. P. B; MACHADO E. A. A; SILVA, W. M. et al. Estudo retrospectivo de ovariosalpingo-histerectomia em cadelas e gatas atendidas em Hospital Veterinário Escola no período de um ano. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.65, n.2, p.335-340, 2013.

SOUZA, A. S.; TORRES, J.B.; OLIVEIRA, R.C. Identificação laboratorial de β -lactamases de espectro estendido (ESBLs) em espécimes clínicos de origem hospitalar. *RBAC*, v.42, n.4, p.303-306, 2010.

THRALL, M.A. Hematologia e bioquímica clínica veterinária. São Paulo: Roca, 2007, 582p.

WEISS, R.R.; CALOMENO, M. A.; SOUSA, R. S. et al. Avaliação histopatológica, hormonal e bacteriológica da piometra na cadela. *Archives of Veterinary Science*, v. 9, n.2, p.81-87, 2004.

5 CONCLUSÕES GERAIS

Pode-se concluir que a análise microbiológica da pele de cadelas submetidas à ovário-histerectomia foi considerada de grande valia e o estudo realizado constatou a eficácia da técnica de antissepsia empregada, servindo de aporte para o emprego da mesma na rotina clínico-cirúrgica. Já no estudo com cadelas que realizaram a ovário-histerectomia como terapêutica da piometra, esclareceu-se sobre os microrganismos mais frequentemente envolvidos e sobre a importância do exame microbiológico para escolha do antibiótico mais eficaz, para que se obtenha o sucesso terapêutico.