



UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA NA  
INFEÇÃO DO TRATO RESPIRATÓRIO INFERIOR NO CÃO E NO GATO

Ana Theriaga Gonçalves Gomes da Silva

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Maria Constança Matias Ferreira Pomba

Doutor Rodolfo Assis Oliveira Leal

Dra. Tânia Marques Dias

ORIENTADORA

Dra. Tânia Marques Dias

COORIENTADORA

Doutora Berta Maria Ferreira  
Ferreira São Braz

2019

LISBOA

---





UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA NA  
INFEÇÃO DO TRATO RESPIRATÓRIO INFERIOR NO CÃO E NO GATO

Ana Theriaga Gonçalves Gomes da Silva

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Maria Constança Matias Ferreira Pomba

Doutor Rodolfo Assis de Oliveira Leal

Dra. Tânia Marques Dias

ORIENTADORA

Dra. Tânia Marques Dias

COORIENTADORA

Doutora Berta Maria Ferreira  
Ferreira São Braz

2019

LISBOA

---

## Agradecimentos

Quero começar por agradecer à minha família, pelo apoio incondicional em todos os aspetos da minha vida e, acima de tudo, por nunca duvidarem de mim e das minhas capacidades. Aos meus pais, irmã e cunhado, por terem aturado o mau feitio e todos os ataques de desespero durante as fatídicas épocas de exames, e pela tranquilidade que sempre me transmitiram. Aos meus avós, por me inspirarem a não me conformar e a seguir os meus sonhos. À Gabriela, pela paciência e pelos petiscos que tantas vezes me consolaram a alma nas épocas de exames.

Ao Ricardo, muitas vezes o meu porto de abrigo e saco de boxe, que se aguenta firme às inseguranças e mau feitio refinado do estágio, da tese e da vida no geral, que acredita quando eu não acredito, obrigada por tudo!

À Professora Berta, por toda a paciência, apoio e disponibilidade na escolha do tema e durante a elaboração da tese, muito obrigada!

Obrigada ao professor Telmo, pelo imprescindível apoio “estatístico” e pela disponibilidade.

À Dra. Tânia Marques Dias, pelo exemplo de empenho e dedicação, pela exigência e pelo apoio, e sobretudo por tudo o que me ensinou, dentro e fora da profissão, muito obrigada!

Obrigada a todo o corpo clínico da VetOeiras – Hospital Veterinário, a todos os médicos, enfermeiros e auxiliares, pela forma como me acolheram e, acima de tudo, por tudo o que me ensinaram!

À Dra. Rita, que me aturou verões seguidos desde os 16 anos, por ter contribuído para o início deste percurso.

Aos meus companheiros estagiários, obrigada por me terem acompanhado durante esta última etapa do curso, por ouvirem os meus desabafos e incertezas, e por terem tornado tudo mais fácil.

Aos amigos que a faculdade me trouxe, e que são das melhores coisas que levo. As minhas companheiras de todas as horas, durante estes 6 anos, Cecília e Patrícia, pelo apoio, gargalhadas, desesperos conjuntos e por nunca me deixarem sozinha, obrigada! Às melhores companheiras de estudo, Ana, obrigada pela amiga que és, por me ensinares a não desistir e pelas melhores revisões e forcings, e Sofia, pelas noitadas, de estudo e não só, por seres a “colega” que obviamente passou a amiga, e por estares sempre por perto, mesmo que estejas longe, obrigada! À Paula, a melhor madrinha que alguma vez podia ter tido, a minha mentora durante estes 6 anos, obrigada por não teres deixado de atender às chamadas de desespero das vésperas de exames (e de entrega de tese), obrigada por todo o apoio e pela amiga que és!

A todos os meus amigos que me acompanharam ao longo deste percurso, obrigada.

Por último, mas não menos importante, obrigada Amora, Isis, Jungle, Big e Bolota, por me relembrares todos os dias o motivo pelo qual escolhi este curso.



## Resumo

### CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA NA INFEÇÃO DO TRATO RESPIRATÓRIO INFERIOR NO CÃO E NO GATO

A eficácia da utilização de antibióticos no tratamento de infecções enfrenta atualmente desafios associados ao aparecimento e disseminação de diferentes mecanismos de resistência antimicrobiana nos microrganismos. Por outro lado, as infecções bacterianas do trato respiratório inferior são afeções que podem colocar em risco a vida dos animais, sendo um diagnóstico clínico comum em cães e gatos.

O objetivo do presente estudo foi contribuir para a caracterização da infecção bacteriana do trato respiratório inferior no cão e no gato e das resistências antimicrobianas associadas. Para isso, foi realizado um estudo retrospectivo com uma amostra populacional de 49 animais, constituída por todos os cães e gatos, com suspeita de infecção bacteriana respiratória inferior, que tenham sido submetidos à realização de uma lavagem bronco-alveolar e posterior citologia e cultura microbiológica, no período de 2016-2018, no VetOeiras - Hospital Veterinário.

Foi comprovada a existência de relação ( $p < 0,05$ ) entre os resultados da citologia e da cultura microbiológica da amostra.

Os fatores predisponentes para infecções bacterianas das vias aéreas inferiores identificados neste estudo ( $p < 0,05$ ) foram a presença de afeções concomitantes e a espécie do hospedeiro, sendo mais comum no cão do que no gato.

As bactérias mais isoladas foram *Staphylococcus* spp. (35,1%), *Pasteurella* spp. (16,2%), *Pseudomonas* spp. (13,5%) e *Escherichia coli* (10,8%). No total, 40,5% das estirpes identificadas foram consideradas multirresistentes.

Verificou-se que os antibióticos prescritos mais frequentemente e a duração média dos tratamentos estão de acordo com as normas de orientação de prescrição de antibióticos para as infecções das vias aéreas inferiores.

Face aos resultados obtidos pensamos que este estudo contribui para a monitorização do aparecimento de resistências antimicrobianas, bem como para o conhecimento das práticas de prescrição de antibióticos, dos principais agentes etiológicos e respetivos padrões de suscetibilidade, da região geográfica em que foi realizado.

**Palavras chave:** Infecção do trato respiratório inferior, cão, gato, resistências antimicrobianas, antibióticos.



## Abstract

### CONTRIBUTION TO THE ANTIMICROBIAL RESISTANCE STUDY OF THE DOGS AND CATS' LOWER RESPIRATORY TRACT INFECTIONS

The antibiotic effectiveness in the infections treatment currently faces challenges associated with the emergence and spread of different mechanisms of antimicrobial resistance in microorganisms. On the other hand, lower respiratory tract bacterial infections are affections that can endanger the animals' life, being a common clinical diagnosis in dogs and cats.

The aim of the present study was to contribute to the characterization of dogs and cats' lower respiratory tract bacterial infection and associated antimicrobial resistance. A retrospective study was performed with a population sample of 49 animals, consisting of all dogs and cats, with suspected lower respiratory bacterial infection, who underwent a bronchoalveolar lavage and subsequent cytology and microbiological culture, in the period of 2016-2018, at VetOeiras - Veterinary Hospital.

It was found a relationship ( $p < 0,05$ ) between the cytology and microbiological culture results. The lower airway bacterial infections predisposing factors identified in this study ( $p < 0,05$ ) were the presence of concomitant disorders and the host species, being more common in dogs than in cats.

The most isolated bacteria were *Staphylococcus* spp. (35,1%), *Pasteurella* spp. (16,2%), *Pseudomonas* spp. (13,5%) and *Escherichia coli* (10,8%). In all the strains identified, 40,5% were considered multidrug resistant.

It has been found that the most frequently prescribed antibiotics and the treatments' duration average are in accordance with the lower airway infections antibiotic prescription guidelines. Based on the results we think that this study contributes to the antimicrobial resistance monitoring, as well as to the antibiotic prescribing practices knowledge, the main etiological agents and their susceptibility patterns, in the geographic region where it was performed.

**Key words:** Lower respiratory tract bacterial infections, dog, cat, antimicrobial resistance, antibiotics.



# Índice Geral

Agradecimentos.....	i
Resumo.....	iii
Abstract.....	v
Índice Geral.....	vii
Índice de Tabelas.....	ix
Índice de Gráficos.....	x
Lista de Abreviaturas.....	xi
I. Relatório de Estágio.....	1
II. Resistência antimicrobiana na infecção do trato respiratório inferior no cão e no gato – Revisão bibliográfica.....	5
1. Introdução.....	5
2. Terapêutica antimicrobiana.....	5
2.1. Classificação dos antimicrobianos.....	6
2.1.1. Mecanismos de ação.....	7
2.2. Resistência antimicrobiana.....	8
2.2.1. Tipos de resistência antimicrobiana.....	9
2.2.2. Mecanismos de resistência antimicrobiana.....	9
2.3. Importância da resistência antimicrobiana.....	11
3. Infecções bacterianas do trato respiratório inferior.....	15
3.1. Mecanismos de defesa do hospedeiro e patogenicidade bacteriana.....	16
3.2. Fatores de risco e etiologia.....	17
3.3. Sinais clínicos e exame físico.....	18
3.4. Diagnóstico.....	19
3.4.1. Raio-X torácico.....	19
3.4.2. Hemograma.....	20
3.4.3. Lavagem bronco-alveolar e citologia.....	20
3.4.4. Cultura microbiológica.....	22
3.4.5. Teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA).....	22
3.4.6. Hemocultura.....	23
3.5. Tratamento.....	24
3.5.1. Antibioterapia.....	24
3.5.2. Fluidoterapia e nebulização.....	26
3.5.3. Oxigenoterapia.....	26
3.5.4. Mucolíticos.....	27
3.5.5. Broncodilatadores.....	27
3.5.6. Fármacos contraindicados.....	27
3.6. Duração e monitorização do tratamento.....	27

3.7. Insucesso do Tratamento .....	28
III. Resistência antimicrobiana na infecção do trato respiratório inferior no cão e no gato – Estudo retrospectivo .....	30
1. Objetivos .....	30
2. Materiais e métodos .....	30
2.1. Amostra populacional e critérios de inclusão.....	30
2.2. Citologias, culturas microbiológicas e TSA.....	31
2.3. Suscetibilidade bacteriana.....	31
2.4. Antibioterapia prescrita e eficácia do tratamento .....	32
2.5. Análise estatística .....	32
3. Resultados e Discussão .....	32
3.1. Caracterização da amostra quanto à raça, idade e sexo .....	32
3.2. Caracterização da infecção.....	33
3.2.1. Fatores predisponentes.....	34
3.3. Resultado da citologia .....	37
3.4. Etiologia bacteriana.....	39
3.5. Suscetibilidade bacteriana.....	41
3.6. Antibioterapia prescrita.....	45
3.7. Eficácia do tratamento.....	49
3.8. Limitações do estudo .....	50
4. Conclusão .....	51
Bibliografia .....	54
Anexos.....	63
Anexo 1 – Exemplos de antibióticos criticamente importantes, antibióticos muito importantes e antibióticos importantes (adaptado de WHO, 2019). .....	63
Anexo 2 – Exemplos de antibióticos de primeira linha, segunda linha, terceira linha e restritos (adaptado de Brissot <i>et al.</i> , 2016). .....	64

## Índice de Tabelas

Tabela 1 – Espectros de ação antibacteriana dos antibióticos .....	6
Tabela 2 – Bactérias resistentes com maior expressão e mais preocupantes .....	11
Tabela 3 – Proporção da prescrição das diferentes classes de antibióticos no total dos países em estudo (adaptado de De Briyne <i>et al.</i> , 2014).....	14
Tabela 4 – Principais diagnósticos diferenciais de padrões radiográficos pulmonares específicos (adaptado de Dear, 2014) .....	20
Tabela 5 – Caracterização da amostra quanto à raça, idade e sexo.....	33
Tabela 6 – Distribuição da idade, espécie e presença de afeções concomitantes pelas culturas microbiológicas com resultado negativo e positivo .....	35
Tabela 7 - Coeficientes e desvio padrão da regressão logística .....	36
Tabela 8 – Proporção e intervalos de confiança da regressão logística.....	36
Tabela 9 – Distribuição das alterações identificadas nas citologias pelas culturas microbiológicas com resultado negativo e positivo.....	38
Tabela 10 – Frequências relativas de isolamento e identificação bacteriana .....	39
Tabela 11 – Suscetibilidade bacteriana aos antibióticos e classificação do nível de resistência .....	42
Tabela 12 - Frequências relativas da prescrição empírica de antibióticos.....	45
Tabela 13 – Frequência relativa dos antibióticos prescritos na terapêutica empírica e dirigida .....	46
Tabela 14 – Doses mínimas, máximas e médias prescritas na terapêutica antimicrobiana dirigida.....	48
Tabela 15 – Distribuição do grau de resistência e da realização de reavaliação antes do fim do tratamento consoante os tratamentos tenham sido eficazes ou ineficazes .....	49

## Índice de Gráficos

Gráfico 1 - Distribuição do número de horas de estágio despendidas em cada área .....	1
Gráfico 2 - Distribuição do número de horas de estágio despendidas nas diferentes áreas de consulta .....	2
Gráfico 3 – Distribuição das infeções bacterianas com cultura microbiológica positiva na VetOeiras em 2018. ....	5
Gráfico 4 – Distribuição das vendas de comprimidos, em toneladas de ingrediente ativo, por classe antimicrobiana, por país, em 2016. <sup>1,2</sup> (ESVAC, 2018) .....	15
Gráfico 5 – Frequência relativa dos resultados das culturas .....	33
Gráfico 6 – Frequência relativa dos casos em que foram identificadas afeções concomitantes.....	34
Gráfico 7 – Tipos e frequências de identificação das afeções concomitantes .....	35
Gráfico 8 – Distribuição das alterações identificadas nas citologias .....	37

## Lista de Abreviaturas

ACVIM – “American College of Veterinary Internal Medicine”

ADN – Ácido desoxirribonucleico

ARN – Ácido Ribonucleico

BSAVA – “British Small Animal Veterinary Association” (Associação Britânica de Médicos Veterinários de Pequenos Animais)

CAMV – Centros de atendimento médico veterinário

CIM – Concentrações inibitórias mínimas

CLSI – “Clinical Laboratory Standards Institute” (Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais)

EPI – Equipamentos de proteção individual

ESBL – “Extended Spectrum Beta-lactamases” (beta-lactamases de espectro alargado)

ESVAC – “European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption” (Vigilância Europeia do Consumo Veterinário Antimicrobiano)

EUCAST – “European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing” (Comité Europeu de Testes de Suscetibilidade Antimicrobiana)

FAO – “Food and Agriculture Organization of the United Nations” (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura)

FECAVA – “Federation of European Companion Animal Veterinary Associations” (Federação das Associações Europeias Veterinárias de Animais de Companhia)

I – Intermédias

IL-1 $\beta$  – “Interleukin 1 beta” (interleucina 1 beta)

IL-6 – “Interleukin 6” (interleucina 6)

ISCAID – “International Society for Companion Animal Infectious Diseases” (Sociedade Internacional de Doenças Infecciosas em Animais de Companhia)

LBA – Lavagem bronco-alveolar

LPA – Lesão Pulmonar Aguda

MDR – “Multidrug-resistant” (multirresistentes)

MLS (B) – “Macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance”

MRS – “Methicillin-resistant” (resistentes à meticilina)

MRSA – “Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*” (*S. aureus* resistentes à meticilina)

MRSP – “Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*” (*S. pseudintermedius* à meticilina)

OIE – “World Organisation for Animal Health” (Organização Mundial de Saúde Animal)

OMS – Organização Mundial de Saúde

PaO<sub>2</sub> – Pressão arterial de oxigénio

PaO<sub>2</sub>:FiO<sub>2</sub> – relação entre pressão arterial de oxigénio e concentração inspirada de oxigénio

PDR – “Pandrug-resistant” (completamente resistentes)

R – Resistentes

S – Suscetíveis

SDRA – Síndrome de Dificuldade Respiratória Aguda

TNF- $\alpha$  – “Tumor necrosis factor alpha” (fator de necrose tumoral alfa)

TSA – Testes de sensibilidade antimicrobiana

UE – União Europeia

UFC - Unidades formadoras de colónias

WHO – “World Health Organization” (Organização Mundial de Saúde)

XDR – “Extensively drug-resistant” (extensivamente resistentes)

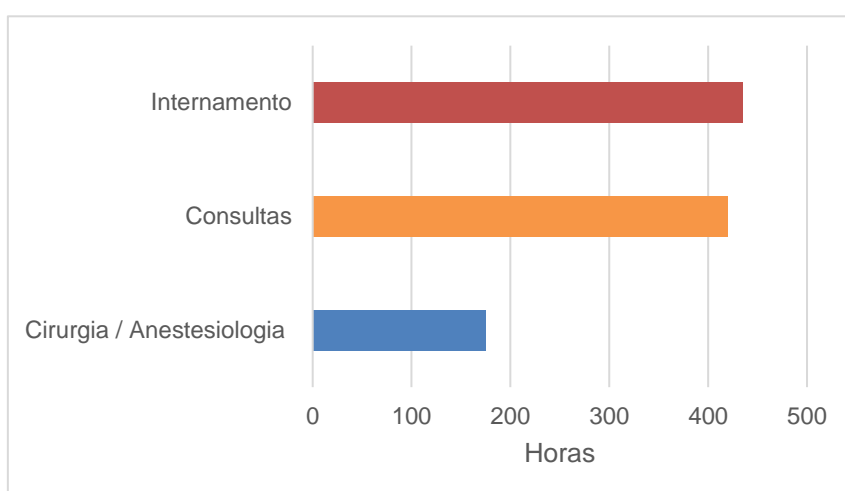
$\beta$  – Beta

## I. Relatório de Estágio

Esta dissertação foi desenvolvida com dados disponibilizados e recolhidos durante o meu estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa. O estágio foi realizado no Hospital Veterinário VetOeiras, durante um período de cinco meses (desde o início de setembro de 2018 ao fim de janeiro de 2019), sob a orientação da Dra. Tânia Marques Dias e coorientação da Doutora Berta São Braz.

Durante o estágio, os estagiários eram distribuídos semanalmente de forma a acompanhar durante toda a semana uma das seguintes áreas: internamento, consultas, cirurgia e anestesiologia. Os horários estavam organizados em turnos rotativos de 8 horas (entre as 9h e as 24h) e turnos de 8 horas aos fins de semana e feriados (das 9h às 17h). No gráfico 1 está ilustrada a distribuição de horas despendidas em cada área.

**Gráfico 1 - Distribuição do número de horas de estágio despendidas em cada área**



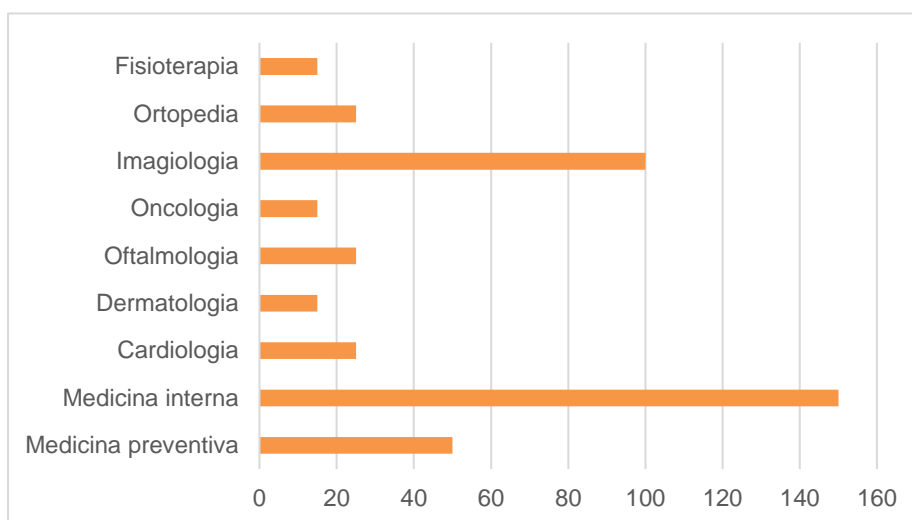
O estágio permitiu o aperfeiçoamento e o incremento de competências como a contenção de animais, realização de um exame físico completo, cateterização endovenosa, recolha de amostras biológicas, preparação e administração de medicamentos e vacinas, cálculo de taxas de fluidos e infusões contínuas, cálculo das necessidades calóricas diárias, intubação endotraqueal e realização de eletrocardiogramas, limpeza de feridas e realização de pensos, algaliação e enemas. Foi ainda possível auxiliar na realização de procedimentos como destarizações, cistocenteses, toracocenteses, abdominocenteses, aspirações de agulha fina e punções de medula óssea.

Na área das técnicas laboratoriais, foi possível trabalhar com equipamentos de análise sanguínea (hemograma, bioquímica sanguínea, fatores de coagulação, ionogramas e gasimetria). Foram executados esfregaços de sangue e citologias com coloração para observação microscópica, urianálises e testes rápidos de diagnóstico.

O internamento da VetOeiras – Hospital Veterinário está dividido em quatro áreas distintas: internamento de cães, gatos, animais com doenças infetocontagiosas e animais em cuidados intensivos / animais exóticos. No internamento foi possível acompanhar de perto a evolução dos casos clínicos dos animais hospitalizados e participar em todos os cuidados necessários como a realização de exames físicos, colheitas de sangue e realização dos testes laboratoriais necessários, oxigenoterapia, aporte calórico adequado, estratégias de regulação da temperatura corporal, medição não invasiva da pressão sanguínea arterial, medição da glicémia e do lactato e acompanhamento de transfusões sanguíneas.

Foi possível assistir a consultas nas áreas de medicina preventiva, medicina interna, cardiologia, dermatologia, oftalmologia, oncologia, imagiologia, ortopedia e fisioterapia. No gráfico 2 é disponibilizada a distribuição das horas despendidas nas diferentes áreas de consulta.

**Gráfico 2 - Distribuição do número de horas de estágio despendidas nas diferentes áreas de consulta**



Na área da medicina preventiva, houve a possibilidade de assistir e participar em várias consultas que incluem a vacinação, identificação eletrónica, desparasitação interna e externa, preenchimento de boletim sanitário, preenchimento de passaporte internacional, aconselhamento de dietas alimentares, controlo da obesidade, despiste de doenças congénitas e ou hereditárias, despiste de doenças infetocontagiosas, diagnóstico precoce de doenças cardíacas, renais e hepáticas, entre outras.

Nas consultas de medicina interna são seguidos casos na área de endocrinologia, nefrologia, gastroenterologia, sistema respiratório, imunologia, entre outros. Nas consultas de cardiologia faz-se o acompanhamento adequado de animais com patologias cardíacas, recorrendo à ecocardiografia e outros meios de diagnóstico.

O acompanhamento das consultas de oftalmologia permitiu a observação de exames oftalmológicos completos: biomicroscopia, tonometria, gonioscopia, oftalmoscopia direta e indireta, teste de Schirmer, colorações vitais, citologia córneo-conjuntival, entre outros. Foi

ainda possível assistir e interpretar exames complementares de diagnóstico, como a electrorretinografia e a ecografia ocular.

Nas consultas de dermatologia contactou-se com a utilização de meios de diagnóstico específicos da área como por exemplo, citologias cutâneas e auriculares, utilização da lâmpada de *wood* e biópsias de pele. Na área de oncologia foi possível assistir a consultas de acompanhamento de animais submetidos a tratamentos de quimioterapia.

Relativamente às consultas de ortopedia, foram observados inúmeros exames ortopédicos completos, na sequência de consultas de diagnóstico de claudicação, acompanhamento pós-cirúrgico e de manejo médico das patologias ortopédicas crónicas (com dor crónica). O acompanhamento das consultas de fisioterapia permitiu o contacto com as seguintes técnicas: aplicação de ultrassons, massagem para relaxamento muscular, electroestimulação, aplicação de laser, exercícios terapêuticos passivos, exercícios terapêuticos assistidos, exercícios ativos, hidroterapia em passadeira subaquática.

Sempre que possível, e na sequência das consultas das diferentes áreas descritas, eram discutidas a etiologia, sintomatologia, diagnóstico diferencial, métodos de diagnóstico, manejo clínico e alternativas terapêuticas.

Na área de imagiologia foram realizadas inúmeras radiografias simples e radiografias com contraste, o que permitiu a consolidação da aprendizagem dos posicionamentos adequados conforme a área a estudar, interpretação dos exames radiográficos e familiarização com os equipamentos de proteção individual (EPI) necessários. Foi também possível assistir a várias ecografias abdominais e ecocardiografias, ecografias para diagnóstico de gestação e algumas ecografias oculares e auxiliar em procedimentos como cistocentese e punções ecoguiadas. Em alguns casos, houve a possibilidade de praticar a técnica da ecografia abdominal. Por último, foi possível participar em endoscopias para remoção de corpos estranhos ou realização de biópsias.

A área de cirurgia e anestesiologia envolve a preparação pré-cirúrgica do animal, com a administração da medicação pré-anestésica e indução anestésica, colocação do tubo endotraqueal e na preparação do campo cirúrgico. Foi possível participar como ajudante de cirurgia em vários tipos de cirurgias: cirurgia de tecidos moles (ovariohisterectomias, orquiectomias, mastectomias, cesarianas, resolução de otomatomia, exérese de abscessos e massas com flaps, esplenectomia, resolução de torção gástrica, gastrotomia, enterectomia, ureterostomia, colocação de drenos,...); cirurgia ortopédica (resseção da cabeça do fémur, osteotomia de nivelamento da meseta tibial [TPLO], artroscopias do ombro, do cotovelo e do joelho, correções de fraturas); cirurgia oftalmológica (tratamento de cataratas por facoemulsificação e implantação de lentes intra-oculares, blefaroplastia reconstrutiva, *flaps* conjuntivais), cirurgia odontológica (destartarizações e extrações dentárias). Em alguns casos houve a oportunidade de executar pequenos procedimentos cirúrgicos sob orientação do cirurgião, como suturas, orquiectomias e destartarizações com polimento. Em algumas

cirurgias foi possível acompanhar a monitorização anestésica dos animais, participando na manutenção e regulação da anestesia durante todo o procedimento cirúrgico. Após as intervenções, realizou-se a monitorização pós-cirúrgica dos animais, incluindo a extubação, a realização de exames físicos completos e de escalas de dor recorrentes até à estabilização do animal, a realização de penso e administração de medicamentos. Posteriormente, e sempre que possível, assistiu-se às consultas de seguimento pós-cirúrgico e reavaliação das suturas destes animais. Adicionalmente, foram acompanhados outros procedimentos relativamente invasivos, nomeadamente lavagens broncoalveolares, punções de medula óssea e colocação de tubos de alimentação.

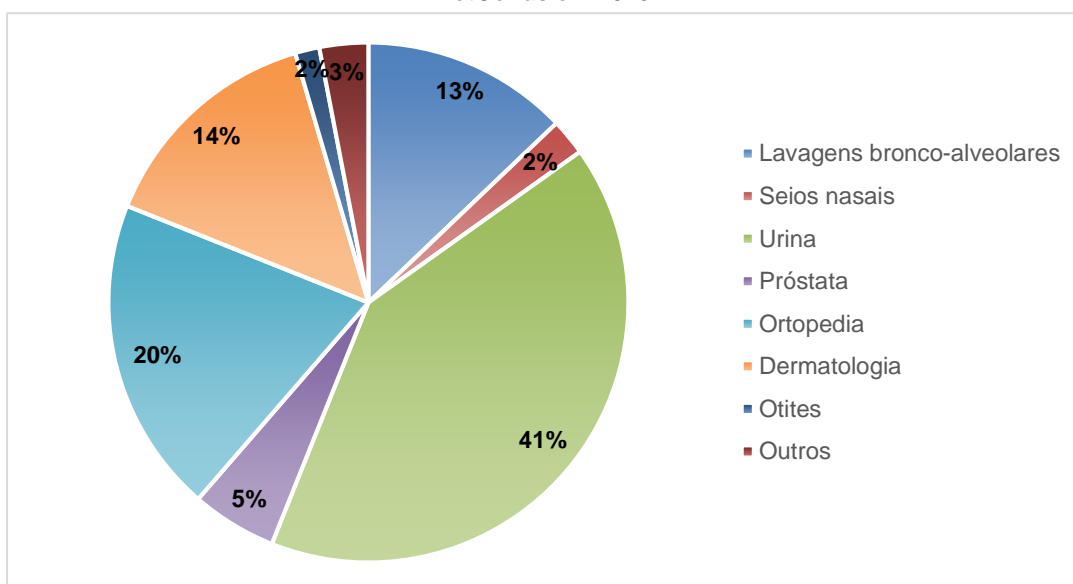
Assim, o estágio no VetOeiras – Hospital Veterinário permitiu desenvolver capacidades de comunicação, pensamento crítico e clínico em diversas áreas e observar uma grande diversidade de casos clínicos dentro das várias especialidades.

## II. Resistência antimicrobiana na infecção do trato respiratório inferior no cão e no gato – Revisão bibliográfica

### 1. Introdução

O aumento do aparecimento de infecções por bactérias multirresistentes, devido à emergência das resistências aos antimicrobianos tem sido uma preocupação na VetOeiras – Hospital Veterinário, o que motivou inicialmente a recolha de todos os resultados das culturas microbiológicas e testes de sensibilidade a antibióticos (TSA) realizados em 2018. O gráfico 3 ilustra a distribuição das infecções bacterianas diagnosticadas definitivamente, ou seja, com cultura microbiológica positiva, na VetOeiras em 2018.

Gráfico 3 – Distribuição das infecções bacterianas com cultura microbiológica positiva na VetOeiras em 2018.



Na área da medicina interna, os tipos de infecções registados com maior frequência foram as infecções urinárias (41%) e as infecções do trato respiratório inferior (13%). Uma vez que as infecções urinárias têm sido bastante estudadas e abordadas nos últimos anos, optou-se pela contribuição para a caracterização da infecção bacteriana do trato respiratório inferior no cão e no gato e das resistências antimicrobianas associadas, face ao potencial de risco de vida elevado para os animais e ao comprometimento do seu bem-estar que este tipo de infecções implica.

### 2. Terapêutica antimicrobiana

Os antimicrobianos são substâncias biológicas sintéticas ou semi-sintéticas, de baixo peso molecular, que têm a capacidade de matar ou inibir o crescimento de microrganismos, de forma segura para o hospedeiro. Em muitas situações, os termos antibiótico e antimicrobiano são considerados sinónimos (Giguère, Prescott & Dowling, 2013), o que é assumido neste trabalho.

A descoberta dos antibióticos é considerada uma das maiores invenções do século 20, tendo revolucionado significativamente a evolução das ciências médicas (Sykes & Papich, 2014). Atualmente, a terapêutica antimicrobiana ou antibioterapia é largamente utilizada tanto na medicina humana como na medicina veterinária, para o tratamento de doenças infecciosas de forma individualizada, mas também na produção animal de forma preventiva para assegurar a sanidade animal e, em alguns casos, como fator de crescimento na produção alimentar global (World Health Organization [WHO], 2000).

## 2.1. Classificação dos antimicrobianos

Há diversas formas de classificar os antibióticos, sendo que os esquemas de classificação mais utilizados são baseados na sua estrutura química, mecanismo de ação e espectro de ação (Calderon & Sabundayo, 2007). Na tabela 1 são disponibilizados os espectros de ação antibacteriana dos antibióticos.

**Tabela 1 – Espectros de ação antibacteriana dos antibióticos (adaptado de Giguère *et al.*, 2013)**

Espectro	Bactérias Aeróbias		Bactérias Anaeróbias		Exemplos de Antibióticos
	Gram +	Gram -	Gram +	Gram -	
Largo	+	+	+	+	Fluoroquinolonas de 3ª geração, Cloranfenicol, Carbapenemos
Intermédio	+	+	+	(+)	Cefalosporinas de 3ª e 4ª geração
	+	(+)	+	(+)	Cefalosporinas de 2ª geração
	(+)	(+)	(+)	(+)	Tetraciclina
Estreito	+	+/-	+	(+)	Cefalosporinas de 1ª geração, Ampicilina, Amoxiciclina
	+	-	+	(+)	Penicilina, Lincosamidas, Glicopéptidos, Estreptograminas
	+	+/-	+	(+)	Macrólidos
	+/-	+	-	-	Aminoglicosídeos
	(+)	+	-	-	Fluoroquinolonas de 2ª geração
	(+)	(+)	-	-	Trimetoprim / sulfamidas
	-	-	+	+	Nitroimidazóis
	+	-	(+)	(+)	Rifampicina

**+: boa atividade; (+): atividade moderada; +/-: atividade limitada; -: atividade inexistente**

Os grupos dos beta-lactâmicos, dos macrólidos, das tetraciclina, das quinolonas, dos aminoglicosídeos, das sulfamidas, dos glicopeptídeos e das oxazolidinonas são exemplos das classes de antibióticos mais comuns relativamente à estrutura química (van Hoek *et al.*, 2011; Adzitey, 2015).

Os antibióticos podem ainda ser classificados como bactericidas e bacteriostáticos, tendo em conta o modo de supressão bacteriana. Assim, num antibiótico bactericida, o rácio da

concentração bactericida mínima com a concentração inibitória mínima é baixo, ou seja, CMB/CIM < 4-6 (ex: aminoglicosídeos, beta-lactâmicos, quinolonas...). Por outro lado, nos antibióticos bacteriostáticos o rácio entre os dois valores é elevado, isto é, CMB/CIM > 4-6 (ex: cloranfenicol, tetraciclina, trimetopim, sulfonamidas...) (Brissot *et al.*, 2016).

Os antibióticos bactericidas são ainda divididos em tempo-dependentes e concentração-dependentes. Neste caso, os antibióticos tempo-dependentes são bactericidas lentos, cuja concentração deve ser mantida acima da CIM durante o máximo de tempo possível para que o tratamento seja eficaz, como é o caso das penicilinas e cefalosporinas. Pelo contrário, para a eficácia dos antibióticos concentração-dependentes, é necessário que os picos de concentração sejam muito acima da CIM, como acontece nos aminoglicosídeos (Brissot *et al.*, 2016).

### 2.1.1. Mecanismos de ação

Os principais mecanismos de ação das substâncias antimicrobianas são: a inibição na síntese da parede celular, a inibição da síntese proteica, a inibição da síntese dos ácidos nucleicos, o bloqueio de processos metabólicos e a modificação da membrana plasmática (Hooper, 2001; Liwa & Jaka, 2015; Talaro & Chess, 2017).

O grupo dos beta-lactâmicos (incluindo os carbapenemos), dos glicopeptídeos, a bacitracina e a fosfomicina são os compostos antimicrobianos que inibem a síntese da parede celular (Giguère *et al.*, 2013). Enquanto os beta-lactâmicos interagem e inibem diretamente as transpeptidases, enfraquecendo as ligações de peptidoglicano que formam a parede celular (Kotra & Mobashery, 1998; Liwa & Jaka, 2015), os glicopeptídeos inibem as reações enzimáticas da transglicosilase e da transpeptidase necessárias à síntese da parede celular de peptidoglicano (Wilke, Lovering & Strynadka, 2005; Liwa & Jaka, 2015).

Muitos antibióticos têm como principal mecanismo de ação a inibição da síntese proteica bacteriana, ou seja, impedem o normal funcionamento do ribossoma. Neste grupo incluem-se os aminoglicosídeos, os macrólidos, as tetraciclina, as lincosamidas, os quetólidos, as estreptograminas, as oxazolidinonas e o cloranfenicol (Hooper, 2001; McKee, Ferguson, Bentley & Marks T., 2006; Liwa & Jaka, 2015). Tanto os aminoglicosídeos como as tetraciclina interagem com a subunidade 30S do ribossoma, enquanto que os restantes interagem com a subunidade 50S (Giguère *et al.*, 2013; Liwa & Jaka, 2015).

A inibição da síntese de ácidos nucleicos é o mecanismo de ação do grupo das quinolonas e fluoroquinolonas, dos nitroimidazóis (ex: metronidazol), dos nitrofuranos (ex: nitrofurantoína) e da rifampicina (Giguère *et al.*, 2013). As fluoroquinolonas exercem a sua ação inibindo a atividade das enzimas bacterianas ácido desoxirribonucleico (ADN) girase e topoisomerase IV, o que resulta no bloqueio da transcrição e replicação do ADN bacteriano. No caso dos nitroimidazóis e dos nitrofuranos, depois de “absorvidos” pela bactéria, ocorre a redução do grupo nitro, e conseqüentemente a formação de compostos intermediários instáveis e tóxicos

que causam a destruição do ADN e inibem a atividade da enzima reparadora ADNase 1 (Giguère *et al.*, 2013; Sykes & Papich, 2014). A rifamicina tem a capacidade de inibir a atividade da enzima ácido ribonucleico (ARN) polimerase ADN dependente, impedindo desta forma a síntese de ARN (Kohanski, Dwyer & Collins, 2010).

Os grupos de antibióticos que modificam a membrana celular das bactérias são específicos de acordo com os diferentes componentes lipídicos que formam membranas (Etebu & Ariekpar, 2016). Os antibióticos do grupo das polimixinas ligam-se a determinados componentes lipídicos das membranas celulares, causando a sua desintegração (Falagas, Rafailidis, & Matthaiou, 2010), já a daptomicina despolariza rapidamente as membranas dependentes de cálcio, o que conduz à morte bacteriana (Alborn, Allen & Preston, 1991; Etebu & Ariekpar, 2016).

Há ainda antibióticos que têm características que lhes permitem mimetizar alguns dos substratos necessários ao metabolismo celular, bloqueando assim determinadas etapas do metabolismo bacteriano. No caso das sulfamidas e do trimetropim, há interrupção da síntese do ácido fólico, o que compromete a produção de ácidos nucleicos e proteínas (Giguère *et al.*, 2013).

## **2.2. Resistência antimicrobiana**

A eficácia da utilização de antimicrobianos no tratamento de infeções enfrenta atualmente os desafios e dificuldades do aparecimento, desenvolvimento e persistência de diferentes mecanismos de resistência antimicrobiana nos microrganismos (Giguère *et al.*, 2013). Com a disseminação e vulgarização da utilização de compostos antimicrobianos registou-se o aumento do aparecimento e da complexidade das resistências aos mesmos (Liwa & Jaka, 2015).

Segundo a Comissão Europeia, a aquisição de resistência aos compostos antimicrobianos define-se como "a capacidade de os microrganismos, como as bactérias, se tornarem cada vez mais resistentes aos compostos antimicrobianos a que eram anteriormente sensíveis. (...) Este processo de seleção natural é agravado por fatores humanos, como o uso inadequado de compostos antimicrobianos na medicina humana e na medicina veterinária ou as más condições e práticas de higiene em contextos de prestação de cuidados de saúde ou na cadeia alimentar, que facilitam a transmissão de microrganismos resistentes." (Comissão Europeia, 2017).

Para todos os antibióticos que atualmente estão disponíveis para utilização clínica em medicina humana e medicina veterinária são conhecidos mecanismos de resistência antimicrobiana. Contudo, uma gestão sustentável dos antibióticos atualmente disponíveis e o contínuo desenvolvimento de novos antibióticos e de alternativas aos mesmos, são essenciais de forma a proteger a saúde humana e animal contra os microrganismos patogénicos (Giguère *et al.*, 2013).

### **2.2.1. Tipos de resistência antimicrobiana**

A resistência antimicrobiana de determinado microrganismo pode ser intrínseca ou adquirida. A resistência intrínseca é comum a todas as bactérias pertencentes ao mesmo grupo taxonómico (ex: género, espécie ou subespécie), e deve-se geralmente a características estruturais ou bioquímicas naturalmente presentes nos microrganismos. O conhecimento deste tipo de resistências é imprescindível na medida em que assim se pode evitar a instituição de tratamentos inapropriados e, portanto, ineficazes (Giguère *et al.*, 2013). O Comité Europeu de Testes de Suscetibilidade Antimicrobiana (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing [EUCAST]) atualizou em 2019 um conjunto de regras especializadas com informações sobre as resistências intrínsecas, fenótipos de resistência excecionais, com regras interpretativas que podem ser aplicadas ao TSA para reduzir erros e ainda com recomendações apropriadas para relatar resistências específicas. Contudo, estas regras não estão ainda disponíveis para todos os microrganismos (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing [EUCAST], 2019).

A resistência adquirida ocorre devido à evolução genética e bioquímica dos microrganismos patogénicos que leva à criação de resistências aos compostos antimicrobianos (Giedraitienė, Vitkauskienė, Naginienė & Pavilionis, 2011; Liwa & Jaka, 2015). A evolução genética manifesta-se quando um microrganismo, que originalmente seria suscetível, sofre alterações genéticas que lhe conferem resistência ao antibiótico. Estas alterações podem ser manifestadas através da resistência a um único composto antimicrobiano, a vários da mesma classe ou até a compostos de classes diferentes (Giguère *et al.*, 2013).

### **2.2.2. Mecanismos de resistência antimicrobiana**

Há uma grande variedade de mecanismos de resistência antimicrobiana identificados em bactérias, sendo que, muitas vezes, a resistência de uma determinada espécie de bactérias a um único antibiótico é consequência da presença de vários mecanismos de resistência (Giguère *et al.*, 2013).

Conhecer o mecanismo de ação dos diferentes antimicrobianos e os mecanismos de resistência antimicrobiana é essencial para o controlo e prevenção do aparecimento e disseminação deste problema que ameaça de forma globalmente preocupante a eficácia da terapia antimicrobiana (McKeegan, Borges-Walmsley & Walmsley, 2002; Liwa & Jaka, 2015). Os principais mecanismos genéticos que levam à resistência antimicrobiana são as mutações, a expressão de um gene latente e a aquisição de genes ou segmentos de ADN. Alguns destes genes são herdados (transmissão vertical), outros surgem devido a mutações aleatórias no ADN bacteriano e alguns são adquiridos de outros organismos (transmissão horizontal) (McKeegan *et al.*, 2002; Liwa & Jaka, 2015).

Os mecanismos de resistência a compostos antimicrobianos podem ser bioquimicamente agrupados em diferentes grupos: inativação antimicrobiana por ação de enzimas bacterianas,

alterações de membrana, proteção do ribossoma, indução de bombas de efluxo e alteração da molécula alvo (Liwa & Jaka, 2015; Talaro & Chess, 2017).

A interação entre o composto antimicrobiano e o local alvo na bactéria é muito específica, pelo que pequenas alterações nesse local são suficientes para interferir na ligação do antibiótico. Os agentes patogénicos têm vindo a adquirir algumas alterações genéticas nos locais alvo, reduzindo a suscetibilidade a determinados antimicrobianos, sem comprometer o seu desempenho celular (Lambert, 2005; Liwa & Jaka, 2015). A resistência do *Streptococcus pneumoniae* à penicilina e a resistência do *Staphylococcus aureus* à metilicina devem-se à alteração das proteínas de ligação da parede celular, tal como várias espécies de enterococos tem adquirido resistência à vancomicina devido a uma alteração semelhante (Talaro & Chess, 2017).

Há determinadas enzimas bacterianas como as  $\beta$ -lactamases, as enzimas que modificam a estrutura dos aminoglicosídeos (n-acetiltransferases, o-adeniltransferases e o-fosfotransferases), a cloranfenicol-acetiltransferase e a eritromicina esterase, que têm a capacidade de inativar alguns compostos antimicrobianos (Hawkey & Jones, 2009; Giedraitienè *et al.*, 2011; Sykes & Papich, 2014; Liwa & Jaka, 2015).

O modo de ação de alguns grupos de antibióticos como os macrólidos, lincosamidas e estreptograminas passa por inibir a síntese proteica através da ligação com a subunidade ribossomal 50S, como já referido. Assim, a alteração genética da subunidade 50S conduz a um tipo específico de resistência, denominada MLS(B) (macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance) (Vannuffel & Cocito, 1996; Liwa & Jaka, 2015).

A membrana plasmática das bactérias gram-negativas é constituída por uma camada interna de fosfolípidos e uma camada mais externa de lípidos (Lambert, 2002; Liwa & Jaka, 2015). Isto faz com que a passagem de moléculas hidrofílicas para o seu interior, como é o caso de alguns antibióticos, esteja a cargo das porinas, proteínas que constituem a membrana. As mutações das porinas podem resultar tanto em alterações estruturais como na diminuição da sua expressão, resultando na exclusão bacteriana de antibióticos como os  $\beta$ -lactâmicos e as fluoroquinolonas, o que conduz à inatividade destas substâncias pois não conseguem entrar na célula (Pages, James & Winterhalter, 2008).

As bombas de efluxo são moléculas membranares de transporte ativo, responsáveis pela excreção celular de compostos tóxicos, incluindo as moléculas antimicrobianas, constituindo assim um dos mecanismos de resistência mais utilizados pelos agentes patogénicos (Li & Nikaido, 2009). Há uma grande variedade de bombas de efluxo, sendo que algumas são específicas para determinados compostos antimicrobianos, enquanto outras tem a capacidade de excretar uma grande diversidade de compostos contribuindo assim para o aparecimento de multirresistências. A aquisição deste tipo de mecanismos de multirresistência reduz as alternativas terapêutica eficazes. Algumas bactérias multirresistentes como a *Pseudomonas aeruginosa* e o *Acinetobacter baumannii* combinam a

ativação das bombas de efluxo MDR (multidrug resistance) com uma variedade de outros tipos de mecanismos de resistência, como a produção da enzima  $\beta$ -lactamase e outras enzimas de inativação e as alterações das moléculas alvo (Sykes & Papich, 2014).

### 2.3. Importância da resistência antimicrobiana

As infecções multirresistentes têm vindo a tornar-se num enorme desafio, a nível global, na área da medicina humana e da medicina veterinária, com grande impacto na saúde pública, no bem-estar humano e animal, na produção alimentar e na economia (Fair & Tor, 2014; Weese *et al.*, 2015; Walther, Tedin & Lübke-Becker, 2017). Os níveis de morbidade e mortalidade associados a este tipo de infecções são mais elevados, quando comparados com infecções por bactérias suscetíveis, sendo que este tipo de infecções leva ao prolongamento das estadias hospitalares, ao aumento dos custos dos cuidados de saúde e, em casos extremos, à ausência de tratamentos eficazes para determinadas infecções (Fair & Tor, 2014; Walther *et al.*, 2017).

Na tabela 2 estão identificadas as bactérias mais problemáticas relativamente às resistências antimicrobianas e as resistências mais alarmantes de que são portadoras (Fair & Tor, 2014).

**Tabela 2 – Bactérias resistentes com maior expressão e mais preocupantes (adaptado de Fair & Tor, 2014)**

Bactéria	Classificação (Gram)	Respiração	Resistências
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Anaeróbia facultativa	$\beta$ -lactâmicos, Glicopeptídeos
<i>Enterococcus</i> spp.	+	Anaeróbia facultativa	$\beta$ -lactâmicos, Glicopeptídeos, Aminoglicosídeos
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	+	Anaeróbia aerotolerante	$\beta$ -lactâmicos, Macrólidos, Quinolonas
<i>Clostridium difficile</i>	+	Anaeróbia obrigatória	$\beta$ -lactâmicos, Quinolonas
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	+	Aeróbia	Rifamicinas, Quinolonas, Aminoglicosídeos
<i>Escherichia coli</i>	-	Anaeróbia facultativa	$\beta$ -lactâmicos, Quinolonas, Aminoglicosídeos
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Anaeróbia facultativa	Todas as classes exceto Polimixinas
<i>Acinetobacter</i> spp.	-	Anaeróbia facultativa	Todas as classes
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	Anaeróbia facultativa	$\beta$ -lactâmicos, Quinolonas, Aminoglicosídeos
<i>Enterobacter</i> spp.	-	Anaeróbia facultativa	$\beta$ -lactâmicos, Quinolonas
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-	Aeróbia	$\beta$ -lactâmicos, Quinolonas, Tetraciclina, Macrólidos

Na sequência do aumento das resistências antimicrobianas ao longo dos anos, tem havido também uma crescente preocupação com a utilização excessiva dos antibióticos, e as suas consequências para a saúde humana e animal. O uso de antibióticos em qualquer circunstância expõe os agentes patogénicos e a microbiota comensal a uma pressão de seleção que pode levar ao aparecimento de resistência ou a um aumento das bactérias resistentes expostas (Weese *et al.*, 2015). Apesar de não haver dados suficientes para quantificar o risco associado, é evidente que a administração de antimicrobianos pode resultar no aparecimento de resistências e que existe a possibilidade de transmissão bidirecional entre o Homem e os animais, tanto de agentes patogénicos resistentes como de genes de resistência através de plasmídeos (Giguère *et al.*, 2013; Weese *et al.*, 2015).

Uma vez que o contacto do Homem com os animais é cada vez mais próximo, não só devido à produção animal e alimentação, mas também devido à mudança do papel social e aumento dos animais de companhia, o risco zoonótico é superior (Pomba *et al.*, 2016).

Nos animais de companhia o principal fator de risco associado à colonização ou infeção de microrganismos multirresistentes é a utilização de antibióticos (Rantala *et al.*, 2004; Soares Magalhães *et al.*, 2010; Grönthal *et al.*, 2014). Por outro lado, além da administração de antimicrobianos, há outros fatores de risco identificados no Homem, como é o caso da hospitalização prolongada, cirurgia gastrointestinal ou transplante, exposição a dispositivos invasivos (principalmente cateteres venosos centrais), doenças subjacentes, gravidade da doença e idade avançada do paciente (Safdar & Maki, 2002; Pomba *et al.*, 2016). No caso dos animais de companhia há ainda poucos estudos acerca de outros fatores além do uso de antibióticos (Baptiste *et al.*, 2005; van Duijkeren *et al.*, 2011; Pomba *et al.*, 2016).

O crescente aparecimento de multirresistências em microrganismos patogénicos é atualmente um problema emergente de saúde pública, que requer a adoção de uma série de medidas e estratégias que permitam o controlo e prevenção do aparecimento e disseminação das resistências antimicrobianas (Giguère *et al.*, 2013; Comissão Europeia, 2017).

A definição de bactérias multirresistentes varia significativamente entre os estudos, o que impede comparações diretas. Magiorakos *et al.* (2012), através de uma iniciativa conjunta do Centro Europeu de Prevenção de Doenças e Controlo e dos Centros de Controlo e Prevenção de Doenças, propôs uma definição padronizada de bactérias multirresistentes (MDR), extensivamente resistentes (XDR) e completamente resistentes (PDR). Estes conceitos foram recentemente adaptados para isolados de animais de companhia, com o objetivo de harmonizar também futuros relatórios de vigilância de resistência antimicrobiana em medicina veterinária (Sweeney, Lubbers, Schwarz & Watts, 2018).

Do reconhecimento desta necessidade de uma resposta multissetorial a nível global às resistências antimicrobianas, surge a cooperação da Organização Mundial de Saúde (OMS), da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) e da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO), que resulta num plano de ação global sobre as resistências

antimicrobianas (Rochford *et al.*, 2018). Este plano baseia-se no conceito de “Uma Só Saúde” (“One Health”), reconhecendo a ligação da saúde humana com a saúde animal e com o meio ambiente, e tem como objetivos diminuir a utilização desnecessária de antibióticos na saúde humana e animal e também na agricultura, erradicar os efluentes não descontaminados resultantes dos cuidados de saúde humana e animal, melhorar e implementar programas de prevenção e controlo de infeções e de sanitização e higiene das águas em todos os setores, garantir o acesso adequado e controlado aos antibióticos a nível global e apostar no desenvolvimento e inovação de novos meios de diagnóstico, vacinas, novos antibióticos e alternativas de tratamento (Wernli *et al.*, 2017).

Para facilitar a seleção e utilização prudente dos antibióticos, a OMS e a OIE têm vindo a desenvolver listas dos compostos mais usados em medicina humana e em medicina veterinária respetivamente, distribuindo-os em três categorias: antibióticos criticamente importantes, antibióticos muito importantes e antibióticos importantes (WHO, 2019). No anexo 1 estão exemplos de antibióticos pertencentes às categorias referidas. As recomendações europeias referem que deve ser evitada a administração a animais de companhia de antibióticos criticamente importantes, como as cefalosporinas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> geração e as fluoroquinolonas, para que a sua eficácia seja salvaguardada para o tratamento de infeções sem alternativas terapêuticas (Weese *et al.*, 2015; Brissot *et al.*, 2016).

Na área da medicina veterinária, vários grupos de especialistas têm desenvolvido diretrizes de orientação para o uso prudente dos fármacos antimicrobianos, como tem acontecido nos consensos do American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM). Em 2005, no primeiro consenso do ACVIM, foram definidas quatro categorias de antibióticos, com base na sua utilização: primeira linha, segunda linha, terceira linha e restritos. No anexo 2 estão exemplos de antibióticos que pertencem a cada uma destas categorias. Os antibióticos de primeira linha estão bem estabelecidos e tem um elevado nível de eficácia e segurança sempre que a sua utilização é apropriada, sendo idealmente de espectro estreito. A categoria de segunda linha inclui antibióticos geralmente de largo espetro, com importância clínica tanto para o Homem como para os animais. Alguns são abrangidos nesta categoria devido à sua toxicidade. Sempre que possível, estes antibióticos só devem ser utilizados após cultura e testes de sensibilidade antimicrobiana (TSA) ou perante evidências epidemiológicas de que os antibióticos de primeira linha serão ineficazes. Na terceira linha incluem-se antibióticos de extrema importância para a saúde animal e humana principalmente para o tratamento de infeções por bactérias multirresistentes. Assim, estes fármacos devem apenas ser utilizados após cultura e TSA que evidenciem que o tratamento com um de primeira e um de segunda linha não será eficaz ou excepcionalmente em condições de risco de vida enquanto se aguardam os resultados da cultura e TSA. Os restritos são antibióticos de importância vital para a saúde humana, pelo que não estão autorizados medicamentos para uso veterinário que os contenham na sua composição (Morley *et al.*, 2005; Brissot *et al.*, 2016).

Atualmente reconhece-se que, idealmente, estas categorias deviam ser baseadas no espectro de ação, no efeito na microbiota comensal, na probabilidade de ocorrência de resistências e na utilidade para o tratamento de infeções graves no Homem e nos animais. No entanto, há ainda uma grande falta de informações e de dados concretos, acerca do impacto do uso de antibióticos no aparecimento das resistências, para a criação de classes com base em todos estes critérios (Weese *et al.*, 2015; Brissot *et al.*, 2016).

Em 2014 foi realizado um estudo, com a participação de 25 países da União Europeia (UE), com o objetivo de perceber quais os antibióticos mais utilizados em medicina veterinária na UE, tendo em conta as diferentes espécies e tipos de infeções em que são administrados (De Briyne, Atkinson, Pokludová & Borriello, 2014). Na tabela 3 está evidenciada proporção da prescrição das diferentes classes de antibióticos no total dos países em estudo, em cães e gatos.

**Tabela 3 – Proporção da prescrição das diferentes classes de antibióticos no total dos países em estudo (adaptado de De Briyne *et al.*, 2014)**

Antibióticos		Gatos (n=2348)	Cães (n=3885)
Antibióticos Críticamente Importantes	Cefalosporinas de 3ª e 4ª geração	14 %	1 %
	Macrólidos	3 %	4 %
	Quinolonas e Fluoroquinolonas	13 %	11 %
Cefalosporinas de 1ª e 2ª geração		7 %	21 %
Aminoglicosídeos		1 %	4 %
Ácido fusídico		-	3 %
Lincosamidas		8 %	6 %
Metronidazol		2 %	7 %
Penicilinas		37 %	33 %
Polimixina		-	2 %
Sulfonamidas potenciadas		-	3 %
Tetraciclina		14 %	5 %
Outros		<1 %	<1 %

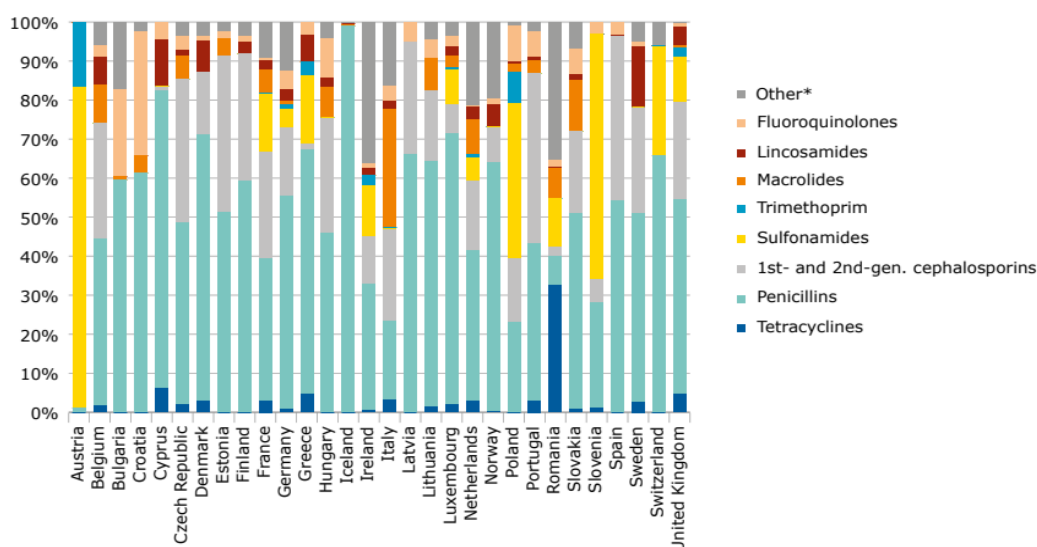
Os resultados discrepantes entre os vários países em estudo e até mesmo entre centros de atendimento médico veterinário (CAMVs) do mesmo país, evidenciam a necessidade de uma abordagem mais difundida das políticas de prescrição de antibióticos em medicina veterinária bem como a monitorização da aplicação destas mesmas políticas, de modo a assegurar a generalização das práticas de utilização prudente de antibióticos (De Briyne *et al.*, 2014).

O relatório mais recente da Vigilância Europeia do Consumo Veterinário Antimicrobiano (European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption [ESVAC]) demonstra também a existência de variações nas vendas totais das diferentes classes de antimicrobianos veterinários entre os 30 países em estudo. Neste relatório assume-se que a proporção de vendas de antimicrobianos na forma farmacêutica de comprimidos representa a sua utilização em animais de companhia, uma vez que a prescrição de comprimidos em medicina veterinária

é quase exclusiva aos animais de companhia (European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption [ESVAC], 2018). No gráfico 4 está representada a distribuição de vendas de comprimidos por classe antimicrobiana, nos 30 países em estudo.

A ESVAC refere que as variações da distribuição de vendas das diferentes classes de antimicrobianos veterinários entre os vários países podem ser devidas a diferenças como a proporção relativa das várias espécies animais produtoras de alimentos, a disponibilidade de produtos antimicrobianos no mercado, os preços, os sistemas de produção animal e a situação geral relativamente às doenças infecciosas. Contudo, estes fatores não explicam na totalidade as diferenças registadas. Por outro lado, a redução de vendas de antimicrobianos veterinários registada em alguns países em estudo, evidencia a existência de potencial de redução nos restantes países (ESVAC, 2018).

**Gráfico 4 – Distribuição das vendas de comprimidos, em toneladas de ingrediente ativo, por classe antimicrobiana, por país, em 2016.<sup>1,2</sup> (ESVAC, 2018)**



<sup>1</sup> Some tablet formulations are authorised for use in food-producing, fur and companion animals.

<sup>2</sup> In Romania, 45% (1.5 tonnes) of tablets sold were indicated for poultry and/or cage birds.

\*Small amount of aminoglycosides, amphenicols, polymyxins, 3rd- and 4th-gen. cephalosporins and other antibacterials (classified as such in the ATCvet system) were sold in some countries.

Assim, a comunidade médico veterinária deve ter um papel extremamente ativo nas discussões relativas ao uso prudente e eficaz de compostos antimicrobianos, considerando formas de melhorar as práticas de utilização destes fármacos e de reduzir a pressão de seleção de resistências antimicrobianas garantindo o necessário acesso aos compostos antimicrobianos. Dada a complexidade deste problema, não existem soluções perfeitas, no entanto, otimizar o uso dos compostos antimicrobianos está ao nosso alcance, beneficiando toda a sociedade (Weese *et al.*, 2015).

### 3. Infecções bacterianas do trato respiratório inferior

As doenças do trato respiratório estão muitas vezes associadas a infeções bacterianas primárias ou secundárias, levando à necessidade de recorrer a terapêuticas antimicrobianas

(Lappin *et al.*, 2017). As infecções bacterianas do trato respiratório inferior são um diagnóstico clínico comum em cães e gatos (Epstein, Mellema & Hopper, 2010).

As bactérias podem instalar-se nas vias aéreas, nos alvéolos ou no interstício. As infecções que se limitam às vias aéreas e aos tecidos peri-bronquiais são denominadas bronquites bacterianas, enquanto que nas pneumonias e broncopneumonias estão afetados todos os segmentos (Nelson & Couto, 2014).

### **3.1. Mecanismos de defesa do hospedeiro e patogenicidade bacteriana**

As vias aéreas inferiores têm uma rede de defesa complexa e bastante eficaz em animais saudáveis, pelo que normalmente têm a capacidade de eliminar bactérias e outras partículas. As infecções instalam-se quando há entrada de uma grande carga bacteriana, quando existe uma virulência elevada dos microrganismos ou em caso de existência concomitante de lesões diretas, ou seja, situações que se sobrepõem às capacidades de defesa broncoalveolares (Brady, 2004).

Esta rede de defesa inicia-se com a deposição e eliminação das partículas grandes (superiores a 10 µm) na nasofaringe, através do sistema mucociliar e da tosse. As junções broncoalveolares são os locais mais vulneráveis do trato respiratório inferior: são uma zona de deposição pequenas partículas (0,5 a 3,0 µm de diâmetro) capazes de atingir o pulmão; o epitélio dos bronquíolos não está protegido pelo muco que cobre as vias aéreas de grande dimensão ou por um sistema de macrófagos semelhante ao dos alvéolos; e o material de descamação do parênquima alveolar tem de sair pelo lúmen estreito do bronquíolo parental, que entope facilmente devido à formação de *plugs* (Brady, 2004).

Os mecanismos locais de defesa alveolar incluem a produção de surfactante e a existência de um sistema de macrófagos locais. Enquanto o surfactante tem atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus spp.* e algumas bactérias gram-negativas, os macrófagos alveolares desempenham um papel fundamental na defesa celular do pulmão, não só devido à sua atividade fagocitária, mas também devido ao papel que desempenham na regulação das cascatas inflamatória e anti-inflamatória. A interação entre macrófagos, linfócitos e neutrófilos é bastante complexa, e é responsável pela regulação das cascatas inflamatória e anti-inflamatória, desempenhando um papel essencial no combate às infecções bacterianas, uma vez que a eliminação eficaz da maioria dos microrganismos patogénicos é consequente à resposta inflamatória do organismo (Brady, 2004).

Embora a inflamação seja essencial para a atuação da imunidade inata e para a defesa do hospedeiro, pode também trazer consequências nefastas para os pulmões e contribui para a fisiopatologia da doença. Isto porque há o risco de desenvolvimento de edema pulmonar não cardiogénico, devido à acumulação de líquidos plasmáticos extracelulares; já os produtos neutrofílicos produzidos (como produtos oxidativos e proteases) são tóxicos não só para as bactérias como também para as células hospedeiras, danificando assim os tecidos do

hospedeiro (Mizgerd, 2008).

Os agentes patogénicos pulmonares têm a capacidade de interferir nos mecanismos de sinalização do hospedeiro, assim como de adaptar as suas respostas consoante a reação imunológica do mesmo. Por exemplo, a *Pseudomonas aeruginosa* expressa um recetor que reconhece o interferão- $\gamma$  e que na sua presença estimula a formação de biofilmes, que conferem maior resistência bacteriana tanto à imunidade inata como aos antibióticos. Outro exemplo é o aumento das taxas de crescimento tanto da *P. aeruginosa* como de outras bactérias, em resposta ao TNF- $\alpha$  e a outras citocinas, como a IL-1 $\beta$  e a IL-6, que fazem parte da cascata inflamatória do organismo hospedeiro. Assim, as bactérias não só detetam a sinalização imunológica inata como têm a capacidade de responder inibindo a defesa do hospedeiro e facilitando a infeção (Mizgerd, 2008).

### **3.2. Fatores de risco e etiologia**

Em cães e gatos as bronquites, ou seja, as inflamações dos brônquios, podem ocorrer devido a inalação de substâncias irritantes, infeções bacterianas, virais ou parasitárias, disfunção faríngea ou esofágica e alergias (Rozanski, 2014). A bronquite aguda está muitas vezes associada a infeções de *Bordetella bronchiseptica* e *Mycoplasma spp.*, associadas também ao complexo respiratório infeccioso canino ou a infeções respiratórias superiores crónicas em gatos, sendo que a maioria se resolve com o plano de tratamento para a causa primária. Mas, alguns animais com este quadro, podem desenvolver complicações como a bronquite crónica ou broncopneumonia (Chandler & Lappin 2002; Lappin *et al.*, 2017), assim como animais com outras doenças inflamatórias dos brônquios ou defeitos anatómicos da laringe e traqueia podem desenvolver bronquite bacteriana secundária (Lappin *et al.*, 2017). A bronquite crónica nem sempre está associada a infeções bacterianas, uma vez que em muitos casos as culturas dos lavados broncoalveolares são negativas ou apresentam baixas cargas bacterianas (McKiernan, 2000; Rozanski, 2014).

A pneumonia, ou inflamação pulmonar, bacteriana é um dos diagnósticos clínicos mais comuns em cães com doenças respiratórias agudas ou crónicas. Pelo contrário, nos gatos esta doença é menos comum, quando comparada com a bronquite inflamatória felina (Dear, 2014). As broncopneumonias são clinicamente semelhantes às pneumonias, caracterizadas pela inflamação dos brônquios e dos alvéolos pulmonares, com origem nas junções broncoalveolares (Epstein *et al.*, 2010).

As pneumonias primárias em cães e gatos são pouco comuns, e os principais agentes associados a este tipo de infeção são *B. bronchiseptica*, *Mycoplasma spp.*, *S. equi zooepidemicus*, *S. canis* e *Yersinia pestis* (Lappin *et al.*, 2017). Assim, na maioria dos casos, a pneumonia bacteriana é secundária a outros processos inflamatórios como infeções virais, aspiração de conteúdo oral, faríngeo ou gástrico (durante o vômito ou regurgitação ou devido a defeitos faríngeos ou laríngeos), durante a recuperação anestésica e devido à inalação de

corpos estranhos (Tart, Babski & Lee, 2010; Dear, 2014; Viitanen, Lappalainen & Rajamaki, 2015). Qualquer causa de imunossupressão sistêmica, assim como alterações adicionais aos mecanismos naturais de defesa, aumentam o risco de ocorrência pneumonias bacterianas. Assim a quimioterapia, a terapia imunossupressiva e a terapia antitússica aumentam a probabilidade do aparecimento de infecções pulmonares bacterianas (Dear, 2014). Outros fatores predisponentes para a ocorrência de pneumonias bacterianas secundárias são as doenças brônquicas ou pulmonares, como neoplasias, discinesia ciliar, bronquiectasia ou colapso das vias aéreas (Lappin *et al.*, 2017).

As bactérias que mais frequentemente estão associadas a infecções do trato respiratório inferior em cães e gatos são *E. coli*, *Pasteurella spp.*, *Streptococcus spp.*, *B. bronchiseptica*, *Enterococcus spp.*, *Mycoplasma spp.*, *S. pseudintermedius*, *Staphylococcus spp.* coagulase-positivos e *Pseudomonas spp.* (Proulx, Hume, Drobatz & Reineke, 2014; Rheinwald, 2014; Dear, 2014; Lappin *et al.*, 2017).

### **3.3. Sinais clínicos e exame físico**

A história clínica do paciente pode muitas vezes conduzir à identificação da causa e/ou dos fatores predisponentes para o aparecimento da infecção (Dear, 2014).

Assim, os sinais clínicos variam com a causa, gravidade e cronicidade da infecção (Dear, 2014). Nas bronquites bacterianas em cães e gatos, o principal sinal clínico é a tosse, podendo ou não, ser acompanhada por esforço respiratório (Lappin *et al.*, 2017).

No caso das pneumonias e broncopneumonias, há normalmente a associação de sinais respiratórios e sistêmicos. Os sinais respiratórios podem incluir tosse produtiva, corrimento nasal mucopurulento bilateral, intolerância ao exercício e esforço respiratório. A nível sistêmico, aparecem associados sinais como letargia, anorexia, febre e perda de peso (Nelson & Couto, 2014; Lappin *et al.*, 2017). Numa fase inicial aparecem apenas sinais leves como tosse suave e intermitente. Com a evolução da infecção dá-se o desenvolvimento de tosse refratária e produtiva, intolerância ao exercício, anorexia, letargia, taquipneia e, em casos graves, cianose e ortopneia. Geralmente, os sinais sistêmicos são mais evidentes nos cães do que nos gatos, e embora os gatos possam apresentar sinais clínicos semelhantes, a tosse é menos comum e é muitas vezes mal interpretada pelos detentores (Dear, 2014).

No exame físico, pode ser identificada febre, em cerca de metade dos casos; à auscultação podem ser detetadas crepitações e, ocasionalmente, síbilos pulmonares e outros ruídos pulmonares alterados, muitas vezes proeminente nas zonas crânio-ventrais nas infecções com origem nas vias aéreas (Nelson & Couto, 2014). A auscultação da traqueia e observação das vias aéreas superiores é também importante, uma vez que pode haver uma infecção concomitante (Dear, 2014).

### **3.4. Diagnóstico**

O diagnóstico definitivo das infecções bacterianas do trato respiratório inferior é assumido quando a cultura microbiológica de uma amostra de material das vias aéreas é positiva e há evidência da presença de bactérias intracelulares na respectiva citologia (Johnson, Queen, Vernau, Sykes & Byrne, 2013).

No entanto, o diagnóstico em cães e gatos, que apresentem sinais clínicos e alterações ao exame físico sugestivos deste tipo de infecções, deve iniciar-se com a realização de um hemograma e de raio-x torácico (Lappin *et al.*, 2017).

Uma vez que as infecções respiratórias estão frequentemente associadas a uma causa subjacente, é importante que essas causas sejam também identificadas, de forma a permitir a sua resolução e impedir a recorrência de infecções (Lappin *et al.*, 2017).

#### **3.4.1. Raio-X torácico**

O raio-X torácico deve ser feito durante a fase inspiratória, de forma a avaliar a existência de alterações pulmonares e cardíacas que possam estar associadas à tosse (Lappin *et al.*, 2017). Idealmente devem ser feitas três projeções diferentes (lateral esquerda, lateral direita e dorsoventral ou ventrodorsal), uma vez que a distribuição do ar é diferente devido à atelectasia pulmonar posicional, que pode mascarar ou destacar alterações pulmonares (Dear, 2014).

No caso dos cães, as radiografias devem incluir a zona cervical e a traqueia intratorácica tanto na fase inspiratória, como na expiratória, para que possam ser identificados possíveis colapsos das vias aéreas (Lappin *et al.*, 2017).

Alguns cães e gatos, com bronquite bacteriana, têm um espessamento dos brônquios que pode ser identificado nas imagens radiográficas, enquanto outros não apresentam alterações radiográficas, embora posteriormente sejam encontrados vestígios de inflamação nas citologias realizadas às lavagens das vias aéreas (Lappin *et al.*, 2017).

As evidências radiográficas das pneumonias bacterianas podem aparecer em forma de padrão alveolar focal, multifocal ou difuso, sendo que numa fase inicial da infecção os infiltrados podem ser principalmente intersticiais. Nas pneumonias por aspiração verifica-se que os lobos pulmonares cranioventrais são os mais afetados, podendo ainda ser identificado um sinal lobar (em que o lobo médio do pulmão direito é mais frequentemente afetado), enquanto que os padrões caudo-dorsais são mais característicos de pneumonias por inalação de corpos estranhos ou por disseminação por via hematogénica (Dear, 2014). Normalmente, o envolvimento radiográfico difuso está associado a um quadro de infecção mais grave. Contudo, é necessário ter em consideração que as alterações radiográficas surgem posteriormente à evolução clínica da doença. Assim, não deve ser descartada a pneumonia bacteriana em pacientes com um início agudo dos sinais clínicos e sem alterações radiográficas correspondentes (Schultz & Zwingenberger, 2008).

Na tabela 4 apresentam-se os principais diagnósticos diferenciais para os padrões radiográficos pulmonares específicos obtidos em radiografias torácicas (Dear, 2014).

**Tabela 4 – Principais diagnósticos diferenciais de padrões radiográficos pulmonares específicos (adaptado de Dear, 2014)**

Diagnósticos diferenciais para padrões radiográficos específicos	
Consolidação alveolar lobar	Consolidação alveolar focal
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pneumonia por aspiração (cranioventral, lobo médio direito);</li> <li>- Torção do lobo pulmonar (cranial);</li> <li>- Atelectasia secundária por <i>plugs</i> de muco (lobo médio direito).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Corpos estranhos nas vias respiratórias;</li> <li>- Neoplasia pulmonar primária;</li> <li>- Metástase de neoplasia;</li> <li>- Edema pulmonar não-cardiogénico.</li> </ul>
Padrão alveolar difuso	Padrão intersticial difuso ou focal
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Síndrome de dificuldade respiratória aguda;</li> <li>- Insuficiência cardíaca congestiva (peri-hilar em cães);</li> <li>- Sobrecarga de fluidos;</li> <li>- Broncopneumonia eosinofílica;</li> <li>- Coagulopatia;</li> <li>- Metástase de neoplasia.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pneumonia bacteriana em fase inicial;</li> <li>- Falha cardíaca congestiva eminente;</li> <li>- Infecção por <i>Pneumocystis carinii</i>;</li> <li>- Inalação de substâncias tóxicas;</li> <li>- Pneumonia viral.</li> </ul>

### 3.4.2. Hemograma

O hemograma completo é um meio auxiliar de diagnóstico útil em animais com sinais clínicos respiratórios. As infeções bacterianas estão tipicamente associadas a um leucograma inflamatório, caracterizado principalmente por uma neutrofilia, com ou sem desvio à esquerda, e evidência variável de alterações tóxicas nos neutrófilos (Schultz & Zwingenberger, 2008), isto é, de alterações no tamanho, na forma e consistência do núcleo e no conteúdo citoplasmático dos neutrófilos (Smith, 2000). Contudo, a ausência de alterações inflamatórias no hemograma não exclui a possibilidade de uma infeção (Radhakrishnan, Drobatz, Culp & King, 2007; Kogan, Johnson, Jandrey & Pollard, 2008).

### 3.4.3. Lavagem bronco-alveolar e citologia

Depois das radiografias e hemograma completo, caso tenham sido encontradas evidências de infeção bacteriana do trato respiratório inferior (bronquite, pneumonia ou broncopneumonia), é necessário fazer lavagens das vias aéreas para recolha de material para exame citológico, para cultura de *Mycoplasma* spp., cultura bacteriana aeróbia e TSA (Lappin *et al.*, 2017).

A lavagem bronco-alveolar (LBA) é a técnica mais aconselhada para a colheita de material das vias aéreas inferiores, uma vez que na lavagem traqueal a recolha é feita pela carina e traqueia, que nunca são estéreis. Assim, a sensibilidade da deteção de características citológicas de sépsis é superior quando a recolha é feita através de uma LBA, por oposição a quando é utilizada a lavagem traqueal (Dear, 2014).

Contudo, nem todos os animais com suspeita de infeções respiratórias das vias inferiores poderão estar em condições de realizar este exame, uma vez que este é realizado sob

anestesia geral, que não é aconselhado em pacientes instáveis clinicamente (Nelson & Couto, 2014).

A técnica da LBA pode ser realizada como parte do exame broncoscópico ou não. Embora a primeira tenha a vantagem de ser guiada visualmente, podendo o médico assistente selecionar as áreas e lobos pulmonares mais afetados para a recolha de material, a segunda é uma opção mais económica (Nelson & Couto, 2014).

No primeiro caso, depois de anestésiar e entubar o animal, dá-se início à broncoscopia com o cuidado de não contaminar a ponta do broncoscópio nas vias aéreas superiores. A broncoscopia deve iniciar-se pela realização de um exame visual completo de todas as vias aéreas, de forma a identificar os locais onde deve ser realizada a lavagem. De seguida, nos locais identificados, é inserida uma porção de solução salina morna e estéril através do canal de biópsia do endoscópio, e com a aplicação de uma sucção manual o líquido é recuperado do espaço broncoalveolar (Johnson, 2013).

Quando não há broncoscopia, a lavagem é realizada através de um tubo endotraqueal. Nestes casos, é colocado um adaptador de seringa na ponta exterior dos tubos utilizados, para inserir a solução salina morna e estéril, e de seguida recolher o líquido do espaço broncoalveolar (Nelson & Couto, 2014).

O volume de solução salina a utilizar na LBA não foi ainda definido em medicina veterinária. No entanto, tem sido recomendada a utilização de volumes de 10-30 ml dependendo do tamanho e massa corporal do animal, ou de volumes de 2-5 ml/kg em cães e gatos (Lee-Fowler, 2017).

Idealmente, a recolha de amostras de material para a realização do teste de cultura e suscetibilidade antimicrobiana deve ser recomendada e realizada antes do início do tratamento com antibióticos, desde que o animal esteja suficientemente estável. Contudo, o tratamento antimicrobiano não deve ser indevidamente atrasado, e segundo a Sociedade Internacional de Doenças Infecciosas em Animais de Companhia (International Society for Companion Animal Infectious Diseases [ISCAID]), o tratamento antimicrobiano deve ser iniciado o mais rápido possível e dentro de 1 a 2 horas, se houver sinais clínicos de sepsis (Dear, 2014; Lappin *et al.*, 2017).

Nas citologias de animais com infeções bacterianas respiratórias inferiores é comum ser detetada a presença de uma inflamação neutrofílica e de bactérias intracelulares (Lappin *et al.*, 2017). Os valores normais das contagens celulares são pouco exatos devido à inconsistência da técnica utilizada e à variabilidade individual de animais da mesma espécie. Assim, em média o número total de células nucleadas em animais saudáveis deve ser menor que 400-500/ $\mu$ l. Contudo, os valores de cada paciente só devem ser considerados anormais quando estiverem um ou dois desvios-padrão acima dos valores médios em animais saudáveis (Nelson & Couto, 2014). As amostras para citologia devem ser recolhidas de vários lobos, podendo evidenciar diferentes achados, sendo que a dependência de uma citologia de

LBA de um único segmento pode diminuir a probabilidade de obter um diagnóstico, em casos como as doenças inflamatórias sem envolvimento bacteriano (Ybarra, Johnson, Drazenovich, Johnson & Vernau, 2012).

#### **3.4.4. Cultura microbiológica**

Para a maioria dos casos deve ser efetuada a cultura bacteriana de aeróbios e de *Mycoplasma spp.* e, caso as secreções tenham um aspeto marcadamente purulento ou haja história conhecida, ou suspeita, de aspiração ou inalação de corpos estranhos, deve ainda incluir-se a cultura em anaerobiose. As amostras para cultura devem ser armazenadas em recipientes estéreis e refrigeradas até serem analisadas. (Dean, 2014). O valor de referência em unidades formadoras de colónias (UFC), para uma infeção respiratória é a identificação de mais de  $1.7 \times 10^3$  UFC/ml em amostras de material das vias aéreas (Peeters, McKiernan, Weisiger, Schaeffer & Clercx, 2000).

Ao interpretar resultados de culturas com poucos ou raros microrganismos, culturas mistas ou culturas com possíveis microrganismos contaminantes das vias aéreas, como estafilococos coagulase-negativos ou *Bacillus spp.*, é necessário ter em consideração a possibilidade de contaminação orofaríngea. Tal como, quando há utilização de um endoscópio para recolher a amostra da lavagem, deve também ser considerada a contaminação relacionada ao endoscópio, particularmente quando são isoladas espécies bacterianas pouco comuns, como *Serratia spp.* ou *Stenotrophomonas spp.* (Lappin *et al.*, 2017).

#### **3.4.5. Teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA)**

O resultado do TSA é considerado um fator decisivo para a seleção dos antibióticos para utilização clínica em medicina veterinária (De Briyne *et al.*, 2013). Assim, os objetivos da realização dos TSA são a escolha do antibiótico mais apropriado para o tratamento da infeção subjacente e, ao mesmo tempo, garantir o cumprimento as boas práticas veterinárias tendo em conta potenciais os perigos para a saúde pública (Mather *et al.*, 2016).

Os resultados dos TSA podem ser quantitativos ou qualitativos. Os resultados quantitativos são obtidos calculando as concentrações inibitórias mínimas (CIM) ( $\mu\text{g/ml}$  ou  $\text{mg/l}$ ), ou indiretamente, através da medição (em milímetros) dos diâmetros dos halos de inibição do crescimento bacteriano nos testes de difusão (Brissot *et al.*, 2016). Nos resultados qualitativos as estirpes são classificadas como suscetíveis (S), intermédias (I) ou resistentes (R) com base em limites críticos de acordo com os dados de farmacocinética e farmacodinâmica (Brissot *et al.*, 2016; Jessen *et al.*, 2019). Assim, são classificadas como suscetíveis as estirpes para as quais a probabilidade de sucesso no tratamento com a substância testada é elevada, enquanto nas estirpes classificadas como resistentes há uma elevada probabilidade de insucesso no tratamento com o antibiótico testado e, por último, as estirpes classificadas como intermédias são aquelas cujo efeito do tratamento com o antibiótico testado é imprevisível, ou

seja, tanto podem expressar maior resistência *in vivo* do que *in vitro* como, em determinadas condições (maiores concentrações antimicrobianas locais ou aumento das doses), o tratamento pode ser eficaz (Turnidge & Paterson, 2007).

Embora os TSA sejam uma excelente forma de prever o resultado clínico do tratamento antimicrobiano, não são infalíveis e atualmente sabe-se que o valor preditivo clínico dos testes de suscetibilidade *in vitro* é muitas vezes limitado (Doern & Brecher, 2011). Há vários fatores que explicam que os TSA e as CIM, determinados *in vitro* utilizando metodologias padronizadas, não tenham a capacidade de refletir todos os aspectos da complexidade das circunstâncias clínicas *in vivo* (Giguère *et al.*, 2013). Alguns destes fatores são: fatores que influenciam a farmacocinética dos antibióticos (características individuais, má difusão tecidual, interações medicamentosas...); infecções mistas; subdosagem do antibiótico; incumprimento das indicações clínicas ou falta de adesão à terapêutica pelos proprietários; a falta de limites críticos específicos para medicina veterinária; erros ou imprecisões nas metodologias por parte do laboratório de microbiologia; entre outros (Brissot *et al.*, 2016).

O Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais (Clinical Laboratory Standards Institute [CLSI]) e o EUCAST são os dois órgãos internacionalmente reconhecidos que se dedicam ao estabelecimento de metodologias padronizadas para a realização dos TSA e de critérios de interpretação harmonizados e baseados em evidências clínicas, para determinar dos respetivos limites clínicos (Toutain *et al.*, 2017; Cusack *et al.*, 2019). Cada uma destas instituições tem subcomités que se dedicam à área de medicina veterinária: Teste de Suscetibilidade aos Antimicrobianos Veterinário (Veterinary Antimicrobial Susceptibility Testing [VAST]) e o Comité Veterinário do Teste de Suscetibilidade aos Antimicrobianos (Veterinary Committee on AST [VetCAST]) (Toutain *et al.*, 2017).

O CLSI tem vindo a definir vários limites críticos para espécies bacterianas de interesse veterinário (Brissot *et al.*, 2016), no entanto, a maior dificuldade em medicina veterinária é o facto de não estarem ainda estabelecidos os limites críticos específicos em função da espécie do animal e do agente patogénico (Brissot *et al.*, 2016; Toutain *et al.*, 2017). Há inúmeras diferenças nos perfis de farmacocinética entre as várias espécies de animais, que afetam a exposição sistémica aos antimicrobianos e, portanto, a eficácia do tratamento. Assim, a ausência de limites críticos específicos pode resultar na utilização inapropriada de antibióticos ou doses, podendo potencialmente levar à ineficácia do tratamento e assim, contribuir para a seleção de resistências antimicrobianas (Toutain *et al.*, 2017).

#### **3.4.6. Hemocultura**

Em gatos e cães, que apresentam pneumonia bacteriana com risco de vida ou que se encontrem em hipoxemia, a recolha de amostras das vias aéreas pode não ser viável. Nesses casos, a realização de hemocultura, antes de iniciar a antibioterapia empírica, deve ser considerada como uma alternativa para obter isolados para realizar os TSA, e assim orientar

o tratamento antimicrobiano a longo prazo. No entanto, são ainda necessários mais dados e estudos, que esclareçam a utilidade das hemoculturas (aeróbias e anaeróbias) em animais com pneumonia grave (Lappin *et al.*, 2017).

### 3.5. Tratamento

#### 3.5.1. Antibioterapia

No caso da bronquite bacteriana, a administração empírica de antibióticos enquanto se espera pelos resultados dos testes de diagnóstico só é recomendada em casos de quadro clínico grave. Com base em estudos de atividade *in vitro* de isolados de *B. bronchiseptica* de cães e gatos (Speakman *et al.*, 2000; Johnson, 2013) e em relatos que descrevem uma boa resposta clínica em gatos com doença respiratória por *Mycoplasma* spp. (Bongrand, Blais & Alexander, 2012; Trow, Rozanski & Tidwell, 2008), a doxiciclina é o antibiótico mais recomendado nestes casos (Lappin *et al.*, 2017; Jessen *et al.*, 2019). Depois, consoante os resultados da cultura e TSA, o tratamento antimicrobiano deve ser continuado, iniciado ou alterado, tendo em conta a capacidade de distribuição da molécula para os brônquios (Lappin *et al.*, 2017).

A ISCAID publicou em 2017 (Lappin *et al.*, 2017) um conjunto de normas de orientação de terapêutica antimicrobiana em infeções respiratórias. Assim, relativamente à opção de atrasar o tratamento e instituir o antibiótico apenas mediante os resultados da cultura e dos TSA, é consensual que a antibioterapia empírica deve ser instituída enquanto se espera pelos resultados dos testes de diagnóstico, uma vez que a pneumonia é uma doença com o potencial de colocar em risco a vida dos animais e que nem todos os clientes tem a capacidade de suportar os custos destes testes. Assim, consoante os resultados dos TSA, deve considerar-se a necessidade de alterar o tratamento, tanto pela existência de resistências como pela suscetibilidade a antibióticos de uma classe inferior (Lappin *et al.*, 2017). Em animais hospitalizados, independentemente do quadro clínico da doença, é recomendada a administração de antibioterapia por via parentérica, preferencialmente a via endovenosa. No entanto, nos animais em ambulatório o tratamento pode ser continuado por via oral (Lappin *et al.*, 2017).

Em cães ou gatos, que apresentem um quadro de pneumonia leve (sem sinais como febre, desidratação, letargia ou dificuldades respiratórias) suspeita de infeção por *B. bronchiseptica* ou *Mycoplasma* spp., a doxiciclina é também o antibiótico recomendado empiricamente (Lappin *et al.*, 2017).

Nem todos os animais com pneumonias por aspiração têm infeções bacterianas associadas, contudo as bactérias aspiradas podem ser responsáveis por uma infeção secundária à inflamação associada à aspiração. Assim, em cães ou gatos com pneumonia por aspiração aguda, sem sinais de sépsis, não administrar antibióticos ou a administração parentérica de antibióticos beta-lactâmicos, como a ampicilina ou cefazolina, é muitas vezes suficiente.

Contudo, é consensual que o risco de não administrar antibioterapia empírica nestes casos é superior ao eventual benefício de retardar o tratamento antimicrobiano. A antibioterapia por via oral é também considerada uma opção nestes casos, exceto em pacientes com megaesófago ou outras afeções da motilidade esofágica, em que a administração parentérica é a mais indicada (Lappin *et al.*, 2017).

Em animais que apresentem sinais compatíveis com septicémia (ex: hiperémia das mucosas, hipoglicémia, etc...) é recomendada a administração empírica e precoce, de enrofloxacina ou marbofloxacina, juntamente com um antimicrobiano cujo espectro de atividade cubra bactérias gram-positivas e anaeróbias, como a ampicilina ou a clindamicina. No entanto, em infeções em que há envolvimento de *Bacteroides* spp. a clindamicina pode não ser eficaz, sendo o metronidazol uma alternativa a considerar (Lappin *et al.*, 2017).

A Associação Britânica de Médicos Veterinários de Pequenos Animais (British Small Animal Veterinary Association [BSAVA]) publicou em 2018 uma atualização das normas de orientação de antibioterapia para diferentes tipos de infeções em animais de companhia, nas quais os antibióticos aconselhados em casos de pneumonia bacteriana são: a amoxiciclina/ácido clavulânico, a doxiciclina nos casos de suspeita de infeção por *Bordetella* ou *Mycoplasma* ou a associação de uma fluoroquinolona com clindamicina nos casos em que o animal tenha história de ter realizado terapêutica antimicrobiana nas 4 semanas anteriores ou de ter estado hospitalizado nas 48 horas anteriores (suspeita de infeção hospitalar). (BSAVA, 2018). A BSAVA refere ainda que os antibióticos criticamente importantes de muito alta prioridade, como a fluorquinolonas e as cefalosporinas de 3ª geração, devem ser utilizados apenas em situações em que não há alternativas terapêuticas ou em que as alternativas tenham uma eficácia esperada baixa (Allerton, 2018).

As normas de utilização racional dos antibióticos em medicina veterinária, publicadas em 2016 (Brissot *et al.*, 2016), defendem que devem ser prescritos antibióticos empiricamente enquanto se aguardam os resultados da cultura e TSA. Os antibióticos de primeira linha recomendados são a doxiciclina e a amoxiciclina/ácido clavulânico, enquanto os antibióticos de segunda linha incluem a enrofloxacina e a marbofloxacina. Em pacientes instáveis, a via de administração preferencial deve ser a endovenosa e os antibióticos de primeira escolha recomendados são a amoxiciclina ou a ampicilina ou a clindamicina em associação com a marbofloxacina ou a enrofloxacina. Por outro lado, os antibióticos de segunda linha passam por trocar a marbofloxacina ou a enrofloxacina pela gentamicina. O tratamento dirigido, deve ser adaptado consoante a suscetibilidade do microrganismo isolado. Os antibióticos recomendados como primeira e segunda escolha são os anteriormente referidos, com a exceção do trimetoprim/sulfametoxazol que é também referido como opção nos antibióticos de segunda escolha no tratamento dirigido (Brissot *et al.*, 2016).

As recomendações, acerca da utilização apropriada da terapêutica antimicrobiana, da Federação das Associações Europeias Veterinárias de Animais de Companhia (Federation of

European Companion Animal Veterinary Associations [FECAVA]) referem a doxiciclina como antibiótico de primeira escolha para terapêutica empírica em casos de pneumonias, exceto nos casos em que os animais apresentem sinais de sépsis, em que é aconselhada a administração parentérica de um antibiótico do grupo das fluoroquinolonas. Nos animais hospitalizados é recomendada a utilização de amoxiciclina ou ampicilina em infusão contínua ou em intervalos de oito horas. Nos casos de sépsis deve ser associada a utilização de uma fluoroquinolona com uma penicilina G ou clindamicina (FECAVA, 2018).

As normas mais recentes de utilização de antibióticos em pequenos animais, publicadas pela Associação Dinamarquesa de Veterinários (Jessen *et al.*, 2019), são muito semelhantes às da ISCAID (Lappin *et al.*, 2017) relativamente à terapêutica antimicrobiana em infeções respiratórias. Assim, em animais estáveis a amoxiciclina/ácido clavulânico é recomendada como antibiótico de primeira escolha. Em casos de suspeita de infeção por *B. bronchiseptica* ou *Mycoplasma* spp. deve ser prescrita a doxiciclina. Em animais hospitalizados sem sinais de sépsis, a primeira abordagem recomendada é a ampicilina administrada por via endovenosa, ou caso não haja resposta, a combinação deste antibiótico com a enrofloxacina. A clindamicina é também considerada uma alternativa a esta terapêutica (Jessen *et al.*, 2019).

### **3.5.2. Fluidoterapia e nebulização**

Nos pacientes com infeções respiratórias é essencial manter a hidratação, uma vez que a desidratação leva ao aumento da viscosidade das secreções respiratórias e à diminuição do funcionamento do sistema ciliar, interferindo nos mecanismos de renovação de ar. Assim, em quadros clínicos mais graves e avançados, em que muitas vezes há sinais de desidratação, recorre-se à fluidoterapia endovenosa e à nebulização. Na nebulização são criadas gotículas de solução salina estéril, com diâmetros inferiores a 5µm, que têm a capacidade de atingir as vias aéreas inferiores e assim fluidificar as secreções, através da sua capacidade mucolítica, sem causar irritação nas mucosas (Dear, 2014; Nelson & Couto, 2014). É recomendado que as nebulizações sejam realizadas entre duas a seis vezes por dia, durante cerca de 10 a 30 minutos, e devem ser seguidas de fisioterapia respiratória para facilitar a saída da expectoração, à exceção de animais com regurgitação, uma vez que o aumento da pressão intratorácica pode despoletar a regurgitação (Nelson & Couto, 2014).

### **3.5.3. Oxigenoterapia**

Em animais que apresentem uma hipoxemia moderada a alta (PaO<sub>2</sub> menor que 80 mm Hg ou saturação de oxigénio, via oximetria de pulso, menor que 94%) associada ao aumento do esforço respiratório, deve recorrer-se à oxigenoterapia, que consiste na suplementação de 40% a 60% de oxigénio, até que o esforço respiratório diminua. Em alguns casos, e quando disponível, pode ser necessário recorrer à ventilação mecânica (Dear, 2014).

#### **3.5.4. Mucolíticos**

A administração da N-acetilcisteína, um fármaco mucolítico, pode ter utilidade quando realizada por via oral em animais com bronquiectasias moderadas a graves, com tendência para o aparecimento de pneumonias recorrentes (Dear, 2014) ou por via endovenosa, em cães com broncopneumonias graves (Nelson & Couto, 2014). A N-acetilcisteína tem efeitos irritantes na mucosa das vias aéreas, pelo que não deve ser administrada por nebulização (Dear, 2014; Nelson & Couto, 2014).

#### **3.5.5. Broncodilatadores**

A inflamação, associada às infeções, pode levar secundariamente ao broncospasmo, principalmente em gatos. Assim, a utilização de broncodilatadores é justificada em animais que apresentem um aumento do esforço respiratório, sobretudo quando são detetados sibilos à auscultação. Os broncodilatadores mais utilizados são a teofilina e a terbutalina. No entanto, estes animais devem ser monitorizados cuidadosamente, uma vez que os broncodilatadores podem interferir no equilíbrio ventilação / perfusão, agravando a hipoxemia. Por este motivo, a sua administração deve ser imediatamente interrompida se os sinais clínicos não melhorarem ou se piorarem (Nelson & Couto, 2014).

#### **3.5.6. Fármacos contraindicados**

A administração de antitússicos, como o butorfanol, deverá ser equacionada com as devidas precauções, uma vez que estes fármacos diminuem o reflexo da tosse, prolongam a retenção e acumulação de muco, detritos e outros materiais nas vias aéreas, dificultando a eliminação da infeção.

Os diuréticos, como a furosemida, devem também ser evitados, porque contribuem para a desidratação das secreções e conseqüente aumento da viscosidade, levando à sua retenção nas vias aéreas inferiores.

Os glucocorticoides são utilizados, em medicina humana, em alguns pacientes com pneumonias bacterianas para diminuir as respostas inflamatórias à infeção bacteriana e assim evitar o aumento das lesões pulmonares (Meijvis *et al.*, 2011; Confalonieri *et al.*, 2013). Contudo, em medicina veterinária, a administração de glucocorticoides por via sistémica ou inalatória não é recomendada, devido à falta de estudos e informação disponível acerca dos seus efeitos em animais com pneumonias bacterianas, havendo o risco de imunossupressão (Lappin *et al.*, 2017).

### **3.6. Duração e monitorização do tratamento**

A recomendação mais frequente relativamente à duração do tratamento antimicrobiano em pneumonias ou broncopneumonias, é de quatro a seis semanas, contudo não é apoiada por dados ou evidências científicas em cães e gatos. A duração ideal do tratamento de infeções

respiratórias das vias inferiores não é ainda conhecida, pelo que, embora em alguns casos seja necessário que a duração do tratamento seja prolongada, um período mais curto de tratamento pode ser igualmente eficaz (Brissot *et al.*, 2016; Lappin *et al.*, 2017). Assim, é recomendado que seja feita uma reavaliação dos animais 10 a 14 dias após o início do tratamento, e nessa altura a decisão de prolongar o tratamento deve ser baseada numa avaliação clínica, hematológica e radiográfica (Lappin *et al.*, 2017).

Os casos de bronquite, associados a infeções por *B. bronchiseptica* ou *Mycoplasma spp.*, podem ficar clinicamente resolvidos com uma semana de tratamento, contudo, em alguns casos, pode ser necessário um tratamento mais prolongado. Caso haja uma resposta positiva durante os primeiros 7 a 10 dias de antibioterapia, em animais com bronquites bacterianas, o tratamento deve ser continuado até uma semana após o fim dos sinais clínicos (Lappin *et al.*, 2017).

### **3.7. Insucesso do Tratamento**

O insucesso do tratamento pode estar associado a diversos fatores como a ineficácia da antibioterapia, a existência de agentes patogénicos virais ou fúngicos concomitantes, a consolidação pulmonar, a formação de abscessos pulmonares, o diagnóstico incorreto, a existência de defeitos funcionais ou anatómicos das defesas pulmonares e o desenvolvimento de septicémia (Brady, 2004)

Quando há uma causa associada ao aparecimento da infeção, como a aspiração recorrente ou a presença de um corpo estranho nos brônquios, é extremamente importante que o tratamento instituído inclua não só a infeção, como também a causa, de modo a evitar recidivas ou novas infeções (Brissot *et al.*, 2016).

As infeções por *Mycoplasma spp.* nem sempre são simples de tratar, não só devido a estes microrganismos só serem suscetíveis a antibióticos muito específicos, sendo resistentes aos  $\beta$ -lactâmicos, e também porque requerem meios de cultura específicos, pelo que podem não ser detetados através das técnicas de cultura microbiana convencionais, o que resulta num diagnóstico incorreto (Brissot *et al.*, 2016).

Nem todos os antibióticos tem a mesma capacidade de penetrar na árvore brônquica, podendo não atingir as concentrações locais necessárias para eliminar a infeção, o que pode justificar o insucesso de alguns tratamentos. Os antibióticos como as fluoroquinolonas, o sulfametoxazol/trimetoprim e a doxiciclina atingem concentrações mais elevadas nos brônquios do que a maioria dos  $\beta$ -lactâmicos (Dear, 2014).

Em alguns animais, sobretudo em gatos, os principais sinais clínicos de pneumonia, como a febre, a evidência de alterações radiográficas e a existência de alterações do leucograma com a neutrofilia com desvio a esquerda, podem estar ausentes ou pouco evidentes, e consequentemente induzir ao falso diagnóstico de doença inflamatória bronquial (Foster, Martin, Allan, Barrs & Malik, 2004; Macdonald, Norris, Berghaus & Griffey, 2003). Assim, gatos

com sinais respiratórios, que não respondam a terapia anti-inflamatória, devem ser alvo dos exames complementares de diagnóstico necessários para o diagnóstico de possíveis infeções (Brissot *et al.*, 2016).

Embora pouco frequentes, os abscessos pulmonares são complicações possíveis das pneumonias bacterianas. Podem ser identificados através de radiografias, como lesões focais, podendo mesmo afetar lobos pulmonares inteiros levando à sua consolidação. Estas áreas de consolidação pulmonar podem ser caracterizadas ecograficamente e, quando o tratamento médico prolongado não é suficiente, pode ser necessário recorrer à lobectomia da zona afetada (Nelson & Couto, 2014).

As pneumonias ou broncopneumonias graves podem levar à instalação da Síndrome de Dificuldade Respiratória Aguda (SDRA) ou ao choque séptico em cães e gatos. A progressão destas doenças para a SDRA está associada ao aumento das taxas de mortalidade (Brady, 2004). A SRDA evolui da Lesão Pulmonar Aguda (LPA), caracterizada como uma síndrome de inflamação e edema pulmonar. O que distingue a LPA e a SDRA é o grau de hipoxemia, definido pela relação entre pressão arterial de oxigénio e concentração inspirada de oxigénio ( $PaO_2:FiO_2$ ). Os sinais clínicos destas síndromes aparecem 1 a 4 dias após o início da resposta inflamatória pulmonar, e incluem a hipoxemia progressiva, taquipneia, dificuldades respiratórias e cianose. Assim, o quadro de início agudo de sinais respiratórios, com identificação de infiltrações pulmonares bilaterais, uma hipoxemia de  $PaO_2:FiO_2 < 300$  mmHg (LPA) ou  $< 200$  mmHg (SDRA), sem haver sinais de hipertensão atrial esquerda levam ao diagnóstico da LPA ou SDRA respetivamente (DeClue & Cohn, 2007).

O choque séptico pode ser evitado através do reconhecimento precoce de septicémias, facilitando uma intervenção agressiva precoce. Sinais como pirexia persistente, taquicardia, hipotensão ou agravamento da dispneia são sugestivos de um quadro de septicémia (Brady, 2004).

### **III. Resistência antimicrobiana na infecção do trato respiratório inferior no cão e no gato – Estudo retrospectivo**

#### **1. Objetivos**

O presente estudo foi realizado com o intuito de contribuir para a caracterização da infecção bacteriana do trato respiratório inferior no cão e no gato e das resistências antimicrobianas associadas utilizando para os efeitos os dados relativos a este assunto num hospital veterinário em Oeiras. Assim, os objetivos deste trabalho foram:

- Caracterizar a influência da presença fatores predisponentes associados ao aparecimento de infecções bacterianas do trato respiratório inferior;
- Comparar os resultados das citologias com os resultados das culturas microbiológicas.
- Caracterizar e comparar os padrões de suscetibilidade dos géneros bacterianos isolados;
- Analisar a terapêutica antimicrobiana prescrita empiricamente e após cultura e TSA, incluindo, neste último caso, a duração da terapêutica e as dosagens prescritas;
- Identificar fatores que possam contribuir para a ineficácia do tratamento após cultura e TSA.

#### **2. Materiais e métodos**

##### **2.1. Amostra populacional e critérios de inclusão**

Para a realização deste estudo, foram incluídos na amostra todos os cães e gatos, com suspeita de infecção bacteriana respiratória inferior, que tenham sido submetidos à realização de uma LBA e posterior citologia e cultura microbiológica do material recolhido, durante o período de 1 de janeiro de 2016 a 1 de janeiro de 2019, no VetOeiras - Hospital Veterinário. Os dados foram recolhidos com recurso aos registos clínicos da base de dados do hospital no *software OranGest*.

Para cada animal foram consideradas as seguintes variáveis: espécie, raça, sexo, idade, resultado da cultura, resultado da citologia, presença afeções concomitantes.

Nos animais com cultura positiva, foram ainda recolhidos os dados seguintes: agente etiológico isolado, número de estirpes isoladas, antibioterapia prescrita empiricamente, antibioterapia prescrita após cultura e TSA e respetiva dosagem, frequência de administração e duração, reavaliação antes do fim do tratamento e eficácia do tratamento. Nos casos de ineficácia do tratamento prescrito após cultura e TSA foi ainda considerado o período entre o fim desse tratamento e o início do tratamento prescrito após a ineficácia do anterior. Uma vez que, em algumas culturas, foram isolados dois agentes etiológicos, foi utilizada uma segunda amostra, para analisar individualmente todas as estirpes bacterianas isoladas nas culturas

positivas. Neste caso, foram consideradas as seguintes variáveis: espécie do hospedeiro, agentes etiológicos isolados e os respectivos padrões de suscetibilidade aos antibióticos.

## **2.2. Citologias, culturas microbiológicas e TSA**

As amostras para a citologia, cultura microbiológicas e TSA foram recolhidas por lavagem bronco-alveolar, que apesar de não ser considerado um procedimento asséptico, minimiza a possibilidade de contaminação.

Todas as citologias, culturas microbiológicas e TSA foram realizados no mesmo laboratório - *Genevet*. Os resultados dos TSA foram comunicados qualitativamente, ou seja, as estirpes dos microrganismos foram classificadas como sensíveis (S), intermédias (I) ou resistentes (R) aos antibióticos testados. Os resultados da citologia foram padronizados através da classificação em cinco categorias: inflamação séptica supurativa, inflamação supurativa associada a presença de bactérias extracelulares, presença de bactérias extracelulares, inflamação (supurativa e mista) e sem alterações.

Neste caso a unidade experimental foi a cultura, podendo haver várias culturas do mesmo animal, nos casos em que foram identificadas duas estirpes na mesma cultura.

## **2.3. Suscetibilidade bacteriana**

A seleção dos antibióticos para os quais foi avaliada a suscetibilidade bacteriana foi realizada pelo laboratório responsável pelos TSA (*GeneVet*). Assim, dependendo do agente patogénico isolado, foi avaliada a suscetibilidade bacteriana a antibióticos das seguintes categorias: Penicilinas (penicilina, amoxiciclina, piperacilina e oxacilina); Penicilinas e inibidores das  $\beta$ -lactâmases (amoxiciclina/ácido clavulânico); Cefalosporinas (1ª geração: cefalotina; 2ª geração: cefoxitina; 3ª geração: cefotaxima e ceftazidima); Aminoglicosídeos (amicacina e gentamicina); Macrólidos (eritromicina); Fenóis (cloranfenicol); Trimetoprim/sulfametoxazol; Fluoroquinolonas (enrofloxacina, ciprofloxacina, marbofloxacina, moxifloxacina e pradofloxacina); Lincosamidas (clindamicina) e Tetraciclina (tetraciclina, doxiciclina e minociclina).

A classificação de estirpes multirresistentes foi baseada na definição proposta Magiorakos et al. (2012). No entanto, para esta classificação, não foram contabilizadas apenas as resistências adquiridas, uma vez que as bactérias foram agrupadas em géneros, o que não permitiu distinguir as resistências intrínsecas das adquiridas. Assim, as estirpes resistentes a pelo menos uma substância ativa em três ou mais categorias de antibióticos (penicilinas, penicilinas e inibidores das  $\beta$ -lactamases, cefalosporinas, aminoglicosídeos, macrólidos, fenóis, trimetoprim/sulfametoxazol, fluoroquinolonas, lincosamidas e tetraciclina) foram classificadas como estirpes multirresistentes.

#### **2.4. Antibioterapia prescrita e eficácia do tratamento**

A proporção de animais submetidos a antibioterapia empírica incluiu todos os animais da amostra inicial a quem foram prescritos antibióticos antes dos resultados da cultura microbiológica e TSA. A antibioterapia dirigida foi prescrita a todos os animais com cultura positiva, com base nos resultados do TSA.

Relativamente à antibioterapia, foi avaliada a frequência de utilização dos antibióticos prescritos nas terapêuticas empírica e dirigida, tendo sido ainda realizada a comparação das doses prescritas na terapêutica dirigida com as doses recomendadas na bibliografia.

Quanto à avaliação da eficácia do tratamento antimicrobiano dirigido, foi realizada através dos registos clínicos dos animais. Desta forma, o tratamento foi considerado eficaz nos casos em que não havia mais registos clínicos relativamente ao seguimento da infeção, pelo que se deduziu que a infeção ficou resolvida, e nos casos em que havia registo da consulta de reavaliação recomendada, onde a resolução da infeção ficou comprovada. Por outro lado, no tratamento ineficaz, foram incluídos os animais que voltaram passados 3 a 4 dias do início do antibiótico, sem melhorias clínicas, tendo sido necessário alterar a terapêutica antimicrobiana, e os animais que terminaram o tratamento prescrito, e que voltaram uma semana a um mês depois, com sinais clínicos de infeção respiratória do trato respiratório inferior.

#### **2.5. Análise estatística**

A análise estatística dos dados engloba, para todos os parâmetros qualitativos, o número total e a frequência relativa. As medidas de estatística descritiva para os parâmetros contínuos (idades, duração da antibioterapia dirigida, doses administradas) foram obtidas através do programa *Microsoft Office Excel 2016*. Para avaliar a associação entre variáveis qualitativas foi utilizado o teste do qui-quadrado e o teste exato de Fisher, com base em tabelas de contingência, sendo o último utilizado sempre que algum dos valores esperados fosse inferior a cinco. Foi ainda utilizado o modelo da regressão logística para descrever a relação entre uma variável de resposta binária e um conjunto de variáveis qualitativas preditivas. Para todos estes testes foi utilizado o programa *R statistical software for Windows*, versão 3.6.0 (R Core Team, 2019) tendo sido apenas considerados estatisticamente significativos valores de  $p < 0,05$ .

### **3. Resultados e Discussão**

#### **3.1. Caracterização da amostra quanto à raça, idade e sexo**

A amostra populacional deste estudo era constituída por 49 animais com suspeita de infeção bacteriana respiratória inferior, dos quais 20 são gatos e 29 são cães. Na tabela 5 é possível observar a distribuição dos indivíduos segundo a raça, a idade e o sexo.

**Tabela 5 – Caracterização da amostra quanto à raça, idade e sexo**

		Espécie		Total (n=49)
		Felino (n=20)	Canino (n=29)	
Raça	Indeterminada	19 (95%)	7 (24,1%)	26 (53,1%)
	Definida	1 (5%)	22 (75,9%)	23 (46,9%)
Idade	<1 A	7 (35%)	7 (24,1%)	14 (28,6%)
	1 - 10A	8 (40%)	16 (55,2%)	24 (49%)
	>10A	5 (25%)	6 (20,7%)	11 (22,4%)
Sexo	Macho	11 (55%)	10 (34,5%)	21 (42,9%)
	Fêmea	9 (45%)	19 (65,5%)	28 (57,1%)

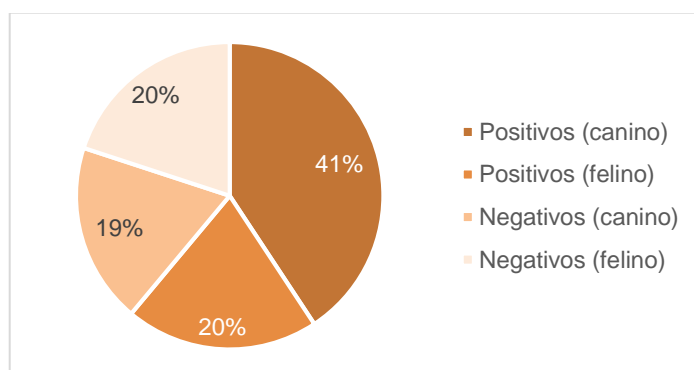
Relativamente à raça, um gato (1/20) era da raça British Shorthair, e os restantes 19 não tinham raça definida. Por outro lado, havia 7/29 cães de raça indeterminada, e 22/29 cães com a seguinte distribuição de raças: Boxer (3), Bulldog Francês (3), Staffordshire Bull Terrier (2), Teckel (2), Dogue Alemão (2), Beagle (1), Cão de Água Português (1), Caniche (1), Cocker (1), Golden Retriever (1), Labrador Retriever (1), Pinscher (1), Pug (1), Yorkshire (1) , West Highland White Terrier (1).

A idade média da amostra foi de 6,6 anos, sendo que idade mínima registada foi 3 meses, enquanto a máxima foi 17 anos. Dentro de cada grupo, registaram-se as seguintes idades médias: 6,6 meses (idades inferiores a 1 ano), 6,5 anos (idades compreendidas entre 1 e 10 anos) e 14,4 anos (idades superiores a 10 anos).

### 3.2. Caracterização da infeção

A suspeita de infeção bacteriana do trato respiratório inferior foi confirmada em cerca de 61% (30/49) dos animais, sendo que 41% eram cães e 20% eram gatos. Assim, o resultado das culturas dos restantes animais foi negativo, representando cerca de 39% (19/49) da amostra inicial, em que 20% eram gatos e 19% eram cães. No gráfico 5 está evidenciada a frequência relativa dos resultados das culturas microbiológicas.

**Gráfico 5 – Frequência relativa dos resultados das culturas**



Posto isto, a necessidade das culturas microbiológicas para o diagnóstico definitivo de infeção bacteriana do trato respiratório inferior é bastante evidente, uma vez que não houve crescimento bacteriano numa proporção considerável de culturas, embora todos os animais apresentassem sinais compatíveis com a infeção. A realização de culturas microbiológicas contribui assim para diminuir a utilização desnecessária de fármacos antimicrobianos, uma vez que não haveria indicação para antibioterapia nos animais cujas culturas foram negativas. A percentagem de culturas negativas neste estudo é ligeiramente mais elevada à obtida no estudo de Rheinwald *et al.* (2014) (35,1%), sendo que nesse caso a amostra era constituída apenas por cães com sinais de doença respiratória. Por outro lado, num estudo anterior realizado em 2010 (Epstein *et al.*, 2010), que inclui amostras de cães e gatos, a percentagem de culturas negativas, no grupo de animais com doença respiratória, foi ligeiramente superior, atingindo os 46%.

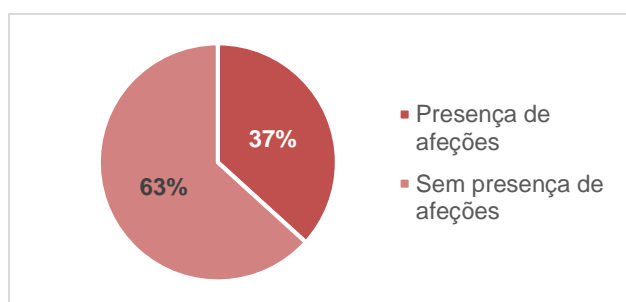
Estas diferenças podem dever-se, por exemplo, a existir um maior número de animais submetidos a antibioterapia empírica quando foi recolhida a amostra das vias aéreas, o que leva inevitavelmente a um aumento na proporção de culturas negativas.

O estudo em que se verificou menor percentagem de culturas negativas (35,1%) e, conseqüentemente, maior percentagem de culturas positivas (64,9%) (Rheinwald *et al.*, 2014) inclui apenas amostras recolhidas em cães. Este é um resultado expectável, uma vez que as infeções bacterianas do trato respiratório inferior são diagnosticadas com maior frequência em cães do que em gatos.

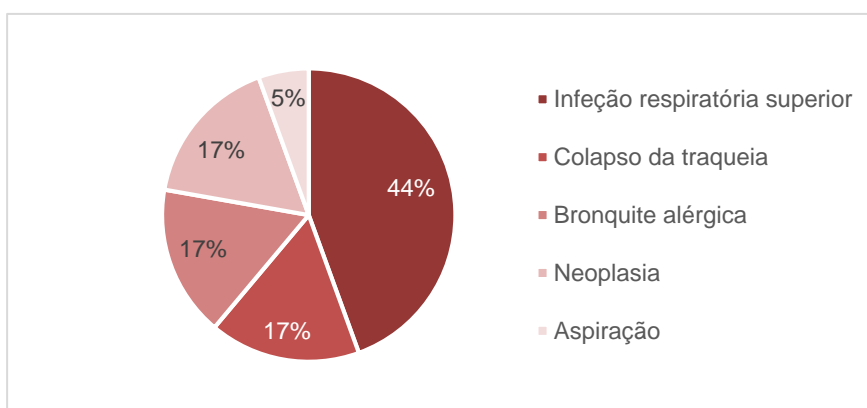
### 3.2.1. Fatores predisponentes

De acordo com os registos clínicos, em cerca de 37% dos animais com suspeita de infeção bacteriana do trato respiratório inferior, foram identificadas afeções como possíveis fatores predisponentes da infeção. As afeções identificadas incluem história de infeção respiratória superior (8/18), colapso da traqueia (3/18), bronquite alérgica (3/18), neoplasia (3/18) e aspiração de conteúdo gástrico (1/18). No gráfico 6 observa-se a frequência relativa dos casos em que, no total da amostra, foram identificadas afeções como possíveis fatores predisponentes para o aparecimento da infeção (afeções concomitantes), enquanto no gráfico 7 estão discriminados os vários tipos de afeções identificadas e as respetivas frequências.

**Gráfico 6 – Frequência relativa dos casos em que foram identificadas afeções concomitantes**



**Gráfico 7 – Tipos e frequências de identificação das afeções concomitantes**



Com o intuito de avaliar a influência da presença fatores predisponentes associados ao aparecimento de infecções bacterianas do trato respiratório inferior na presente amostra, foi avaliada estatisticamente a associação entre o resultado da cultura microbiológica e os possíveis fatores predisponentes identificados na amostra: idade, espécie e presença de afeções concomitantes.

**Tabela 6 – Distribuição da idade, espécie e presença de afeções concomitantes pelas culturas microbiológicas com resultado negativo e positivo**

		<b>Cultura Negativa</b> (n=19)	<b>Cultura Positiva</b> (n=30)	<b>p</b>
		Número (%)	Número (%)	
<b>Idade</b> (intervalos)	<1 A	4 (28,6%)	10 (71,4%)	0,56
	1 - 10A	4 (36,4%)	7 (63,6%)	
	>10A	11 (45,8%)	13 (54,2%)	
<b>Espécie</b>	Canino	9 (31%)	20 (69%)	0,18
	Felino	10 (50%)	10 (50%)	
<b>Afeções Concomitantes</b>	Presentes	4 (22,2%)	14 (77,8%)	0,069
	Ausentes	15 (48,4%)	16 (51,6%)	

Como se pode ver na tabela 6, não foram encontradas associações estatisticamente significativas ( $p > 0,05$ ), através do Teste do qui-quadrado, entre a probabilidade de o resultado da cultura microbiológica ser positiva ou negativa e a idade, a espécie e a presença de afeções concomitantes dos animais com suspeita de infecção do trato respiratório inferior. No entanto, é evidente que os resultados do teste para a presença das afeções concomitantes resultaram num valor de p relativamente baixo ( $p = 0,069$ ), o que significa que indicia a existência de influência desta variável no resultado da cultura, não podendo ser considerada estatisticamente significativa.

Foi ainda aplicado o modelo de uma regressão logística, com o resultado da cultura como variável dependente e a idade, presença de afeções concomitantes e espécie como variáveis preditivas. Os resultados obtidos da regressão logística estão nas tabelas 7 e 8.

**Tabela 7 - Coeficientes e desvio padrão da regressão logística**

	Coeficiente	Desvio padrão	Valor Z	P(> z )
(constante)	-0,6511	0,8852	-0,736	0,4620
<b>Idade (&gt;10A)</b>	-0,2324	0,9484	-0,245	0,8064
<b>Idade (1 - 10A)</b>	-0,6143	0,7799	-0,788	0,4308
<b>Afeções Concomitantes</b>	1,7124	0,8229	2,081	0,0374*
<b>Espécie (canino)</b>	1,5528	0,7618	2,038	0,0415*

\*Resultado estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ )

Neste caso, foram obtidos resultados estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ) relativamente ao valor preditivo que a presença de afeções concomitantes e espécie do animal têm relativamente ao resultado da cultura microbiológica. Este resultado é compatível com a análise isolada efetuada com base no qui-quadrado, em que os valores de  $p$  são claramente mais baixos para a espécie e a presença de afeções concomitantes, do que para a idade.

**Tabela 8 – Proporção e intervalos de confiança da regressão logística**

	Rácio	2,5%	97,5%
(constante)	0,5214875	0,08147295	2,919393
<b>Idade (&gt;10A)</b>	0,7926443	0,12027380	5,393839
<b>Idade (1 - 10A)</b>	0,5409989	0,10780818	2,429392
<b>Afeções Concomitantes</b>	5,5420908*	1,24847756	33,845355
<b>Espécie (canino)</b>	4,7247652*	1,16815506	25,057454

\*Resultado estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ )

Assim, segundo os resultados obtidos, a probabilidade de os animais que tenham afeções concomitantes terem um resultado positivo, ou seja, de terem uma infeção respiratória inferior, é 5,5 vezes superiores à dos animais sem afeções concomitantes. Por outro lado, a probabilidade de um cão ter uma infeção respiratória inferior é 4,7 vezes superior à probabilidade de um gato.

A maioria das pneumonias bacterianas são secundárias a outros processos inflamatórios como infeções virais aspiração de conteúdo oral, faríngeo ou gástrico, durante a recuperação anestésica ou devido inalação de corpos estranhos (Tart, Babski & Lee, 2010; Dear, 2014; Viitanen, Lappalainen & Rajamaki, 2015). Outros fatores predisponentes para a ocorrência de pneumonias bacterianas secundárias são as doenças das vias aéreas ou pulmões, como

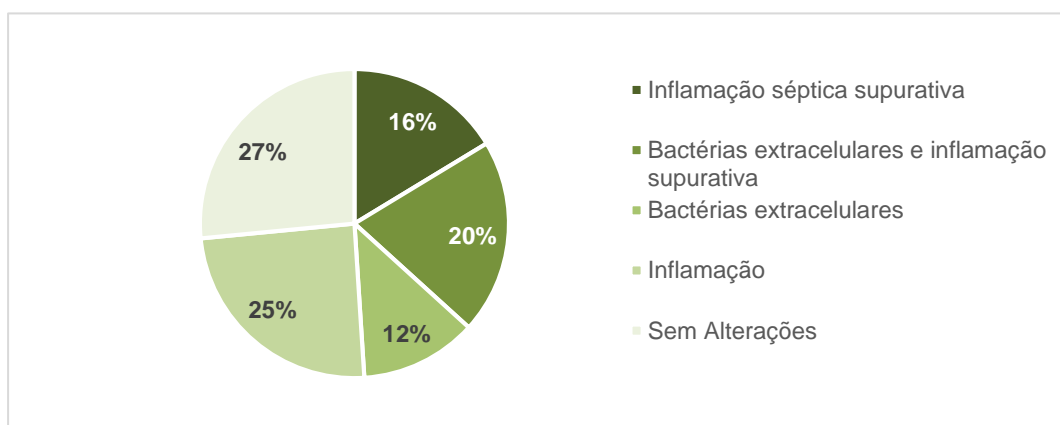
neoplasias, discinesia ciliar, bronquiectasia ou colapso das vias aéreas (Lappin *et al.*, 2017). Isto explica o facto de os animais em que sejam identificadas afeições concomitantes como história de infeção respiratória superior, colapso da traqueia, bronquite alérgica, neoplasia e aspiração de conteúdo gástrico, tenham maior probabilidade de ter uma infeção bacteriana do trato respiratório inferior, quando comparados com os restantes animais.

Por outro lado, sendo a pneumonia bacteriana um dos diagnósticos clínicos mais comuns em cães com doenças respiratórias agudas ou crónicas, ao contrário dos gatos (Dear, 2014), é expectável que a probabilidade de um cão com sinais clínicos de doença respiratória ter uma infeção bacteriana das vias aéreas inferiores seja superior à de um gato, nas mesmas condições, ter este tipo de infeção.

### 3.3. Resultado da citologia

Relativamente às citologias, nas 8 amostras (16%) em que foram identificadas bactérias intracelulares, ou seja, bactérias fagocitadas, foi também descrita a presença de inflamação – inflamação séptica supurativa. Foram detetadas bactérias extracelulares em 16 (32%) citologias, das quais 10 tinham também vestígios de inflamação supurativa. Por último, não foi identificada a presença de bactérias em 25 citologias, no entanto, 13 apresentavam vestígios de inflamação supurativa ou mista. A distribuição das alterações identificadas nas citologias está representada no Gráfico 8.

Gráfico 8 – Distribuição das alterações identificadas nas citologias



Em todas as citologias das amostras com cultura microbiológica positiva, foi registada a presença de vestígios de inflamação. Em 26,7% foi detetada a presença de inflamação séptica supurativa, em 53,3% foi identificada inflamação supurativa associada à presença de bactérias extracelulares, enquanto em 20% foi apenas detetada a presença de inflamação: supurativa em 13,3% e mista em 6,7%.

Por outro lado, 32% das citologias das amostras com cultura negativa tinham vestígios de inflamação, enquanto nas restantes 68% não foram registadas quaisquer alterações.

**Tabela 9 – Distribuição das alterações identificadas nas citologias pelas culturas microbiológicas com resultado negativo e positivo**

		<b>Cultura negativa</b> (n=19)	<b>Cultura positiva</b> (n=30)	p
		Número (%)	Número (%)	
<b>Citologia</b>	Inflamação séptica supurativa	0 (0%)	8 (100%)	1.531 x 10 <sup>-9*</sup>
	Bactérias extracelulares e inflamação supurativa	0 (0%)	10 (100%)	
	Bactérias extracelulares	0 (0%)	6 (100%)	
	Inflamação	6 (50%)	6 (50%)	
	Sem alterações	13 (100%)	0 (0%)	

\*Resultado estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ )

Neste estudo foi encontrada uma associação estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ), através do Teste Exato de Fisher, entre as alterações detetadas nas citologias e os resultados das culturas microbiológicas, como se pode ver na tabela 9. Assim, os resultados deste estudo indicam que a probabilidade do resultado da cultura microbiológica de uma amostra, em que a citologia apresente sinais de inflamação séptica supurativa, de presença de bactérias extracelulares associada a inflamação supurativa ou de presença de bactérias extracelulares, ser positiva é de 100% ( $p < 0,05$ ).

Está descrito que, nas citologias de animais com infeções bacterianas respiratórias inferiores, ou seja, em que as culturas são positivas, é comum serem detetados vestígios de inflamação neutrofílica e de bactérias intracelulares – inflamação séptica supurativa (Lappin *et al.*, 2017). De facto, como já foi referido, neste estudo verificou-se a presença de inflamação supurativa em 93,3% das citologias correspondentes a culturas positivas. Contudo, em apenas 26,7% foram detetadas bactérias intracelulares, ou seja, em 73,3% não havia evidência de bactérias intracelulares.

Os resultados obtidos num estudo semelhante realizado em 2013 (Johnson *et al.*, 2013) foram bastante diferentes, sendo que a percentagem de animais sem evidência de bactérias intracelulares nesses estudos foi de apenas 21%.

Por outro lado, os resultados obtidos no grupo de animais com doença respiratória de outro estudo (Epstein *et al.*, 2010) são mais concordantes com os agora obtidos, uma vez que 69,3% dos animais tinham presença de inflamação supurativa na citologia, não sendo mencionada a presença de bactérias intracelulares.

Há uma grande variedade de parâmetros que podem influenciar os resultados das citologias de amostras obtidas através de LBA, incluindo diferenças no próprio procedimento da LBA, o período entre a colheita do material e o processamento da amostra, e as técnicas de

processamento e de análise da amostra utilizadas (Dehard *et al.*, 2008). Assim, fatores como as características do muco brônquico, a ruptura celular, a presença de densos aglomerados celulares e a qualidade de coloração podem ter limitado a capacidade de detetar bactérias intracelulares nas amostras citológicas, e assim explicar que do total das citologias das amostras com culturas microbiológicas positivas, em apenas 26,7% tenham sido identificadas bactérias intracelulares, tal como a ausência de bactérias (intra ou extracelulares) em 20%. Outra forte possibilidade, que explica igualmente estes resultados, é que os animais a quem foram recolhidas as amostras, já tivessem feito ou estivessem a fazer terapêutica antimicrobiana prévia.

### 3.4. Etiologia bacteriana

Das 30 culturas microbiológicas positivas, 7 eram culturas mistas (23%), nas quais foram isoladas 2 bactérias distintas. Desta forma, no total foram identificadas 37 estirpes bacterianas, pertencentes a 10 espécies diferentes. Não foram isoladas estirpes anaeróbias estritas. Cerca de 59,5% (22/37) do total das bactérias isoladas são gram-negativas, enquanto as restantes 40,5% (15/37) eram gram-positivas. Na Tabela 10 estão identificadas as diferentes espécies isoladas e as respetivas frequências de ocorrência.

Tabela 10 – Frequências relativas de isolamento e identificação bacteriana

	Bactérias identificadas Número (%)
<i>Staphylococcus</i> spp.	13 (35,1%)
<i>Pasteurella</i> spp.	6 (16,2%)
<i>Pseudomonas</i> spp.	5 (13,5%)
<i>Escherichia coli</i>	4 (10,8%)
<i>Acinetobacter</i> spp.	3 (8,1%)
<i>Streptococcus</i> spp.	2 (5,4%)
<i>Bordetella</i> spp.	1 (2,7%)
<i>Citrobacter</i> spp.	1 (2,7%)
<i>Enterobacter</i> spp.	1 (2,7%)
<i>Klebsiella</i> spp.	1 (2,7%)
<b>Total</b>	<b>37 (100%)</b>

Em estudos semelhantes, com uma amostra populacional constituída apenas por cães com presença de inflamação séptica confirmada pela presença de bactérias intracelulares na citologia, do total das culturas positivas registaram-se proporções de culturas mistas consideravelmente mais elevadas, 57% (Jonhson *et al.*, 2013) em comparação às 23% culturas mistas registadas no presente estudo. Isto pode ser explicado, não só devido às diferenças das amostras populacionais utilizadas, uma vez que a deste estudo é constituída

por cães e gatos com suspeita clínica de infecção respiratória inferior, mas sobretudo porque nos estudos acima referidos foram utilizados métodos de cultura específicos para isolar *Mycoplasma* spp. em quase todas as amostras, tendo inclusivamente sido este o agente patogénico mais isolado no total de culturas mistas registadas nos resultados de Jonhson (Jonhson *et al.*, 2013).

Cerca de 83,8% das espécies de bactérias isoladas neste estudo são referidas na literatura (Proulx, Hume, Drobatz & Reineke, 2014; Rheinwald, 2014; Dear, 2014; Lappin *et al.*, 2017) associadas frequentemente a infeções do trato respiratório inferior em cães e gatos. Esta proporção inclui as bactérias mais identificadas no estudo: *Staphylococcus* spp. (35,1%), *Pasteurella* spp. (16,2%), *Pseudomonas* spp. (13,5%) e *Escherichia Coli* (10,8%). Por outro lado, as espécies *Acinetobacter* spp. (8,1%), *Citrobacter* spp. (2,7%), *Enterobacter* spp. (2,7%) e *Klebsiella* spp. (2,7%) foram isoladas com menor frequência, representando 16,2% do total das bactérias isoladas, não pertencendo ao grupo de bactérias associadas frequentemente a este tipo de infeções.

Nos resultados do estudo de Jonhson *et al.* (2013) as espécies bacterianas mais isoladas em cães foram *Mycoplasma* spp., *B. bronchiseptica*, *Pasteurella* spp. e Enterobacteriaceae. Ao contrário do estudo referido, no presente estudo não foram realizadas culturas com métodos específicos para a identificação de *Mycoplasma* spp., o que explica a ausência do isolamento destes agentes patogénicos. Verifica-se também um contraste em relação à frequência com que foram isoladas estirpes da espécie *Bordetella* spp., que neste estudo foi apenas 2,7%, enquanto no estudo de Jonhson (Jonhson *et al.*, 2013) foi de 21,9%. O facto de serem esperadas taxas de identificação de *Bordetella bronchiseptica* superiores em cães de abrigo ou mantidos em grandes grupos (Radhakrishnan *et al.*, 2007), suporta a hipótese de que diferenças significativas entre as amostras populacionais dos dois estudos expliquem estas diferenças encontradas.

No estudo de Rheinwald *et al.* (2014), as espécies mais isoladas foram *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Pasteurella* spp. e *Pseudomonas* spp.. Neste caso verifica-se uma maior correspondência com os resultados do presente estudo, contudo enquanto o *Streptococcus* spp. foi a espécie mais isolada na publicação referida, aqui foi isolada com uma percentagem de apenas 5,4%.

Num estudo publicado em 2016 (Morrissey *et al.*, 2016), as espécies bacterianas mais isoladas em cães foram *Staphylococcus intermedius*, *B. bronchiseptica*, *Streptococcus* spp., *Escherichia coli* e *Pasteurella multocida*. Nos gatos, o agente mais isolado foi a *P. multocida*, seguida do *Streptococcus* spp. Mais uma vez, os resultados não são idênticos aos do presente estudo para a *B. bronchiseptica* e *Streptococcus* spp..

A frequência com que as diferentes espécies bacterianas foram isoladas nos vários estudos referidos pode ser influenciada por fatores relacionados com as diferenças entre as amostras populacionais em estudo: critérios de inclusão nas amostras populacionais (espécies,

suspeita de infecção / infecção confirmada...), o número de casos incluídos nas amostras populacionais, a região geográfica em que é feito o estudo, os métodos utilizados nos vários procedimentos, como as metodologias de isolamento bacteriano e os critérios para estabelecer as CIM para os antibacterianos, entre outros.

### 3.5. Suscetibilidade bacteriana

Os perfis de suscetibilidade das bactérias isoladas nas culturas microbiológicas dos animais com infecção bacteriana do trato respiratório inferior encontram-se apresentados na tabela 11. Dos antibióticos testados para a maioria dos microrganismos, verificou-se uma proporção de resistências mais elevada à amoxicilina (59,4%), à amoxicilina/ácido clavulânico (35,1%) e ao trimetoprim/sulfametoxazol (32,4%). Pelo contrário, dos antibióticos testados na maioria dos microrganismos, os que apresentaram menor percentagem de resistências foram as fluoroquinolonas (10,8%) e os aminoglicosídeos (9,1%), embora estes últimos não tenham sido testados em 4 estirpes.

Relativamente às bactérias da espécie *Staphylococcus* spp. verificou-se que apresentavam maior percentagem de resistências à clindamicina (61,5%), à penicilina e à amoxicilina (53,8%) e à eritromicina (38,5%). Por outro lado, os antibióticos aos quais apresentaram menos resistências foram mais uma vez as fluoroquinolonas e os aminoglicosídeos, com apenas 7,7% de resistências.

Nas bactérias da espécie *Pasteurella* spp. foi identificada resistência, numa proporção de 1/6, à penicilina, ao trimetoprim/sulfametoxazol e à tetraciclina, e numa proporção de 1/2 aos aminoglicosídeos, uma vez que só foi testada em duas estirpes. Registou-se assim que todas as estirpes desta espécie eram sensíveis a amoxicilina, amoxicilina/ácido clavulânico, cefalosporinas de 3ª geração, cloranfenicol e fluoroquinolonas.

No caso das *Pseudomonas* spp. verificou-se que a proporção de resistências atingiu os 5/5 para a amoxicilina, amoxicilina/ácido clavulânico, cloranfenicol, trimetoprim/sulfametoxazol e tetraciclina. As bactérias da espécie *Pseudomonas* spp., principalmente a *Pseudomonas aeruginosa*, têm uma elevada resistência intrínseca (Olivares *et al.*, 2013), o que contribui para as elevadas proporções de resistência registadas a vários antibióticos. Assim, os antibióticos para os quais mostraram uma maior proporção de sensibilidade foram os aminoglicosídeos, sem registo de resistências, e as fluoroquinolonas e cefalosporinas de 3ª geração, com apenas 1/5 resistências.

Nas bactérias da espécie *Escherichia coli* constatou-se uma proporção de resistências de 3/4 para a amoxicilina e tetraciclina e de 2/4 para as cefalosporinas de 1ª/2ª geração e trimetoprim/sulfametoxazol. Por outro lado, as 4 estirpes eram todas suscetíveis à amoxicilina/ácido clavulânico, às cefalosporinas de 3ª geração e aos aminoglicosídeos.

**Tabela 11 – Suscetibilidade bacteriana aos antibióticos e classificação do nível de resistência**

	<b>S</b> (n=13)		<b>PA</b> (n=6)		<b>P</b> (n=5)		<b>E</b> (n=4)		<b>A</b> (n=3)		<b>ST</b> (n=2)		<b>B</b> (n=1)		<b>C</b> (n=1)		<b>ES</b> (n=1)		<b>K</b> (n=1)		<b>TOTAL</b> (n=37)	
	R/T	%	R/T	%	R/T	%	R/T	%	R/T	%	R/T	%	R/T	%	R/T	%	R/T	%	R/T	%	R/T	%
<b>PEN</b>	7/13	53,8	1/6	16,7	-	-	-	-	-	-	0/2	0	-	-	-	-	-	-	-	-	8/21	38
<b>AMX</b>	7/13	53,8	0/6	0	5/5	100	3/4	75	3/3	100	0/2	0	1/1	100	1/1	100	1/1	100	1/1	100	22/37	59,4
<b>OXI</b>	1/4	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/4	20
<b>PIP</b>	-	-	-	-	1/5	20	-	-	0/1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/6	16,7
<b>AMC</b>	2/13	15,4	0/6	0	5/5	100	0/4	0	3/3	100	0/2	0	1/1	100	1/1	100	1/1	100	0/1	0	13/37	35,1
<b>C1/2G</b>	1/9	11,1	-	-	-	-	2/4	50	3/3	100	-	-	1/1	100	1/1	100	1/1	100	0/1	0	9/20	45
<b>C3G</b>	-	-	0/6	0	1/5	20	0/4	0	3/3	100	0/2	0	1/1	100	1/1	100	0/1	0	0/1	0	6/24	25
<b>AMG</b>	1/13	7,69	1/2	50	0/5	0	0/4	0	1/3	33,3	0/2	0	0/1	0	0/1	0	0/1	0	0/1	0	3/33	9,09
<b>ERI</b>	5/13	38,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1/2	50	-	-	-	-	-	-	-	-	6/15	40
<b>CLO</b>	2/13	15,4	0/6	0	5/5	100	1/4	25	1/3	33,3	0/2	0	0/1	0	0/1	0	0/1	0	0/1	0	9/37	24,3
<b>TSX</b>	3/13	23,1	1/6	16,7	5/5	100	2/4	50	0/3	0	0/2	0	1/1	100	0/1	0	0/1	0	0/1	0	12/37	32,4
<b>FLU</b>	1/13	7,69	0/6	0	1/5	20	1/4	25	1/3	33,3	0/2	0	0/1	0	0/1	0	0/1	0	0/1	0	4/37	10,8
<b>CLI</b>	8/13	61,5	-	-	-	-	-	-	-	-	0/2	0	-	-	-	-	-	-	-	-	8/15	53,3
<b>TET</b>	2/12	16,7	1/6	16,7	5/5	100	3/4	75	0/3	0	0/2	0	0/1	0	1/1	100	0/1	0	0/1	0	12/36	33,3
<b>MR</b>	3/13	23,1	1/6	16,7	5/5	100	2/4	50	2/3	66,7	0/2	0	1/1	100	1/1	100	0/1	0	0/1	0	15/37	<b>40,5</b>

R - Resistência

T- Testados

MR - Bactérias multirresistentes

**Bactérias:** **S** - *Staphylococcus* spp.; **PA** - *Pasteurella* spp.; **P** - *Pseudomonas* spp.; **E** - *Escherichia Coli*; **A** - *Acinetobacter* spp.; **ST** - *Streptococcus* spp.; **B** - *Bordetella* spp.; **C** - *Citrobacter* spp.; **ES** - *Enterobacter* spp.; **K** - *Klebsiella* spp.

**Antibióticos:** **PEN** – penicilina; **AMX** – amoxicilina; **PIP** – piperacilina; **OXI** - oxacilina; **AMC** - amoxicilina/ácido clavulânico; **C1/2G** - cefalosporinas de 1ª e 2ª geração; **C3G** - cefalosporinas de 3ª geração; **AMG** - aminoglicosídeos; **ERI** - eritromicina; **CLO** - cloranfenicol; **TSX** - trimetropim/sulfametoxazol; **FLU** - fluoroquinolonas; **CLI** - clindamicina; **TET** - Tetraciclina

Ao todo, foram identificadas 15/37 bactérias multirresistentes, isto é, 40,5% das estirpes isoladas neste estudo eram resistentes a pelo menos um antibiótico em 3 ou mais dos seguintes grupos: penicilinas, penicilinas e inibidores das  $\beta$ -lactamases, cefalosporinas, aminoglicosídeos, macrólidos, fenóis, trimetoprim/sulfametoxazol, fluoroquinolonas, lincosamidas e tetraciclina.

Todas as estirpes *Pseudomonas* spp. isoladas foram classificadas como multirresistentes (5/15), o que está de acordo com os resultados de Johnson *et al.* (2013) e de Rheinwald *et al.* (2014). Em maior proporção estavam também representadas espécies da família Enterobacteriaceae (3/15), duas estirpes de *E. coli* e a estirpe isolada de *Citrobacter* spp. produtora de beta-lactamases de espectro alargado (Extended Spectrum Beta-lactamases [ESBL]), e 3/15 *Staphylococcus* spp., das quais duas estirpes eram resistentes à meticilina (methicillin-resistant [MRS]). As restantes eram das espécies *Acinetobacter* spp. (2/15), *Pasteurella multocida* (1/15) e *Bordetella* spp. (1/15). Algumas destas espécies bacterianas são consideradas das mais problemáticas relativamente às resistências antimicrobianas na atualidade.

As bactérias da espécie *Pseudomonas aeruginosa* são ubiqüitárias no meio ambiente, e, em medicina veterinária, estão muitas vezes associadas, não só a otites e piodermites, como a infeções nosocomiais (Fine & Tobias, 2007; Nuttall & Cole, 2007). Atualmente, o aparecimento de *P. aeruginosa* multirresistente em medicina veterinária é comum e, geralmente, recorre-se à combinação de protocolos de tratamento antimicrobiano, mesmo sem evidências fidedignas relativamente à sua eficácia (Buckley, McEwan & Nuttall, 2013).

Muitos microrganismos da família das Enterobacteriaceae fazem parte da microbiota comensal do trato gastrointestinal. Tem havido um aumento significativo no aparecimento de resistência nas espécies bacterianas desta família, e representam cada vez mais uma preocupação de saúde pública em medicina humana (Pitout & Laupland, 2008). As Enterobacteriaceae produtoras de ESBL são particularmente preocupantes e, em medicina veterinária, têm sido relatados vários casos destas bactérias em animais de companhia (Pomba *et al.*, 2016). Há inúmeros relatos de estirpes de *E. coli* produtoras de ESBL isoladas em animais de companhia (Ewers *et al.*, 2011b; Schmiedel *et al.*, 2014; Ewer *et al.*, 2014; Donati *et al.*, 2014), mesmo em bactérias comensais (Ewers, Grobbel, Bethe, Wieler & Guenther, 2011a citado em Pomba *et al.*, 2016). Embora haja menos informação disponível, tem havido registo de estirpes de *Citrobacter* spp. produtoras de ESBL em cães, gatos e cavalos (Ewers *et al.*, 2010; Ewers *et al.*, 2011b). Outros exemplos de Enterobacteriaceae produtoras de ESBL isoladas em animais de companhia são a *Salmonella* spp. (Stolle *et al.*, 2013), a *Enterobacter* spp. (Gibson *et al.*, 2010) e a *Klebsiella* spp. (Gibson *et al.*, 2010; Ewer *et al.*, 2014; Donati *et al.*, 2014).

As duas espécies de MRS mais comuns são *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [MRSA]) e *Staphylococcus pseudointermedius*

resistentes à meticilina (methicillin-resistant *Staphylococcus pseudointermedius* [MRSP]). As bactérias MRSA são frequentemente associadas a infecções hospitalares e comunitárias no Homem. No entanto, têm sido associadas a diferentes infecções em animais de companhia como infecções na pele e tecidos moles, infecções em suturas pós cirúrgicas, infecções urinárias e pneumonias (Catry *et al.*, 2010). Grande parte das MRSA isoladas em animais têm características genéticas muito semelhantes às isoladas em infecções hospitalares no Homem (Weese & van Duijkeren, 2010). Em comparação com as MRSA, a emergência das MRSP representa maiores preocupações em medicina veterinária, uma vez que *S. pseudointermedius* é das principais espécies de *Staphylococcus* presentes em cães e gatos saudáveis. As MRSP causam uma grande variedade de infecções em cães e gatos como infecções na pele e otites, infecções pós cirúrgicas, gengivites, infecções respiratórias e urinárias, artrites, peritonites e septicémias (van Duijkeren *et al.*, 2011), sendo que as infecções por MRSP são mais comum em cães do que em gatos (Hanselman, Kruth, Rousseau, & Weese, 2009; Couto, Pomba, Moodley, & Guardabassi, 2011; van Duijkeren *et al.*, 2011). Enquanto a maioria das estirpes de MRSA isoladas em animais de companhia estão geneticamente relacionadas com MRSA associadas a infecções humanas, já as MRSP têm origem num reservatório em animais. (Weese & van Duijkeren, 2010; van Duijkeren *et al.*, 2011).

As bactérias da espécie *Acinetobacter baumannii* estão muitas vezes associadas a infecções hospitalares no Homem. São consideradas ubíquas no meio ambiente e são encontradas frequentemente na pele e na cavidade oral em animais saudáveis. Há poucos estudos que descrevam infecções de *A. baumannii* em animais (Francey, Gaschen, Nicolet & Burnens, 2000; Brachelente, Wiener, Malik & Huessy, 2007). No entanto, no estudo de Francey (Francey *et al.*, 2000), além da descrição das características clínicas de vários animais de companhia com diferentes tipos de infecções causadas por este agente patogénico (infecções urinárias, respiratórias, feridas e sistémicas), foi registada uma taxa de mortalidade de 47%. Estudos recentes mostram que alguns isolados de *A. baumannii* provenientes de infecções em animais de companhia e cavalos, partilham características genotípicas e fenotípicas com os isolados a partir de infecções no Homem (Endimiani *et al.*, 2011). A disseminação das estirpes multirresistentes desta espécie, em animais de companhia, é extremamente preocupante, uma vez que estão descritos múltiplos mecanismos de resistência, principalmente a antibióticos como os carbapenemos e a colistina (Higgins, Dammhayn, Hackel & Seifert, 2010; Perez *et al.*, 2010).

Não foi possível avaliar a existência fatores de risco associados à infeção do trato respiratório inferior por bactérias multirresistentes. No entanto, em animais de companhia, o principal fator de risco associado à colonização ou infeção por microrganismos multirresistentes é a utilização de antibióticos (Rantala *et al.*, 2004; Soares Magalhães *et al.*, 2010; Grönthal *et al.*, 2014), havendo

ainda poucos estudos acerca de outros fatores além deste (Baptiste et al., 2005; van Duijkeren et al., 2011; Pomba et al., 2016), ao contrário do que acontece no Homem (Safdar & Maki, 2002; Pomba *et al.*, 2016). Portanto, seria expectável que uma proporção significativa dos animais com infeções respiratórias por bactérias multirresistentes tivessem história de utilização frequente de antibióticos.

### 3.6. Antibioterapia prescrita

Em alguns casos, foram prescritos empiricamente dois antibióticos, pelo que o número total de antibióticos prescritos de forma empírica é superior ao número de animais que foram submetidos a antibioterapia empírica. Embora a antibioterapia dirigida tenha sido apenas prescrita nos animais com cultura positiva, foi necessário recorrer à combinação de dois fármacos antimicrobianos em alguns animais, motivo pelo qual o número de antibióticos prescritos com base nos resultados da cultura e TSA é superior ao número de animais com culturas positivas. Na tabela 12 estão representadas as frequências relativas da prescrição empírica de antibióticos.

**Tabela 12 - Frequências relativas da prescrição empírica de antibióticos**

	<b>Cultura negativa</b> (n=19)	<b>Cultura positiva</b> (n=30)	<b>Total</b> (n=49)
<b>Sem antibioterapia empírica</b>	9 (52,9%)	8 (47,1%)	17 (34,7%)
<b>Antibioterapia empírica</b>	10 (31,2%)	22 (68,8%)	32 (65,3%)

Ao todo, foi prescrita antibioterapia empírica a cerca de 65,3% (32/49) dos animais com suspeita de infeção bacteriana do trato respiratório inferior, sendo que os restantes 34,7% (17/49) aguardaram os resultados da cultura sem estarem submetidos a uma terapêutica empírica.

Após o resultado da cultura, verificou-se que em cerca de 68,8% (22/32) dos animais que fizeram antibioterapia prescrita empiricamente, foi confirmada a presença de infeção, enquanto 31,2% (10/32) tiveram resultado negativo na cultura microbiológica.

Registou-se ainda que apenas 27,3% (6/22) dos animais submetidos a antibioterapia empírica, em que se confirmou a presença de infeção, mantiveram o antibiótico após os resultados do TSA. Na tabela 13 apresentam-se as frequências de prescrição de antibióticos nos tratamentos empírico e dirigido, ou seja, na antibioterapia empírica e na antibioterapia prescrita após os resultados da cultura microbiológica e TSA.

**Tabela 13 – Frequência relativa dos antibióticos prescritos na terapêutica empírica e dirigida**

<b>Antibióticos</b>	<b>Terapêutica empírica</b> Número (%)	<b>Terapêutica dirigida</b> Número (%)
Amoxicilina/Ácido Clavulanico	18 (45%)	12 (35,3%)
Cefalexina (C1G)	2 (5%)	1 (2,9%)
Ceftriaxona (C3G)	1 (2,5%)	-
Doxiciclina	9 (22,5%)	-
Enrofloxacina	5 (12,5%)	8 (23,5%)
Marbofloxacina	1 (2,5%)	5 (14,7%)
Pradofloxacina	2 (5%)	2 (5,9%)
Azitromicina	1 (2,5%)	1 (2,9%)
Clindamicina	1 (2,5%)	-
Amicacina	-	1 (2,9%)
Trimetoprim/Sulfametoxazol	-	4 (11,9%)
<b>Total</b>	40 (100%)	34 (100%)

O número total de prescrições de terapêutica empírica e dirigida não coincide com o número de animais submetidos a terapêutica empírica (32) e dirigida (30), uma vez que, em ambos os casos houve situações em que foi prescrito mais do que um antibiótico ao mesmo animal.

Verificou-se uma maior frequência tanto na prescrição empírica (45%) como dirigida (35,3%) de amoxicilina/ácido clavulânico. Estes resultados estão de acordo com o expectável, uma vez que este antibiótico faz parte do grupo de antibióticos primeira linha, indicados para uma primeira abordagem terapêutica de pneumonias e broncopneumonias na maioria das normas de orientação mais atuais relativamente à terapêutica antimicrobiana (Brissot *et al.*, 2016; Lappin *et al.*, 2017)

Os resultados de Briyne *et al.* (2014), relativamente ao uso de antibióticos em animais na Europa, permitem concluir que os antibióticos da classe das penicilinas eram os mais utilizados em cães e gatos. No entanto, não é feita distinção entre o uso de penicilinas e penicilinas potenciadas. Já os resultados do relatório mais recente da ESVAC revelam que, quando a administração é em comprimidos, os antibióticos mais prescritos na maioria dos países são as penicilinas combinadas com inibidores das beta-lactamases, como é o caso da amoxicilina associada ao ácido clavulânico (ESVAC, 2018).

Na antibioterapia empírica, os antibióticos mais prescritos, depois da amoxicilina/ácido clavulânico, foram a doxiciclina (22,5%) e a enrofloxacina (12,5%). Tal como a amoxicilina/ácido clavulânico, a doxiciclina é um dos antibióticos de primeira linha, recomendados para uma primeira abordagem (Brissot *et al.*, 2016), principalmente recomendados para infeções causadas

pela *B. bronchiseptica* ou *Mycoplasma* spp. (Lappin *et al.*, 2017), o que justifica o facto de ter sido o segundo antibiótico mais prescrito empiricamente. A enrofloxacina e a marbofloxacina são antibióticos de segunda linha, e a sua utilização numa primeira abordagem está indicada em pacientes com quadros clínicos mais graves e, em pacientes instáveis. Estes antibióticos são muitas vezes combinados com outras substâncias antimicrobianas cujo espectro de atividade inclua bactérias gram-positivas e anaeróbias, como a ampicilina ou a clindamicina (Lappin *et al.*, 2017).

Na antibioterapia dirigida, o segundo antibiótico mais prescrito foi a enrofloxacina (23,5%), seguido pela marbofloxacina (14,7%) e trimetoprim/sulfametoxazol (11,9%). A prescrição de fluoroquinolonas, como a enrofloxacina e a marbofloxacina, após os resultados da cultura microbiológica e TSA é justificada caso o microrganismo isolado seja resistente aos antibióticos de primeira linha indicados para o tratamento de infeções respiratórias, como os já referidos beta-lactâmicos e a doxiciclina. O trimetoprim/sulfametoxazol embora pertença ao grupo de antibióticos de primeira linha, está apenas indicado como segunda opção de tratamento, ou seja, caso as bactérias isoladas não sejam suscetíveis aos de primeira escolha acima referidos (Brissot *et al.*, 2016). Dada a elevada frequência de resistências à amoxicilina/ácido clavulânico, houve a necessidade de recorrer a antibióticos de segunda escolha como o trimetoprim/sulfametoxazol ou até mesmo a antibióticos de segunda linha, como a fluoroquinolonas, uma vez que foi também registada uma elevada proporção de resistências ao trimetoprim/sulfametoxazol.

Segundo os registos, a duração média da terapêutica antimicrobiana dirigida foi de 21,6 dias, com a duração mínima de 10 dias e a duração máxima de 56 dias. Uma vez que a duração ideal para o tratamento das infeções das vias aéreas inferiores não está estabelecida, as normas de orientação da ISCAID (Lappin *et al.*, 2017) e as publicadas pela Associação Dinamarquesa de Veterinários (Jessen *et al.*, 2019) recomendam que seja feita uma reavaliação a cada 10 a 14 dias de tratamento, baseando a decisão de prolongar o tratamento numa avaliação clínica, hematológica e radiográfica. Assim, conclui-se que a duração média dos tratamentos registados neste estudo está de acordo com as recomendações mais atuais, que explicam também o grande intervalo entre a duração mínima e máxima registadas.

As doses prescritas na terapêutica antimicrobiana dirigida foram também registadas e agrupadas por antibiótico, de modo a obter as doses mínimas, máximas e médias prescritas para cada um, cujos resultados estão na Tabela 14.

**Tabela 14 – Doses mínimas, máximas e médias prescritas na terapêutica antimicrobiana dirigida**

Antibióticos	Antibioterapia dirigida		Dose recomendada (Ramsey, 2014)
	Dose administrada (mg/kg)		
Amoxicilina/Ácido Clavulânico	Mínimo	10	12,5–25 mg/kg BID
	Máximo	31	
	Média	20,9	
Cefalexina (C1G)	-	24	10–25 mg/kg BID
Enrofloxacina	Mínimo	3	5 mg/kg SID
	Máximo	7	
	Média	4,9	
Marbofloxacina	Mínimo	5	2 mg/kg SID
	Máximo	5	
	Média	5	
Pradofloxacina	Mínimo	2	3 mg/kg SID
	Máximo	4	
	Média	2,6	
Azitromicina	-	10	5–10 mg/kg SID
Amicacina	-	15	15–30 mg/kg SID(Cão)
Trimetoprim/Sulfametoxazol	Mínimo	14	15 mg/kg BID
	Máximo	15	
	Média	14,75	

De uma forma geral, é possível observar que as doses médias administradas se aproximam das doses ou intervalos de doses recomendados, com a exceção da marbofloxacina em que a dose média administrada foi superior. Pequenas variações nas doses administradas podem ocorrer devido à necessidade de adaptar as doses recomendadas às formas farmacêuticas comercializadas. Contudo, no caso da marbofloxacina, o aumento é significativo, podendo ser interpretado como uma decisão intencional. Uma vez que as fluoroquinolonas são antibióticos concentração-dependentes, a sua administração em doses superiores aumenta a eficácia do tratamento quando, nos resultados do TSA, a suscetibilidade dos microrganismos aos antibióticos em questão é intermédia (Brissot *et al.*, 2016).

### 3.7. Eficácia do tratamento

Relativamente aos tratamentos antimicrobianos dirigidos, cerca de 73,3% (22/30) foram classificados como eficazes e os restantes 26,7% (8/30) como ineficazes.

**Tabela 15 – Distribuição do grau de resistência e da realização de reavaliação antes do fim do tratamento consoante os tratamentos tenham sido eficazes ou ineficazes**

		<b>Tratamento eficaz</b> (n=22)	<b>Tratamento ineficaz</b> (n=8)	<b>p</b>
		Número (%)	Número (%)	
<b>Grau de resistência</b>	Multirresistente	9 (60%)	6 (40%)	0,2425443
	Não multirresistente	13 (86,7%)	2 (13,3%)	
<b>Reavaliação</b>	Sim	14 (100%)	0 (0%)	0,02609*
	Não	7 (63,4%)	4 (36,4%)	

\*Resultado estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ )

Tanto o grau de resistência do agente patogénico como a realização da reavaliação clínica recomendada, antes do fim da terapêutica antimicrobiana, foram identificados como possíveis fatores predisponentes à ineficácia do tratamento descrita no estudo. Como se pode ver na Tabela 15, foi encontrada uma associação estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) (através do Teste Exato de Fisher) entre a realização da reavaliação clínica recomendada e a eficácia do tratamento. Contudo a realização de reavaliação clínica não foi contabilizada em cinco animais com suspeita de infeção. Um desses animais está incluído nos tratamentos eficazes, e dado que se tratava de um caso de referência, a reavaliação clínica foi realizada na clínica que referenciou, pelo que não havia informações suficientes da mesma. Por outro lado, os restantes quatro animais estavam incluídos nos tratamentos ineficazes, sendo que um não resistiu à infeção e morreu, não tendo chegado a fazer reavaliação. Os outros três pertencem ao grupo de animais que não apresentavam melhorias clínicas 3 a 4 dias depois do início do tratamento. Desta forma, o fator da realização de reavaliação clínica antes do fim do tratamento também não pôde ser aplicado nestes casos.

Assim, os resultados obtidos, neste estudo, indicam que a realização de uma reavaliação clínica antes do fim do tratamento contribui para a eficácia do mesmo, ou seja, o facto de se fazer uma reavaliação clínica permitirá prolongar o tratamento caso a infeção não esteja totalmente resolvida, e assim evitar a ineficácia do tratamento prescrito, o que poderá não acontecer se o animal não for reavaliado.

Estes resultados vão de encontro às recomendações presentes nas normas de orientação da ISCAID para o tratamento de doenças do trato respiratório no cão e no gato, que aconselham que seja feita uma reavaliação a cada 10 a 14 dias de terapêutica antimicrobiana, baseando a decisão de prolongar o tratamento numa avaliação clínica, hematológica e radiográfica, uma vez que a duração recomendada para o tratamento para infeções bacterianas das vias aéreas inferiores não está ainda definida. Assim, quando os detentores não levam os animais à reavaliação recomendada, aumentam o risco de interromper a antibioterapia sem que a infeção esteja totalmente resolvida, mesmo que o animal aparentemente estivesse recuperado.

### **3.8. Limitações do estudo**

O presente estudo teve algumas limitações, nomeadamente o tamanho reduzido da amostra que teve bastante impacto os resultados e as conclusões obtidas.

Por outro lado, este estudo apresenta algumas limitações associadas ao seu carácter retrospectivo. A existência de falhas de informação nas fichas clínicas dos animais; as diferenças no painel de antibióticos testados, mesmo dentro do mesmo género bacteriano; a não classificação de todos os microrganismos a nível da espécie; a ausência de classificação quantitativa da suscetibilidade bacteriana; a imprecisão na classificação das alterações observadas nas citologias, uma vez que os resultados são expressos pelo laboratório de forma descritiva e sem as contagens celulares totais, são alguns exemplos disso mesmo.

O facto de não ter sido possível excluir as resistências intrínsecas da classificação das estirpes multirresistentes é também uma limitação deste estudo, uma vez que é provável que a população de estirpes multirresistentes obtida neste estudo esteja aumentada.

Há ainda fatores que não foram controlados, como o caso de animais medicados com antibiótico no momento da realização da LBA. Estes animais deviam ser excluídos do estudo, uma vez que o antibiótico utilizado no tratamento empírico pode inibir o crescimento bacteriano, falseando os resultados da cultura microbiológica e, conseqüentemente, afetando os resultados do estudo. Contudo, num estudo retrospectivo não é possível controlar ou confirmar que todas as prescrições de antibióticos tenham sido anotadas pelo clínico.

Relativamente aos animais em que, depois da prescrição da terapêutica antimicrobiana dirigida, não há mais registos clínicos no hospital, não é possível garantir que a infeção ficou de facto resolvida ou se, por exemplo, os tutores recorreram a outro CAMV.

#### 4. Conclusão

Este estudo teve como objetivo contribuir para a caracterização da infeção bacteriana do trato respiratório inferior no cão e no gato e das resistências antimicrobianas associadas, com base em dados recolhidos num hospital veterinário em Oeiras.

A utilidade das citologias foi evidenciada, através da relação encontrada entre as alterações identificadas neste exame e os resultados das respetivas culturas microbiológicas. Verificou-se que nas amostras de LBA, com citologias em que foram identificados sinais de inflamação séptica supurativa ou de inflamação supurativa associada à presença de bactérias extracelulares, há uma grande probabilidade de que o resultado da cultura microbiológica das mesmas seja positivo, ou seja, de ser confirmada a existência de uma infeção bacteriana do trato respiratório inferior.

Os fatores predisponentes para infeções bacterianas das vias aéreas inferiores identificados neste estudo, estão de acordo com o referido por outros autores e incluem a presença de afeções concomitantes (história de infeção respiratória superior, colapso da traqueia, bronquite alérgica, neoplasia e aspiração de conteúdo gástrico) e a espécie do hospedeiro, uma vez que a pneumonia bacteriana é um dos diagnósticos clínicos mais comuns em cães com doenças respiratórias agudas ou crónicas, ao contrário dos gatos.

A maioria das bactérias isoladas neste estudo são também as que são referidas na literatura associadas frequentemente a infeções do trato respiratório inferior em cães e gatos. Alguns dos agentes patogénicos mais isolados neste estudo, como o *Staphylococcus* spp., a *Pseudomonas* spp. e as bactérias da família das Enterocabactereacea, estão assim em concordância com o relatado em estudos prévios. Contudo, há também algumas diferenças, em especial no que se refere ao registo de baixas percentagens de isolados de microrganismos como o *Mycoplasma* spp., a *Bordetella* spp. e o *Streptococcus* spp., que contrastam com os resultados de estudos anteriores, em que se registaram frequências consideravelmente superiores. Isto é facilmente explicado, não só pelo reduzido tamanho da amostra do presente estudo, mas também por outras variações entre os estudos, como os critérios de inclusão nas amostras populacionais (espécies, suspeita de infeção / infeção confirmada...), a região geográfica em são realizados e os métodos utilizados nos vários procedimentos.

Neste estudo foram identificadas 40,5% de estirpes bacterianas multirresistentes na totalidade dos agentes patogénicos isolados a partir de amostras de conteúdo das vias aéreas inferiores. Embora não tenha sido possível avaliar a existência fatores de risco associados à infeção do trato respiratório inferior por bactérias multirresistentes, sabe-se que o principal fator de risco associado à colonização ou infeção por microrganismos multirresistentes é a utilização de antibióticos, pelo que seria expectável que uma proporção significativa dos animais com infeções respiratórias por bactérias multirresistentes tivessem história de utilização frequente de

antibióticos.

Um dos fatores que pode contribuir para esta proporção é o facto de nem todos os animais com suspeita de infeção respiratória inferior serem submetidos à realização de uma LBA e posterior citologia e cultura microbiológica. Assim, pode haver alguma tendência para que os animais incluídos na amostra, ou seja, os animais submetidos à realização de uma LBA e posterior citologia e cultura microbiológica, tenham infeções por agentes patogénicos tendencialmente mais resistentes, uma vez que estas poderão não ter ficado resolvidas com o tratamento empírico. A existência de uma proporção tão elevada de multirresistência destaca a importância da realização de culturas microbiológicas e TSA, para que o tratamento antimicrobiano prescrito seja adequado ao tipo de infeção. É importante que a prescrição dos antibióticos seja baseada não só nos resultados da cultura e TSA, mas também nas normas de orientação de prescrição de antibióticos, de modo a garantir uma seleção e utilização prudente dos antibióticos, e assim, evitar o desenvolvimento e emergência das resistências antimicrobianas.

Relativamente à terapêutica antimicrobiana prescrita, sendo as pneumonias e broncopneumonias doenças com o potencial de risco elevado, justifica-se a proporção de prescrições empíricas registadas. Verificou-se que os antibióticos prescritos mais frequentemente são referidos nas normas de orientação de prescrição de antibióticos internacionais para as infeções das vias aéreas inferiores, assim como a duração dos tratamentos. As doses prescritas, de uma forma geral, aproximaram-se das doses recomendadas, verificando-se algumas exceções, atribuíveis à necessidade de adaptar as doses recomendadas às doses comercializadas ou à decisão clínica intencional da prescrição de doses mais elevadas.

Ficou explícita a importância da realização de uma reavaliação antes do fim do tratamento antimicrobiano recomendado nas normas de orientação da ISCAID para o tratamento de doenças do trato respiratório no cão e no gato, de forma a que a decisão de prolongar o tratamento seja baseada na avaliação clínica e radiográfica do animal, uma vez que a duração ideal para o tratamento para infeções bacterianas das vias aéreas inferiores não está ainda definida.

Ultimamente tem vindo a registar-se um aumento das infeções multirresistentes a nível global quer em medicina humana, quer em medicina veterinária. É evidente que a utilização de compostos antimicrobianos expõe os agentes patogénicos e microbiota comensal a uma pressão de seleção que pode levar ao aparecimento. Assim, a comunidade médico veterinária tem um papel essencial no que toca à otimização do uso dos compostos antimicrobianos através da elaboração e cumprimento de normas de orientação sobre o uso de antibióticos nos vários tipos de infeções, para que a prescrição da terapêutica antimicrobiana seja prudente e adequada, reduzindo as pressões de seleção que podem levar ao aparecimento e disseminação das resistências antimicrobianas.

A realização de estudos em várias regiões geográficas contribui para a monitorização do aparecimento de resistências antimicrobianas, bem como para o conhecimento das práticas de prescrição de antibióticos, dos principais agentes etiológicos e respetivos padrões de suscetibilidade. É ainda importante que sejam realizados mais estudos acerca dos fatores de risco associados à colonização ou infeção por microrganismos multirresistentes em medicina veterinária, além da utilização de antibióticos.

Desta forma, este estudo foi importante para o conhecimento das práticas de prescrição de antibióticos, dos principais agentes etiológicos das infeções do trato respiratório no cão e no gato e respetivos padrões de suscetibilidade num hospital veterinário na região de Oeiras. Por outro lado, os resultados obtidos neste estudo evidenciam não só o problema da emergência das infeções multirresistentes, como a importância da elaboração e aplicação das normas internacionais de tratamento de infeções em medicina veterinária.

## Bibliografia

- Adzitey, F. (2015). Antibiotic classes and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from selected poultry: a mini review. *World Vet J.* 5(3), 36-41.
- Alborn, W., Allen, N. & Preston, D. (1991). Deptomycin disrupts membrane potential in growing *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 31(7), 1093-1099.
- Allerton, F. (2018) Rationalizing antibacterials. *BSAVA Companion*, 2018(11), 8 – 9. Acedido em JUN. 12, 2019, disponível em: <https://www.bsavalibrary.com/docserver/fulltext/companion/2018/11/20412495.1118.8.pdf?expires=1565609970&id=id&accname=guest&checksum=0AB6B682F28210237B346DE2A2109858>
- Baptiste, K.E., Williams, K., Williams, N.J., Wattret, A., Clegg, P.D., Dawson, S., Corkill, J.E., O'Neill, T. & Hart, C.A. (2005). Methicillin-resistant staphylococci in companion animals. *Emerging Infectious Diseases*, 11(12), 1942-1944.
- Bongrand, Y., Blais, M.C. & Alexander, K.A. (2012). Atypical pneumonia associated with a *Mycoplasma* isolate in a kitten. *The Canadian Veterinary Journal*, 53, 1109–1013.
- Brachelente, C., Wiener, D., Malik, Y. & Huessy, D. (2007). A case of necrotizing fasciitis with septic shock in a cat caused by *Acinetobacter baumannii*. *Veterinary Dermatology*, 18, 432–438.
- Brady, C.A. (2004) Chapter 56 - Bacterial Pneumonia in Dogs and Cats. In L.G. King (Ed.), *Textbook of Respiratory Disease in Dogs and Cats*. (pp. 412-42). St. Louis: W.B. Saunders.
- Brissot, H., Cervantes, S., Guardabassi, L., Hibbert, A., Lefebvre, H., Mateus, A., Noli, C., Nuttall, T., Pomba, C. & Schulz, B. (2016). GRAM: Guidance for the rational use of antimicrobials: Recommendations for dogs and cats. (2nd ed.) France: Ceva Santé Animale.
- British Small Animal Veterinary Association (2018). *BSAVA/SAMSoc Guide to Responsible Use of Antibacterials: PROTECT ME*. Acedido em JUN. 12, 2019, disponível em: <https://www.bsavalibrary.com/content/book/10.22233/9781910443644#chapters>
- Buckley, L.M., McEwan, N.A. & Nuttall, T. (2013). Tris-EDTA significantly enhances antibiotic efficacy against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. *Veterinary Dermatology*, 24, 519–e122.
- Calderon, C. B. & Sabundayo, B. P. (2007). Antimicrobial classifications: Drugs for bugs. In: Schwalbe R, Steele-Moore L & Goodwin AC (Eds). *Antimicrobial susceptibility testing protocols*. Boca Raton: CRC Press, Taylor and Frances Group.
- Catry, B., Van Du Ijkeren, E., Pomba, M.C., Greko, C., Moreno, M. A., Pyörälä, S., Ružauskas, M., Sanders, P., Threlfall, E.J., Ungemach, F., Törneke, K., Muñoz-Madero, C. & Torren-Edo, J. (2010). Reflection paper on MRSA in food-producing and companion animals: epidemiology and control options for human and animal health. *Epidemiology and Infection*, 138, 626-644.
- Chan, C.M., Ridgway, M.D., Mitchell, M.A. & Maddox, C.W. (2013). Association between *Mycoplasma*-specific polymerase chain reaction assay results and oral bacterial

- contamination of bronchoalveolar lavage fluid samples from dogs with respiratory tract disease: 121 cases (2005–2012). *Journal of the American Veterinary Medicine Association*, 243, 1573 - 1579.
- Chandler, J.C. & Lappin, M.R. (2002). Mycoplasmal respiratory infections in small animals: 17 cases (1988–1999). *Journal of the American Animal Hospital Association*, 38, 111–119.
- Comissão Europeia (2017). *Comunicação da Comissão ao Conselho e ao Parlamento Europeu: Plano de Ação Europeu «Uma Só Saúde» contra a Resistência aos Agentes Antimicrobianos (RAM)*. Acedido em ABR. 28, 2019, disponível em: <https://ec.europa.eu/transparency/regdoc/rep/1/2017/PT/COM-2017-339-F1-PT-MAIN-PART-1.PDF>
- Confalonieri, M., Annane, D., Antonaglia, C., Santagiuliana, M., Borriello, E.M. & Meduri, G.U. (2013). Is prolonged low-dose glucocorticoid treatment beneficial in community-acquired pneumonia? *Current Infectious Disease Reports*, 15(2), 158–166.
- Couto, N., Pomba, C., Moodley, A. & Guardabassi, L. (2011). Prevalence of methicillin-resistant staphylococci among dogs and cats at a veterinary teaching hospital in Portugal. *Veterinary Record*, 169(3), 72.
- Creevy, K.E. (2009). Airway evaluation and flexible endoscopic procedures in dogs and cats: laryngoscopy, transtracheal wash, tracheobronchoscopy, and bronchoalveolar lavage. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 39, 869–880.
- Cusack, T.P., Ashley, E.A., Ling, C.L., Rattanavong, S., Roberts, T., Turner, P., Wangrangsimakul, T. & Dance, D.A.B. (2019). Impact of CLSI and EUCAST breakpoint discrepancies on reporting of antimicrobial susceptibility and AMR surveillance. *Clinical Microbiology and Infection*, 25, 910-911.
- De Briyne, N., Atkinson, J., Pokludová, L. & Borriello, S.P. (2013). Factors influencing antibiotic prescribing habits and use of sensitivity testing amongst veterinarians in Europe. *Veterinary Record*, 173(19), 475.
- De Briyne, N., Atkinson, J., Pokludová, L. & Borriello, S.P. (2014). Antibiotics used most commonly to treat animals in Europe. *Veterinary Record*, 175(13), 325.
- Dear, J.D. (2014). Bacterial Pneumonia in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 44(1), 143 – 159.
- Dehard, S., Bernaerts, F., Peeters, D., Detilleux, J., McEntee, K., Day, M.J. & Clercx, C. (2008). Comparison of bronchoalveolar lavage cytopins and smears in dogs and cats. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 44(6), 285 – 294.
- Doern, G.V. & Brecher, S.M. (2011). The clinical predictive value (or lack thereof) of the results of in vitro antimicrobial susceptibility tests. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(suppl.9), S11 – S14.
- Donati, V., Feltrin, F., Rene, S. Hendriksen, R.S., Svendsen, C.A., Cordaro, G., García-Fernández, A., Lorenzetti, S., Lorenzetti, R., Battisti, A. & Franco, A. (2014). Extended-spectrum-b-lactamases, AmpC b-lactamases and plasmid mediated quinolone resistance in *Klebsiella* spp. from companion animals in Italy. *PLoS One*, 9 (3), e90564.

- Endimiani, A., Hujer, K.M., Hujer, A.M., Bertschy, I., Rossano, A., Koch, C., Gerber, V., Francey, T., Bonomo, R.A. & Perreten, V. (2011). *Acinetobacter baumannii* isolates from pets and horses in Switzerland: molecular characterization and clinical data. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66, 2248–2254.
- Epstein, S.E., Mellema, M.S., & Hopper, K. (2010). Airwaymicrobial culture and susceptibility patterns in dogs and cats with respiratory disease of varying severity. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 20(6), 587–594.
- Etebu, E. & Arikekpar, I. (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *International Journal Applied Microbiology and Biotechnology Research*, 4, 90-101.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (2019). *EUCAST Expert rules v 3.2*. Acedido em AGO, 10, 2019, disponível em: [http://www.eucast.org/expert\\_rules\\_and\\_intrinsic\\_resistance/](http://www.eucast.org/expert_rules_and_intrinsic_resistance/)
- European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption (2018). *Sales of veterinary antimicrobial agents in 30 European countries in 2016: Trends from 2010 to 2016*. Acedido em JUN. 10, 2019, disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/sales-veterinary-antimicrobial-agents-30-european-countries-2016-trends-2010-2016-eighth-esvac\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/sales-veterinary-antimicrobial-agents-30-european-countries-2016-trends-2010-2016-eighth-esvac_en.pdf)
- Ewer, C., Stamm, I., Pfeifer, Y., Wieler, L.H., Kopp, P.A., Schønning, K., Prenger-Berninghoff, E., Scheufen, S., Stolle, I., Günther, S. & Bethe, A. (2014). Clonal spread of highly successful ST15-CTX-M-15 *Klebsiella pneumoniae* in companion animals and horses. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(10), 2676–2680.
- Ewers, C., Bethe, A., Wieler, L.H., Guenther, S., Stamm, I., Kopp, P.A. & Grobbel, M. (2011b). Companion animals: a relevant source of extended-spectrum b-lactamase-producing fluoroquinolone-resistant *Citrobacter freundii*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 37(1), 86–87.
- Ewers, C., Grobbel, M., Bethe, A., Wieler, L.H. & Guenther, S. (2011a). Extended-spectrum b-lactamases producing gram-negative bacteria in companion animals: action is clearly warranted! *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 124 (2-4), 94 – 101.
- Ewers, C., Grobbel, M., Stamm, I., Kopp, P.A., Diehl, I., Semmler, T., Fruth, A., Beutlich, J., Guerra, B., Wieler, L.H. & Guenther, S. (2010). Emergence of human pandemic O25:H4-ST131 CTX-M-15 extended-spectrum-b-lactamase-producing *Escherichia coli* among companion animals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(4), 651–660.
- Fair, R.J. & Tor, Y. (2014). Antibiotics and Bacterial Resistance in the 21st Century. *Perspectives in Medicinal Chemistry*, 6, 25-64.
- Falagas, M.E., Rafailidis, P.I. & Matthaiou, D.K. (2010). Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. *Drug Resistance Updates*, 13(4-5), 132-138.
- Federation of european companion animal veterinary associations working group on hygiene and the use of antimicrobials in veterinary practice (2018). *FECAVA Recommendations for Appropriate Antimicrobial Therapy*. Acedido em MAI. 20, 2019, disponível em: [https://www.fecava.org/wp-content/uploads/2019/03/FECAVA\\_ABtherapy\\_2018\\_LR1.pdf](https://www.fecava.org/wp-content/uploads/2019/03/FECAVA_ABtherapy_2018_LR1.pdf)

- Fine D.M. & Tobias A.H. (2007). Cardiovascular device infections in dogs: report of 8 cases and review of the literature. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21, 1265-1271.
- Foster, S.F., Martin, P., Allan, G.S., Barrs, V.R. & Malik, R. (2004). Lower respiratory tract infections in cats: 21 cases (1995–2000). *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 6(3), 167–180.
- Francey, T., Gaschen, F., Nicolet, J. & Burnens, A.P. (2000) The role of *Acinetobacter baumannii* as a nosocomial pathogen for dogs and cats in an intensive care unit. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14, 177–183.
- Gibson, J.S., Cobbold, R.N., Heisig, P., Sidjabat, H.E., Kyaw-Tanner, M.T. & Trott, D.J. (2010). Identification of Qnr and AAC(6')-1b-cr plasmid-mediated fluoroquinolone resistance determinants in multidrug-resistant *Enterobacter* spp. isolated from extraintestinal infections in companion animals. *Veterinary Microbiology*, 143(2-4), 329–336.
- Giedraitienė, A., Vitkauskienė, A., Naginienė, R. & Pavilionis, A. (2011). Antibiotic Resistance Mechanisms of Clinically Important Bacteria. *Medicina (Kaunas)*, 47(3), 137-146.
- Giguère, S., Prescott, J.F. & Dowling, P.M. (Eds.) (2013). *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. (5<sup>a</sup> Ed.). Iowa: John Wiley & Sons, Inc.
- Grönthal, T., Moodley, A., Nykäsenoja, S., Junnila, J., Guardabassi, L., Thomson, K., & Rantala, M. (2014). Large outbreak caused by methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* ST71 in a Finnish veterinary teaching hospital—from outbreak control to outbreak prevention. *PLoS One*, 9, e110084.
- Hanselman, B.A., Kruth, S.A., Rousseau, J. & Weese, J.S. (2009). Coagulase positive staphylococcal colonization of humans and their household pets. *Canadian Veterinary Journal*, 50, 954–958.
- Hawkey, P.M. & Jones, A.M. (2009). The changing epidemiology of resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 64(supl.1), i3-i10.
- Hawkins, E.C. (2004). Bronchoalveolar lavage. In L.G. King (Ed), *Textbook of Respiratory Disease in Dogs and Cats*. (pp. 118–127). St. Louis: WB Saunders.
- Higgins, P.G., Dammhayn, C., Hackel, M. & Seifert, H. (2010). Global spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65, 233–238.
- Hooper, D. C. (2001). Mechanisms of Action of Antimicrobials: Focus on Fluoroquinolones. *Clinical Infectious Diseases*, 32(supl.1): S9–S15.
- Jessen, L.R., Damborg, P.P., Spohr, A., Sørensen, T.M., Langhorn, R., Goericke-Pesch, S.K., Houser, G., Willesen, J., Schjærff, M., Eriksen, T., Jensen, V.F. & Guardabassi, L. (2019). *Antibiotic Use Guidelines for Companion Animal Practice* (2nd ed.). The Danish Small Animal Veterinary Association, SvHKS. Acedido em JUN. 14, 2019, disponível em: [https://www.ddd.dk/media/2175/sembled\\_final.pdf](https://www.ddd.dk/media/2175/sembled_final.pdf)
- Johnson, L.R., Queen, E.V., Vernau, W., Sykes, J.E. & Byrne, B.A. (2013). Microbiologic and cytologic assessment of bronchoalveolar lavage fluid from dogs with lower respiratory tract infection: 105 Cases (2001–2011). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27, 259–267.

- Kogan, D.A., Johnson, L.R., Jandrey, K.E. & Pollard, R.E. (2008). Clinical, clinicopathologic and radiographic findings in dogs with aspiration pneumonia: 88 cases (2004-2006). *Journal of the American Veterinary Medicine Association*, 233(11), 1742–1747.
- Kohanski, M.A., Dwyer, D.J. & Collins, J.J. (2010). How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nature Reviews Microbiology*, 8, 423-435.
- Kotra, L.P. & Mobashery, S. (1998).  $\beta$ -lactam antibiotics,  $\beta$ -lactamases and bacterial resistance. *Bulletin of Institute Pasteur*, 96,139-150.
- Lambert, P.A. (2002). Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Royal Society of Medicine*, 95 (Supl 41), 22-26.
- Lambert, P.A. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: Modified target sites. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, 1471-1485.
- Lappin, M.R., Blondeau, J., Boothe, D., Breitschwerdt, E.B., Guardabassi, L., Lloyd, D.H., Papich, M.G., Rankin, S.C., Sykes, J.E., Turnidge, J. & Weese, J.S. (2017). Antimicrobial use Guidelines for Treatment of Respiratory Tract Disease in Dogs and Cats: Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31, 279-294.
- Lee-Fowler, T.M. (2017) Transtracheal Wash and Bronchoscopy. In S.J. Ettinger, E.C. Feldman & E. Cote (Eds), *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. (8<sup>th</sup> ed.). (pp. 1109-1113). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Li, X.Z. & Nikaido, H. (2009). Efflux-mediated drug resistance in bacteria: an update. *Drugs*, 69, 1555-1623.
- Liwa, A.C. & Jaka, H. (2015). Antimicrobial resistance: Mechanisms of action of antimicrobial agents. In: Méndez-Vilas A. (Ed). *The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs*. (pp. 876-885). Badajoz, Espanha: Formatex.
- Macdonald, E.S., Norris, C.R., Berghaus, R.B., & Griffey, S.M. (2003). Clinicopathologic and radiographic features and etiologic agents in cats with histologically confirmed infectious pneumonia: 39 cases (1991-2000). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 223(8), 1142–1150.
- Magiorakos, A.P., Srinivasan, A., Carey, R.B., Carmeli, Y., Falagas, M.E., Giske, C.G., Harbarth, S., Hindler, J.F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D.L., Rice, L.B., Stelling, J., Struelens, M.J., Vatopoulos, A., Weber, J.T. & Monnet, D.L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18, 268 – 281.
- Mather, A.E., Reeve, R., Mellor, D.J., Matthews, L., Reid-Smith, R.J., Dutil, L., Haydon, D.T. & Reid, S.W.J. (2016). Detection of rare antimicrobial resistance profiles by active and passive surveillance approaches. *PLoS One*, 11(7), e0158515.
- McKee, E.E., Ferguson, M., Bentley, A.T. & Marks, T.A. (2006). Inhibition of Mammalian Mitochondrial Protein Synthesis by Oxazolidinones. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(6), 2042–2049.

- McKeegan, K.S., Borges-Walmsley, M.I. & Walmsley, A.R. (2002). Microbial and viral drug resistance mechanisms. *Trends in Microbiology*, 10, 8 – 14.
- McKiernan, B.C. (2000). Diagnosis and Treatment of Canine Chronic Bronchitis: Twenty years of experience. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 30, 1267-1278.
- Meijvis, S.C. Hardeman, H., Remmelts, H.H., Heijligenberg, R., Rijkers, G.T., van Velzen-Blad, H., Voorn, G.P., van de Garde, E.M., Endeman, H., Grutters, J.C., Bos, W.J. & Biesma, D.H. (2011). Dexamethasone and length of hospital stay in patients with community-acquired pneumonia: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet*, 11, 2023–2030.
- Mizgerd, J.P. (2008). Acute Lower Respiratory Tract Infection. *New England Journal of Medicine*, 358(7), 716 – 727.
- Morley, P.S., Apley, M.D., Besser, T.E., Burney, D.P., Fedorka-Cray, P.J., Papich, M.G., Traub-Dargatz, J.L. & Weese, J.S. (2005). Antimicrobial Drug Use in Veterinary Medicine. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19, 617– 629.
- Morrissey, I., Moyaert, H., de Jong, A., El Garch, F., Klein, U., Ludwig, C., Thiry, J. & Youala, M. (2016). Antimicrobial susceptibility monitoring of bacterial pathogens isolated from respiratory tract infections in dogs and cats across Europe: ComPath results. *Veterinary Microbiology*, 191, 44-51.
- Nelson, R.W. & Couto, C.G. (2014). *Small animal internal medicine* (5th ed.). St. Louis: Elsevier.
- Nuttall, T. & Cole, LK. (2007). Evidence-based veterinary dermatology: a systematic review of interventions for treatment of Pseudomonas otitis in dogs. *Veterinary Dermatology*, 18, 69 – 77.
- Pages, J.M., James, C.E. & Winterhalter, M. (2008). The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in gram-negative bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 6, 893 – 903.
- Peeters, D.E., McKiernan, B.C., Weisiger, R.M., Schaeffer, D.J. & Clercx, C. (2000). Quantitative bacterial cultures and cytological examination of bronchoalveolar lavage specimens in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14, 534 – 541.
- Perez, F., Endimiani, A., Ray, A.J., Decker, B.K., Wallace, C.J., Hujer, K.M., Ecker, D.J., Adams, M.D., Toltzis, P., Dul, M.J., Windau, A., Bajaksouzian, S, Jacobs, M.R., Salata, R.A. & Bonomo, R.A. (2010). Carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii and Klebsiella pneumoniae across a hospital system: impact of post-acute care facilities on dissemination. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65, 1807 – 1818.
- Pitout, J.D.D. & Laupland, K.B. (2008). Extended-spectrum b-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *The Lancet Infectious Diseases*, 8, 159 –166.
- Pomba, C., Rantala, M., Greko, C., Baptiste, K.E., Catry, B., van Duijkeren, E., Mateus, A., Moreno, M.A., Pyörälä, S., Ružauskas, M., Sanders, P., Teale, C., Threlfall, E.J., Kunsagi, Z., Torren-Edo, J., Jukes, H. & Törneke, K. (2016). Public health risk of antimicrobial resistance transfer from companion animals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72, 957 – 968.

- Proulx, A., Hume, D.Z., Drobatz, K.J. & Reineke, E.L. (2014). In vitro bacterial isolate susceptibility to empirically selected antimicrobials in 111 dogs with bacterial pneumonia. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 24(2), 194 – 200.
- Radhakrishnan, A., Drobatz, K.J., Culp, W.T. & King, L.G. (2007). Community-acquired infectious pneumonia in puppies: 65 cases (1993-2002). *Journal of the American Veterinary Medicine Association*, 230(10), 1493 –1497.
- Ramsey, I. (Ed.) (2014). *British small animal veterinary association small animal formulary*. 8th Edition: British Small Animal Veterinary Association. Quedgeley, Gloucs, United Kingdom.
- Rantala, M., Lahti, E., Kuhalampi, J., Pesonen, S., Järvinen, A-K., Saijonmaa-Koulumies, L. & Honkanen-Buzalski, T. (2004). Antimicrobial resistance in *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. in dogs given antibiotics for chronic dermatological disorders, compared with non-treated control dogs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 45, 37– 45.
- Rheinwald, M., Hartmann, K., Hähner, M., Wolf, G., Straubinger, R.K. & Schulz, B. (2014). Antimicrobial susceptibility of bacterial isolates from 502 dogs with respiratory signs. *Veterinary Record*, 176(14), 357.
- Rochford, C., Sridhar, D., Woods, N., Saleh, Z., Hartenstein, L., Ahlawat, H., Whiting, E., Dybul, M., Cars, O., Goosby, E., Cassels, A., Velasquez, G., Hoffman, S., Baris, E., Wadsworth, J., Gyansa-Lutterodt, M. & Davies, S. (2018). Global governance of antimicrobial resistance. *The Lancet*, 391(10134), 1976-1978.
- Rozanski, E. (2014). Canine Chronic Bronchitis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 44(1), 107 – 116.
- Safdar, N. & Maki, D.G. (2002). The commonality of risk factors for nosocomial colonization and infection with antimicrobial-resistant *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus*, gram-negative bacilli, *Clostridium difficile*, and *Candida*. *Annals of Internal Medicine*, 136, 834 – 844.
- Schmiedel, J., Falgenhauer, L., Domann, E., Bauerfeind, R., Prenger-Berninghoff, E., Imirzalioglu, C. & Chakraborty, T. (2014). Multiresistant extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae from humans, companion animals and horses in central Hesse, Germany. *BMC Microbiology*, 14(1), 187.
- Schultz, R.M & Zwingenberger, A. (2008) Radiographic, computed tomographic, and ultrasonographic findings with migrating intrathoracic grass awns in dogs and cats. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 49(3), 249 – 255.
- Smith, G.S. (2000). Neutrophils. In: B.F. Feldman, J.G. Zinkl & N.C. Jain (Eds.) *Schalm's Veterinary Hematology*, (5th ed.). (pp.281–296). Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Soares Magalhães, R.J., Loeffler, A., Lindsay, J., Rich, M., Roberts, L., Smith, H., Lloyd, D.H. & Pfeiffer, D.U. (2010). Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in dogs and cats: a case-control study. *Veterinary Research*, 41(5), 55.
- Speakman, A.J., Dawson, S., Corkill, J.E., Binns, S.H., Hart, C.A. & Gaskell, R.M. (2000). Antimicrobial susceptibility of canine *Bordetella bronchiseptica* isolates. *Veterinary Microbiology*, 71, 193 – 200.

- Stolle, I., Prenger-Berninghoff, E., Stamm, I., Scheufen, S., Hassdenteufel, E., Guenther, S., Bethe, A., Pfeifer, Y. & Ewers, C. (2013). Emergence of OXA-48 carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in dogs. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(12), 2802–2808.
- Sweeney, M.T., Lubbers, B.V., Schwarz, S. & Watts, J.L. (2018). Applying definitions for multidrug resistance, extensive drug resistance and pandrug resistance to clinically significant livestock and companion animal bacterial pathogens. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73, 1460–1463.
- Sykes, J.E. & Papich, M.G. (2014). *Canine and Feline Infectious Diseases*. St. Louis: Elsevier Saunders.
- Talaro, K.P. & Chess, B. (2017). *Foundations in Microbiology*. (10<sup>a</sup> Ed.) New York: McGraw-Hill Education.
- Tart, K.M., Babski, D.M. & Lee, J.A. (2010) Potential risks, prognostic indicators, and diagnostic and treatment modalities affecting survival in dogs with presumptive aspiration pneumonia: 125 cases (2005–2008). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 20(3) 319 – 329.
- Toutain, P.-L., Bousquet-Mélou, A., Damborg, P., Ferran, A.A., Mevius, D., Pelligand, L., Veldman, K.T. & Lees, P. (2017). En route towards european clinical breakpoints for veterinary antimicrobial susceptibility testing: a position paper explaining the VetCAST approach. *Frontiers in Microbiology* 8, 2344.
- Trow, A.V., Rozanski, E.A. & Tidwell, A.S. (2008). Primary mycoplasma pneumonia associated with reversible respiratory failure in a cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10, 398 – 402.
- Turnidge, J. & Paterson, D.L. (2007). Setting and revising antibacterial susceptibility breakpoints. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(3), 391 – 408.
- van Duijkeren, E., Catry, B., Greko, C., Moreno, M., Pomba, M.C., Pyörälä, S., Ružauskas, M., Sanders, P., Threlfall, E.J., Torren-Edo, J. & Törneke, K. (2011). Review on methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66, 2705 – 2714.
- van Duijkeren, E., Kamphuis, M., van der Mije, I.C., Laarhoven, L.M., Duim, B., Wagenaar, J.A. & Houwers, D.J. (2011). Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* between infected dogs and cats and contact pets, humans and the environment in households and veterinary clinics. *Veterinary Microbiology*, 150, 338 – 343.
- van Duijkeren, E., ten Horn L., Wagenaar, J.A., de Bruijn, M., Laarhoven, L., Verstappen, K., de Weerd, W., Meessen, N. & Duim, B. (2011). Suspected horse-to-human transmission of MRSA ST398 *Emerging Infectious Diseases*, 17(6), 1137 – 1139.
- van Hoek, A.H.A.M., Mevius, D., Guerra, B., Mullany, P., Roberts, A.P. & Aarts, H.J.M. (2011). Acquired antibiotic resistance genes: An overview. *Frontiers in Microbiology*, 2, 203.
- Vannuffel, P. & Cocito, C. (1996). Mechanism of action of streptogramins and macrolides. *Drugs*, 51, S20-S23.

- Velineni, S., Timoney, J.F., Russell, K., Hamlen, H.J., Pesavento, P., Fortney, W.D. & Crawford, P.C. (2014). Clones of *Streptococcus zooepidemicus* from outbreaks of hemorrhagic canine pneumonia and associated immune responses. *Clinical and Vaccine Immunology*, 21, 1246–1252.
- Viitanen, S.J., Lappalainen, A. & Rajamaki, M.M. (2015). Co-infections with respiratory viruses in dogs with bacterial pneumonia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29, 544 – 551.
- Walther, B., Tedin, K. & Lübke-Becker, A. (2017). Multidrug-resistant opportunistic pathogens challenging veterinary infection control. *Veterinary Microbiology*, 200, 71 – 78.
- Weese, J.S. & van Duijkeren, E. (2010). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Veterinary Microbiology*, 140, 418–429.
- Weese, J.S., Giguère, S., Guardabassi, L., Morley, P.S., Papich, M., Ricciuto, D.R. & Sykes, J.E. (2015). ACVIM Consensus Statement on Therapeutic Antimicrobial Use in Animals and Antimicrobial Resistance. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29, 487 – 498.
- Wernli, D., Jørgensen, P.S., Morel, C.M., Carroll, S., Harbarth, S., Levrat, N. & Pittet, D. (2017). Mapping global policy discourse on antimicrobial resistance. *BMJ Global Health*, 2, e000378.
- Wilke, M.S., Lovering, A.L. & Strynadka, N.C.J. (2005).  $\beta$ -Lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. *Current Opinion in Microbiology*, 8, 525 – 533.
- World Health Organization (2000). *WHO global principles for the containment of antimicrobial resistance in animals intended for food: Report of a WHO Consultation with the participation of the Food and Agriculture Organization of the United Nations and the Office International des Epizooties*. Geneva, Switzerland, 5-9 June. Acedido em ABR. 15, 2019, disponível em: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/68931/WHO\\_CDS\\_CSR\\_APH\\_2000.4.pdf?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/68931/WHO_CDS_CSR_APH_2000.4.pdf?sequence=1)
- World Health Organization (2019). *Critically Important Antimicrobials for Human Medicine – 6<sup>th</sup> Revision 2018*. Geneva: WHO. Acedido em AGO. 2, 2019, disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/312266/9789241515528-eng.pdf?ua=1>
- Ybarra, W.L., Johnson, L.R., Drazenovich, T.L., Johnson, E.G. & Vernau, W. (2012). Interpretation of multisegment bronchoalveolar lavage in cats (1/2001 –1/2011). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26, 1281 – 1287.

## Anexos

### Anexo 1 – Exemplos de antibióticos criticamente importantes, antibióticos muito importantes e antibióticos importantes (adaptado de WHO, 2019).

Classificação	Sub-Classificação	Exemplos de Antibióticos
<b>Antibióticos Criticamente Importantes</b>	Muito Alta Prioridade	Cefalosporinas (3 <sup>a</sup> , 4 <sup>a</sup> e 5 <sup>a</sup> geração)
		Glicopeptídeos
		Macrólidos e Cetólidos
		Polimixinas
		Quinolonas
	Alta Prioridade	Aminoglicosídeos
		Carbapenemos
		Gliciliclinas
		Lipopeptídeos
		Monobactâmicos
		Oxazolidinonas
		Penicilinas (aminopenicilinas c/ inibidores de $\beta$ -lactamases e anti-pseudomonas)
	<b>Antibióticos Muito Importantes</b>	-
Cefalosporinas (1 <sup>a</sup> e 2 <sup>a</sup> geração) e Cefamicinas		
Lincosamidas		
Penicilinas (amidinopenicilinas, anti-estafilococos e de espectro estreito)		
Estreptograminas		
Sulfonamidas, inibidores da diidrofolato redutase e combinações		
Tetraciclinas		
<b>Antibióticos Importantes</b>	-	Polipeptídeos cíclicos
		Nitrofurantoínas
		Nitroimidazois
		Pleuromutilinas

**Anexo 2 – Exemplos de antibióticos de primeira linha, segunda linha, terceira linha e restritos (adaptado de Brissot *et al.*, 2016).**

Categoria	Exemplos
<b>1ª Linha</b>	Penicilinas
	Cefalosporinas de 1ª geração
	Amoxicilina/ácido clavulânico
	Trimetropim/sulfametoxazol
	Tetraciclina
	Lincosamidas
<b>2ª Linha</b>	Aminoglicosídeos
	Metronidazol
	Macrolidos
	Cloranfenicol
	Fluoroquinolonas
	Cefovecina
<b>3ª Linha</b>	Cefalosporinas de 3ª e 4ª geração
	Rifampicina
	Fosfomicina
<b>Restritos</b>	Glicopeptídeos - vancomicina e teicoplanina
	Carbapenemos e Monobactâmicos
	Oxazolidinonas - linezolida
	Lipopeptídeos - daptomicina
	Riminoferazinas - clofazimina