

PERFIL DE SENSIBILIDADE DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE ANIMAIS DOMÉSTICOS NA REGIÃO DE BOTUCATU FRENTE AO CLORANFENICOL E FLORFENICOL

Antonio Carlos Paes¹
Simone Henriques Mangia²
Ana Paula Flamínio³
Gustavo Henrique Batista Lara⁴
Fernando José Paganini Listoni⁵

RESUMO

O advento dos antimicrobianos permitiu o controle e cura das doenças infecciosas, mudando a evolução natural das mesmas de forma marcante. Os resultados de programas locais de vigilância de resistência a antimicrobianos são de extrema importância, pois auxiliam a escolha da terapêutica empírica, especialmente em infecções no qual o diagnóstico etiológico é difícil. No caso específico da terapêutica antimicrobiana em animais de companhia, sabe-se da importância do cloranfenicol, pelo seu amplo espectro de ação e pela elevada lipossolubilidade que propicia ampla difusão pelas barreiras biológicas. Antimicrobiano sintético, derivado do propanodiol, o cloranfenicol possui em sua fórmula estrutural um grupo nitro que produz anemia aplásica irreversível em primatas. A primeira medida foi a remoção deste radical e sua substituição por um grupo metil sulfonil, resultando no tianfenicol. No entanto, este composto apresentou concentrações inibitórias mínimas maiores, em relação ao cloranfenicol, devido ao acúmulo celular lento e por essa razão, as bactérias adquiriram mais resistência ao tianfenicol. Dessa forma, alteraram-se substancialmente as características da molécula, substituindo o grupo hidróxido por um átomo de flúor, dando lugar a uma combinação precisa de amplo espectro, segurança e ausência de inconvenientes de resistência bacteriana, chamado de florfenicol. Porém o uso maciço e inadequado de antimicrobianos tem implicações no aumento das taxas de resistência microbiana, existindo uma relação direta entre o quantitativo de antimicrobianos usados e a incidência de resistência bacteriana. Este trabalho teve por objetivo verificar a sensibilidade dos principais agentes infecciosos nos animais, frente ao cloranfenicol e ao florfenicol e comparar o desempenho de ambos frente as mais diversas bactérias patogênicas. O estudo retrospectivo foi realizado através de 562 antibiogramas do Laboratório de Diagnóstico Microbiológico, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade Estadual Paulista – Campus Botucatu, no período de janeiro de 2000 a junho de 2006.

Palavras-chave: cloranfenicol, florfenicol, sensibilidade bacteriana, resistência bacteriana.

¹Professor Assistente Doutor da Disciplina de Enfermidades Infecciosas dos Animais, do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública – FMVZ – Unesp, Campus de Botucatu

e-mail: paesacmi@unesp.br

²Pós-graduanda da Disciplina de Enfermidades Infecciosas dos Animais, do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública – FMVZ – Unesp, Campus de Botucatu

e-mail: simangia@hotmail.com

³Pós-graduanda da Disciplina de Enfermidades Infecciosas dos Animais, do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública – FMVZ – Unesp, Campus de Botucatu

e-mail: apflaminio@hotmail.com

⁴Pós-graduando da Disciplina de Enfermidades Infecciosas dos Animais, do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública – FMVZ – Unesp, Campus de Botucatu

e-mail: gunnys7@gmail.com

⁵Técnico do Laboratório de Diagnóstico Microbiológico, da Disciplina de Enfermidades Infecciosas dos Animais, do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública – FMVZ – Unesp, Campus de Botucatu

e-mail: fernando.listoni@fmvz.unesp.br

SENSITIVITY PROFILE OF BACTERIA ISOLATED OF DOMESTIC ANIMALS IN THE REGION OF BOTUCATU TO CLORANFENICOL AND FLORFENICOL

ABSTRACT

The advent of antimicrobials allowed control and cure of the infectious diseases, changing disease's natural evolution in a remarkable way. The results of local programs that maintain vigilance regarding antimicrobials resistance are of high importance, because its role as auxiliary to choose empiric therapeutics, especially on infections whose etiologic diagnosis is difficult. Specifically on small animals antimicrobial therapy, it is known the importance of cloranfenicol, because its broad spectrum and high liposolubility allowing a wide diffusion through biological barriers. This synthetic, propanodiol-derived antimicrobial agent has in its structural formula a nitro group that provokes nonreversible aplasic anemia in primates. The first step was to remove this radical and substitutes for a metil sulfonil radical, resulting on tianfenicol. However, because its slow cellular storage, this compound showed higher minimum inhibitory concentrations (MIC) than cloranfenicol and so, the bacteria became easily resistant. Thus, the characteristics of this molecule were consistently modified, dropping the hidroxil group and adding a flour atom, arising this way an accurate, safe, non-resistance inducer, broad spectrum combination called florfenicol. However, the massive and inadequate use of antimicrobials has an effect on augment of antimicrobials resistance ratios, showing a direct relation between quantity of used antimicrobials and bacterial resistance incidence. The objective of this study was to verify the sensitivity of the main infectious agents in animals facing cloranfenicol and florfenicol, and to compare the efficiency of both of them against several pathogenic bacteria. The retrospective study was developed through 562 antibiograms, performed in the Laboratory of Microbiologic Diagnosis of the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science at São Paulo State University-Campus Botucatu, from January 2000, to June 2006.

Key words: cloranfenicol, florfenicol, bacterial sensitivity, bacterial resistance.

PERFIL DE SENSIBILIDAD DE BACTERIAS AISLADAS DE LOS ANIMALES DOMÉSTICOS EN LA REGIÓN DE BOTUCATU FRENTE AL CLORANFENICOL Y FLORFENICOL

RESUMEN

El advenimiento de los antimicrobianos permitió el control y cura de las enfermedades infecciosas, cambiando la evolución natural de las mismas de manera contundente. Los resultados de los programas locales de vigilancia de la resistencia de antimicrobianos son de importancia extrema, porque auxilian en la elección de la terapéutica empírica, especialmente en aquellas infecciones en las cuales es difícil el diagnóstico etiológico. En el caso específico de la terapéutica antimicrobiana en animales de compañía, es conocida la importancia del cloranfenicol, debido a su amplio espectro de acción y elevada liposolubilidad, la cual hace propicia una amplia difusión a través de barreras biológicas. Antimicrobiano sintético, derivado del propanodiol, el cloranfenicol posee en su fórmula estructural un grupo nitro que produce anemia aplásica irreversible en primates. La primera medida fue la remoción de este radical y su sustitución por un grupo metil sulfonil, resultando en tianfenicol. Sin embargo, este compuesto presentó concentraciones mínimas inhibitorias más altas con relación al cloranfenicol, debido a la acumulación celular lenta, razón por la cual las bacterias adquirieron más resistencia al tianfenicol. De esa manera, se alteraron sustancialmente las características de la molécula, sustituyendo el grupo hidroxilo por un átomo de flúor, lo que dio lugar a una combinación precisa de amplio espectro, segura y con ausencia de inconvenientes de resistencia bacteriana, llamado florfenicol. No obstante, el uso masivo e inadecuado de antimicrobianos tiene implicaciones en el aumento de las tasas de resistencia microbiana, existiendo una relación directa entre la cantidad de antimicrobianos usados y la incidencia de resistencia bacteriana. Este trabajo tiene por objetivo verificar la sensibilidad de los principales agentes infecciosos en los animales, frente al cloranfenicol y al florfenicol; y comparar el desempeño de ambos frente a las más diversas bacterias patógenas. El estudio retrospectivo fue realizado a través de 562 antibiogramas del Laboratorio de Diagnóstico

Microbiológico, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Estatal Paulista-Campus Botucatu, en el periodo de enero de 2000 a junio de 2006.

Palabras-clave: cloranfenicol, florfenicol, sensibilidad bacteriana, resistencia bacteriana.

INTRODUÇÃO

O advento dos antimicrobianos permitiu o controle e cura das doenças infecciosas, mudando a evolução natural das mesmas de forma marcante. Porém, dez anos após a descoberta da penicilina e antes da mesma estar disponível para uso clínico, foram identificadas beta-lactamases em bactérias, caracterizando resistência natural de algumas espécies e logo o surgimento de resistência adquirida aos antimicrobianos, fenômeno que na atualidade dificulta a terapêutica com essas drogas.

A escolha do antimicrobiano e das doses para o tratamento de doenças infecciosas depende da natureza e do local da infecção. Para ser eficaz, é necessário que o antimicrobiano atinja o local da infecção em concentração pelo menos equivalente à concentração inibitória mínima. Desta forma, se faz necessário conhecer as vias de absorção, distribuição, metabolização, excreção e efeitos colaterais dos antimicrobianos a serem usados (ROCHA, 2002).

A variabilidade no tipo e na frequência de agentes etiológicos e, particularmente, de sua interação com antimicrobianos, exige correlacionar periodicamente dados clínicos e microbiológicos com intuito de atualizar e direcionar a antibioticoterapia (MARTINEZ et al., 1996).

No caso específico da terapêutica antimicrobiana em animais de companhia, sabe-se da importância do cloranfenicol, pelo seu amplo espectro de ação e pela elevada lipossolubilidade que propicia ampla difusão pelas barreiras biológicas. Este antimicrobiano tem seu uso proibido em animais de produção devido aos efeitos colaterais sobre a medula óssea da espécie humana. O aparecimento de um sucedâneo, o florfenicol, com o uso permitido em animais de produção, permite agora uma comparação sobre a real efetividade destas duas drogas frente a uma ampla variedade de bactérias de importância em Medicina Veterinária.

Este foi o propósito de apresentar os dados de sensibilidade ao florfenicol e o cloranfenicol das principais bactérias isoladas, de um levantamento realizado no Laboratório de Diagnóstico Microbiológico da Disciplina de Enfermidades Infecciosas dos Animais, do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), da Universidade Estadual de Paulista (UNESP), Campus Botucatu.

BREVE HISTÓRICO

O cloranfenicol é um antimicrobiano obtido a partir do fungo *Streptomyces venezuelae*, em 1947, em uma amostra de solo coletada na Venezuela, por Burkholder e por pesquisadores da Universidade de Illinois e, na época, foi denominado cloromicetina. Neste mesmo ano foi empregado em um surto de tifo epidêmico na Bolívia e num surto de tifo exantemático na Península Malaia e em ambos apresentou resultados extraordinários (REYES, 1987 apud FIOL e AVALLONE, 2005).

A partir de 1949, no laboratório Parke-Davis, Controulis e cols. conseguiram a síntese laboratorial e denominaram, então, a substância como cloranfenicol (TAVARES, 2001).

O cloranfenicol como antimicrobiano sintético, derivado do propanodiol, (TAVARES, 2001) e possui na sua fórmula estrutural um grupo nitro em sua molécula, que produz anemia aplásica irreversível, que não está relacionada com a dose ou com o tempo de administração, em humanos e primatas não humanos, sendo inócuo para outras espécies animais (ESPINASSE, 1995).

Como o cloranfenicol oferece muitas vantagens terapêuticas, realizaram-se numerosas pesquisas com o objetivo de encontrar uma molécula similar que não oferecesse riscos para o homem. Dessa maneira, a primeira medida foi a remoção do radical nitro e sua substituição por um grupo metil sulfonil, resultando em um derivado conhecido como tianfenicol. Essa molécula foi usada amplamente na Europa, a partir da década de 1980 em mais de 60 milhões de pacientes humanos, sem que fosse encontrado indício de anemia aplásica. No entanto, sua eficiência não foi alta como a do cloranfenicol, já que as concentrações inibitórias mínimas foram maiores devido ao acúmulo celular lento e por essa razão, as bactérias adquiriram mais resistência ao tianfenicol (ESPINASSE, 1995).

No ano de 1980 desenvolveram-se derivados do tianfenicol substituindo o grupo hidróxido por um átomo de flúor. Dessa forma, foram modificadas substancialmente as características da molécula, dando lugar a uma combinação precisa de amplo espectro, segurança e ausência de

inconvenientes de resistência bacteriana. O florfenicol apresentou de imediato as seguintes vantagens: redução pela metade da possibilidade de ação da enzima acetil transferase, o que o torna menos suscetível a inativação, diminuindo a possibilidade de aparecimento de cepas resistentes; o local de ação sobre as bactérias é mais seletivo, atuando diretamente sobre um receptor, na fração 70S dos ribossomos alterando a função da enzima peptil transferase (ESPINASSE, 1995).

CARACTERÍSTICAS GERAIS E MECANISMO DE AÇÃO

O cloranfenicol é um antimicrobiano de amplo espectro, bacteriostático, inibindo a síntese protéica microbiana (CARVALHO, 2002). A droga impede a ligação do RNA-mensageiro ao ribossomo, por fixar-se na fração 30S do ribossomo, competindo com o ácido nucléico. Porém, sua ação mais importante resulta de sua ligação à fração 50S do ribossomo, inibindo a ação da enzima peptidil-transferase, bloqueando a união dos aminoácidos na formação do polipeptídeo (TAVARES, 2001).

O cloranfenicol tem pequena afinidade pelo ribossomo das células de mamíferos, o que explica sua ação seletiva sobre as bactérias. Contudo, a síntese das proteínas das mitocôndrias é similar à que ocorre nos ribossomos 70S das bactérias e a inibição é responsável pela toxicidade hematológica causada pela droga, levando à depressão medular. Esta toxicidade é reversível com a retirada do fármaco ou redução de sua dose (TAVARES, 2001; REVIERE e PAPICH, 2003).

Nos animais domésticos não são relatados efeitos sobre a medula óssea, exceto nos gatos. As alterações encontradas nesta espécie se caracterizaram por hipocelularidade, decréscimo da atividade mitótica, parada de maturação eritróide, vacuolização das células precursoras e posterior decréscimo no número de neutrófilos, linfócitos, reticulócitos e plaquetas (WATSON, 1991). No entanto, os efeitos tóxicos observados foram reversíveis, e a severidade dos mesmos foi relacionada com a dose. Além dos efeitos hematológicos descritos, estes animais eliminaram o cloranfenicol de forma mais lenta, devido à deficiência da glicuronização da droga no fígado (WATSON, 1991; WATSON e GREENE, 2006; PAPICH e RIVIERE, 2003).

O cloranfenicol possui alto grau de lipossolubilidade o que em conjunto com a sua baixa ligação a proteínas e baixo peso molecular, proporciona excelente difusão em tecidos e fluídos e barreiras biológicas (CARVALHO, 2002).

A grande penetração tecidual do cloranfenicol é útil no tratamento de infecções causadas por bactérias sensíveis ao mesmo, em vários locais de tecidos moles, incluindo sistema nervoso central, olhos e próstata. Outras utilidades atribuídas incluem o baixo nível de toxicidade em cães, adequação para uso oral e parenteral, e vantagem substancial no preço com relação às novas drogas antimicrobianas (WATSON, 1991). Este deve ser escolhido para tratamento de infecções por *Salmonella* spp. e *Escherichia* spp. no trato gastrointestinal (REVIERE e PAPICH, 2003).

Com relação a sua biodisponibilidade atinge grande concentração no fígado, pulmão, coração, baço, tecido linfóide, bile, saliva, líquidos pleural, sinovial e ascítico. Sua concentração no interior de abscessos e no humor vítreo e humor aquoso correspondem a 15% a 20% da concentração sanguínea máxima. É pequena sua concentração na próstata não inflamada. Atravessa a placenta atingindo níveis no feto correspondentes a 30% a 80% dos existentes no sangue materno, mas não atinge níveis terapêuticos no líquido amniótico. É muito pequena sua concentração em ossos compactos e medula óssea (TAVARES, 2001).

O cloranfenicol apresenta excelente passagem para o tecido cerebral e o líquido cerebrospinal. No líquido cefalorraquidiano, mesmo na ausência de meningite, sua concentração atinge cerca de 50% da sanguínea. No cérebro e em abscessos cerebrais a concentração alcançada pode ser nove vezes superior a existente no sangue (TAVARES, 2001).

Quatro mecanismos de resistência ao cloranfenicol foram descritos, sendo o mais importante mediado por plasmídios, devido à presença da enzima cloranfenicol acetiltransferase, que catalisa uma reação que modifica os grupos hidroxil do fármaco. Outros mecanismos de resistência incluem permeabilidade reduzida da membrana celular bacteriana, capacidade alterada de ligação na subunidade ribossômica 30S e inativação por nitrorredutases (REVIERE e PAPICH, 2003). No florfenicol, a substituição do grupo hidroxil no carbono três por um átomo de flúor evita a acetilação pela cloranfenicol acetiltransferase e por essa razão confere ao antimicrobiano atividade contra microrganismos resistentes ao cloranfenicol (SAMS, 1997).

O florfenicol demonstrou em muitos ensaios ser altamente seguro e seu espectro de ação é muito amplo, tendo sido demonstrado em diversos trabalhos de sensibilidade, que em comparação com outras drogas, sua concentração mínima inibitória é muito inferior (ESPINASSE, 1995). Porém, ainda não foi relatado nenhum estudo que compare a suscetibilidade ou a eficácia do florfenicol frente ao cloranfenicol (REVIERE e PAPICH, 2003).

O florfenicol é solúvel em solventes orgânicos polares, mas é pouco solúvel em água e em meios aquosos ácidos e alcalinos e apresenta solubilidade relativamente alta em lipídios, o que se reflete na ampla distribuição do medicamento nos tecidos (SAMS, 1997). Como o cloranfenicol, o florfenicol possui baixa ligação às proteínas o que explica seu grande volume de distribuição tecidual (VARMA, 1997; REVIERE e PAPICH, 2003).

O florfenicol não foi aprovado para uso humano; entretanto, como o cloranfenicol, foi selecionado para quebrar a resistência de vários patógenos e tem demonstrado um espectro de ação similar ao seu precursor, exceto por sua ação em concentração menor (WHITE et al., 2000).

Devido à variação na sensibilidade de uma bactéria a determinado antimicrobiano, que pode ser explicada pelo desenvolvimento de resistência, tanto intrínseca (gênero ou espécie-específica) como adquirida (mutação, transdução, transposição, transformação ou conjugação) (TURNIDGE e JORGENSEN, 1999). A resistência intrínseca, própria da bactéria, determina o espectro do antimicrobiano. Já a resistência adquirida, pode ser decorrente, entre outros fatores, da interação com o antimicrobiano. Assim, o uso freqüente de um determinado antimicrobiano pode resultar em seleção de cepas de uma espécie bacteriana resistente, causando falha terapêutica (SCHAEFFER, 2000). Desta forma, o atual estudo compara o desempenho de antimicrobianos utilizados na Medicina Veterinária frente as mais diversas bactérias patogênicas.

Este trabalho teve por objetivo verificar, pelo levantamento de 562 antibiogramas realizados no período de janeiro de 2000 a junho de 2006, a sensibilidade dos principais agentes infecciosos nos animais frente ao cloranfenicol e florfenicol.

MATERIAL E MÉTODOS

AMOSTRAS BACTERIANAS

Foi realizado um estudo retrospectivo de resultados de 562 antibiogramas realizados no período de janeiro de 2000 a junho de 2006, sendo possível delinear um perfil de sensibilidade dos principais agentes infecciosos, nas diversas espécies de animais domésticos, frente ao cloranfenicol e florfenicol. Os resultados dos exames procederam do banco de dados do Laboratório de Diagnóstico Microbiológico da Disciplina de Enfermidades Infecciosas dos Animais, do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, da FMVZ - UNESP, Campus de Botucatu.

O levantamento dos dados levou em consideração apenas as bactérias isoladas. Após o isolamento e identificação da bactéria, foi realizado o antibiograma e análise destes resultados. E para melhor delineamento do perfil de sensibilidade proposto, foram retiradas as bactérias de reduzida importância clínica e as que possuíam tamanho amostral pouco relevante.

BACTÉRIAS PESQUISADAS

Gram-positivas: *Arcanobacterium pyogenes*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Corynebacterium* spp., *Micrococcus* spp., *Rhodococcus equi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus* β -hemolítico, *Streptococcus* spp., *Streptococcus zooepidemicus*, *Streptococcus* α -hemolítico, *Streptococcus* β -hemolítico.

Gram-negativas: *Mannheimia haemolytica*, *Moraxella bovis*, *Pasteurella* spp., *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas* spp. **Enterobactérias:** *Citrobacter freundii*, *Citrobacter* spp., *Edwardsiella tarda*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella* spp.

ANTIMICROBIANOS ANALISADOS

Os antimicrobianos estudados foram cloranfenicol e florfenicol, sendo que cada um foi estudado individualmente ao longo dos períodos.

PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

Todas as culturas foram realizadas no Laboratório de Diagnóstico Microbiológico, da Disciplina de Enfermidades Infecciosas dos Animais, do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, da FMVZ – UNESP, Campus Botucatu. O padrão do antibiograma obedece às normas do *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) do ano de 2001. As amostras foram submetidas ao exame microbiológico, em placas de Petri contendo os meios ágar-sangue ovino desfibrinado a 5% e ágar MacConkey. As placas foram mantidas em aerobiose e incubadas à temperatura de 37°C, com leitura após 24 horas para observação do desenvolvimento microbiano. Os microrganismos foram identificados de acordo com as características macroscópicas das colônias, morfo-tintoriais pela coloração de Gram e provas bioquímicas de acordo com Krieg e Holt (1984). Após a identificação dos patógenos, as colônias foram repicadas, com auxílio de estilete de platina, em caldo BHI (Brain Heart Infusion) para enriquecimento do microrganismo e posterior semeadura em placa contendo ágar Müller-Hinton. Para a realização do teste de sensibilidade foi utilizado o método de Kirby-Bauer ou método de difusão com discos de antimicrobianos, conforme o NCCLS. Os discos são padronizados em tamanho e fabricados por Cecon[®] ou Sensifar[®], com a concentração de 30 µg de cloranfenicol e florfenicol, assim como a sua leitura, estabelecidos por normas internacionais, conforme o NCCLS, baseada no diâmetro de controle em limites por milímetros, utilizando-se cepas de *S. aureus* (ATCC 29213), *E. coli* (ATCC 25922), *S. pneumoniae* (ATCC 49619).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisados um total de 562 prontuários de resultados de isolamento bacteriano, contendo dados clínicos, amostras bacterianas e resultados, sendo que as amostras estão representadas em sua quantidade. Os resultados da avaliação da sensibilidade ao cloranfenicol e florfenicol a mais de 30 patógenos, são evidenciados na Tabela 1, que permite, de forma discriminada, a comparação da potência dos antimicrobianos.

Pela análise realizada foi possível observar a sensibilidade das bactérias Gram-positivas, como demonstra a Figura 1, com a maioria delas sensível ao florfenicol e cloranfenicol, com índices acima de 60 %. Como foi necessário agrupar todas as espécies de estafilococos para melhor delineamento, podemos destacar, pela Tabela 1, duas amostras de *Staphylococcus* spp que apresentaram-se resistentes ao cloranfenicol e 50% de resistência ao florfenicol.

Na Figura 1 foi possível identificar que as bactérias Gram-positivas, *Micrococcus* spp e o grupo de estafilococos, apresentaram um perfil de sensibilidade menor frente ao cloranfenicol, porém ultrapassam o índice de 60 % das amostras.

Staphylococcus aureus multiresistentes, sensíveis apenas aos glicopeptídeos e, eventualmente, à rifampicina, cloranfenicol, quinolonas e ácido fusídico, têm sido isoladas principalmente de casos de infecção hospitalar (MARTINEZ et al., 1996). Mesmo que as amostras não tenham sido isoladas de casos com infecção hospitalar, as espécies de *Staphylococcus aureus* (12 amostras) foram sensíveis a ambos antimicrobianos, com índice de sensibilidade de 75% e 100% ao cloranfenicol e florfenicol, respectivamente.

Com relação às bactérias Gram-negativas, estas apresentaram perfis de sensibilidade semelhantes frente a ambos os antimicrobianos testados, com índices altos com relação à sensibilidade (Figuras 1 e 3), com exceção de *Pseudomonas* spp. e *Pseudomonas aeruginosa*, sendo as 22 amostras isoladas resistentes ao cloranfenicol e florfenicol, como demonstra a Tabela 1 e a Figura 3.

Segundo Varma et al. (1997), de um grupo de 15 microrganismos resistentes ao cloranfenicol somente *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* spp exibiram resistência a ambos antibióticos testados.

Embora na generalidade as bactérias se mostrem sensíveis à ação do cloranfenicol, a resistência primária à droga é observada usualmente com a *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Providencia* e *Proteus rettgeri* (TAVARES, 2001).

Ainda na Figura 4, pode-se constatar que as espécies *Mannheimia haemolytica* e *Pasteurella multocida* apresentaram 100% de sensibilidade aos dois antimicrobianos.

Para melhor avaliação da sensibilidade do grupo das enterobactérias foi realizado um estudo por gráficos separados, já que apresentavam índices divergentes dentro do próprio grupo.

As enterobactérias podem ser arbitrariamente agrupadas em três categorias: patógenos principais, patógenos oportunistas e não-patógenos. Patógenos oportunistas ocasionalmente causam doença clínica em locais fora do trato alimentar. Os principais patógenos de animais podem causar doenças entéricas e sistêmicas, como *E. coli* e *Salmonella* spp. (QUINN et al., 2005).

No estudo realizado por Bellingi (1997), foi demonstrada a excelente atividade do florfenicol sobre *Escherichia coli* enteropatogênica, *in vitro* e alto índice de cura clínica dos animais tratados com a droga. O florfenicol é altamente eficaz para o tratamento de enterites infecciosas em bezerros relacionadas com *E. coli* enteropatogênica, mesmo em casos onde infecções mistas estejam presentes.

No experimento de Mota et al. (2000), com relação à sensibilidade antimicrobiana *in vitro*, observou-se que 87,8% das amostras de *Escherichia coli* isoladas de leitões e bezerros mostraram-se sensíveis ao florfenicol. A *Escherichia coli* é a bactéria mais frequentemente isolada de amostras fecais de bezerros e leitões com diarreia nos rebanhos estudados. A utilização do florfenicol no tratamento de diarreia nestas espécies mostrou eficácia de 90 e 85%, respectivamente, para leitões e bezerros, sendo considerada uma boa indicação terapêutica para esta enfermidade em condições de campo.

O cloranfenicol é efetivo frente a uma variedade de patógenos, incluindo *Mycoplasma* spp, *Rickettsia* spp, *Ehrlichia* spp, *Chlamydia* spp, *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp, *Pasteurella* spp, *Bordetella* spp, *Haemophilus*, e Enterobactérias, incluindo *Escherichia* spp, *Proteus* spp, e *Salmonella* spp. (GREENE e WATSON, 2006).

Contraditoriamente ao descrito por Greene e Watson (2006), o estudo realizado demonstrou que em 241 amostras isoladas de *E. coli* apenas 43,15% foram sensíveis ao cloranfenicol. No entanto, o florfenicol demonstrou uma atividade mais efetiva frente a este microrganismo, com 58,92% das amostras sensíveis, compatível com o descrito pelos outros autores citados, porém as amostras estudadas não foram isoladas apenas de enfermidades do trato gastrointestinal. Sugere-se que esse índice de sensibilidade possa ser menor pela ocorrência em outras espécies domésticas, que são tratadas rotineiramente com antimicrobianos, demonstrando já um grau de resistência ao florfenicol, quando comparado aos estudos de Mota et al. (2000) e Bellingi (1997).

As bactérias do gênero *Salmonella* apresentaram sensibilidade alta frente ao cloranfenicol, no entanto mostraram-se resistentes ao florfenicol. Em equinos, o cloranfenicol, é recomendado para o tratamento de salmoneloses, peritonites e endometrites, entretanto, são disponibilizados agentes antimicrobianos alternativos com perfis farmacocinéticos mais favoráveis nesta espécie (PAGE, 1991).

Segundo Quinn et al. (2005) a terapia antimicrobiana deve ser baseada em resultados de teste de susceptibilidade, porque plasmídios R que codificam para resistência múltiplas são comparativamente comuns em salmonelas.

O florfenicol mantém excelente absorção no intestino, o que favorece seu emprego em Medicina Veterinária, pois o produto pode ser administrado com a ração, alcançando níveis plasmáticos que só seriam obtidos por outros antibióticos com aplicação parenteral (ESPINASSE, 1995).

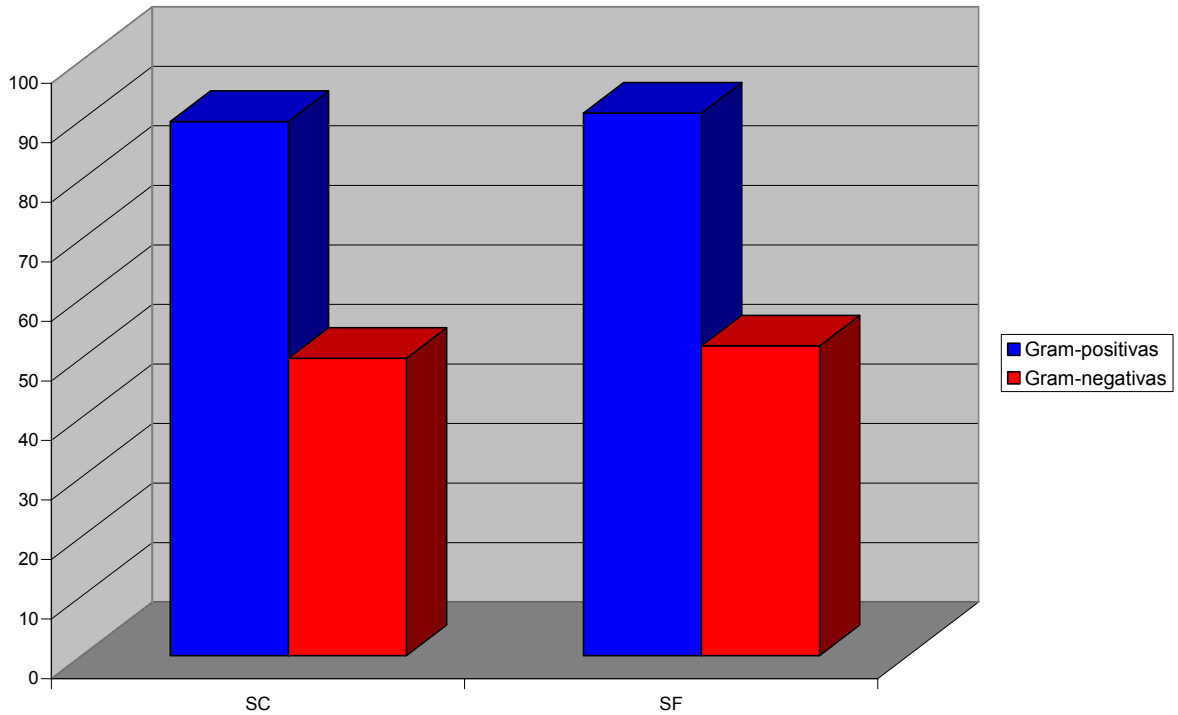
Sugere-se também que o uso indiscriminado do florfenicol na Medicina Veterinária, pela sua facilidade de administração, pode favorecer o aparecimento de bactérias com o perfil das salmonelas isoladas em nossa pesquisa, que demonstraram resistência ao antimicrobiano.

As bactérias *P. mirabilis* e *P. vulgaris* mantiveram o perfil descrito por Tavares (2001), demonstrando sensibilidade a ambos antimicrobianos estudados.

TABELA 1. Perfil de sensibilidade microbiana ao cloranfenicol e florfenicol das amostras bacterianas isoladas de animais.

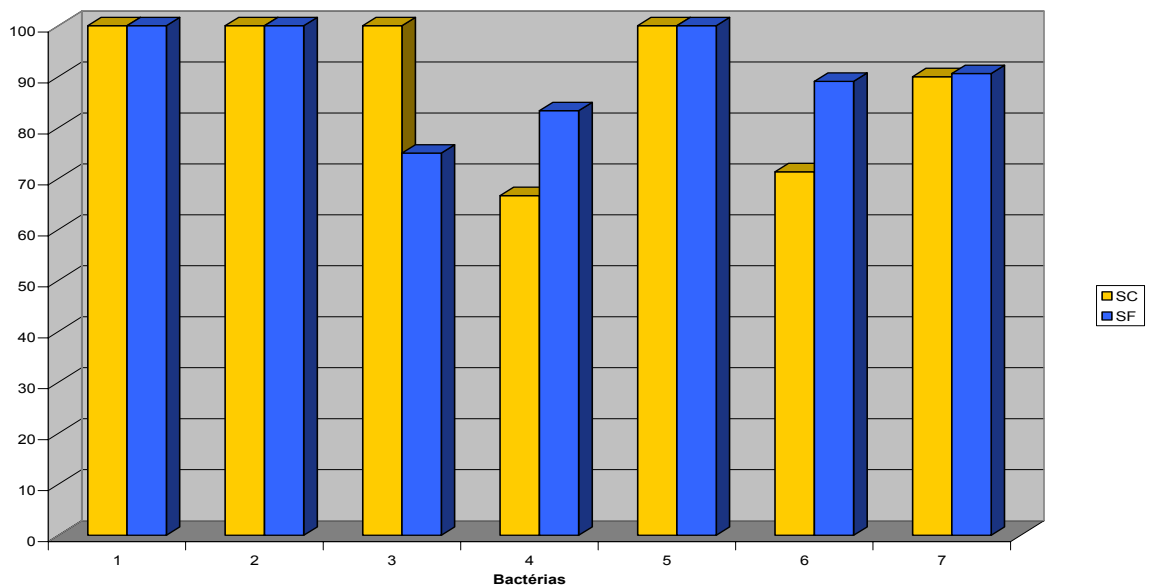
BACTÉRIA	CLORANFENICOL	FLORFENICOL	TOTAL
	S (%)	S (%)	amostras
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	100,00	100,00	15
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	3
<i>Citrobacter</i> spp.	16,67	66,67	6
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	100,00	100,00	5
<i>Corynebacterium</i> spp.	100,00	75,00	8
<i>Edwardsiella tarda</i>	100,00	75,00	4
<i>Enterobacter aerogenes</i>	75,00	41,67	12
<i>Enterobacter agglomerans</i>	0	33,33	3
<i>Enterobacter cloacae</i>	50,00	50,00	6
<i>Enterobacter</i> spp.	60,00	60,00	5
<i>Escherichia coli</i>	43,15	58,92	241
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	58,33	66,67	12
<i>Mannheimia haemolytica</i>	100	100,00	21
<i>Micrococcus</i> spp.	66,67	83,33	6
<i>Moraxella bovis</i>	80,00	80,00	5
<i>Pasteurella</i> spp.	80,00	80,00	5
<i>Pasteurella multocida</i>	100,00	100,00	18
<i>Proteus mirabilis</i>	69,23	57,69	26
<i>Proteus vulgaris</i>	66,67	66,67	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	13
<i>Pseudomonas</i> spp.	0	0	9
<i>Rhodococcus equi</i>	100,00	100,00	3
<i>Salmonella</i> spp.	80,00	20,00	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	75,00	100,00	12
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100,00	100,00	5
<i>Staphylococcus intermedius</i>	100,00	100,00	1
<i>Staphylococcus</i> spp.	0	50,00	2
<i>Staphylococcus β-hemolítico</i>	81,82	95,45	44
<i>Streptococcus</i> spp.	90,00	70,00	10
<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	100,00	100,00	3
<i>Streptococcus α-hemolítico</i>	80,00	100,00	5
<i>Streptococcus β-hemolítico</i>	90,00	92,50	40
Total de amostras			562

*S (%) = porcentagem de amostras sensíveis.



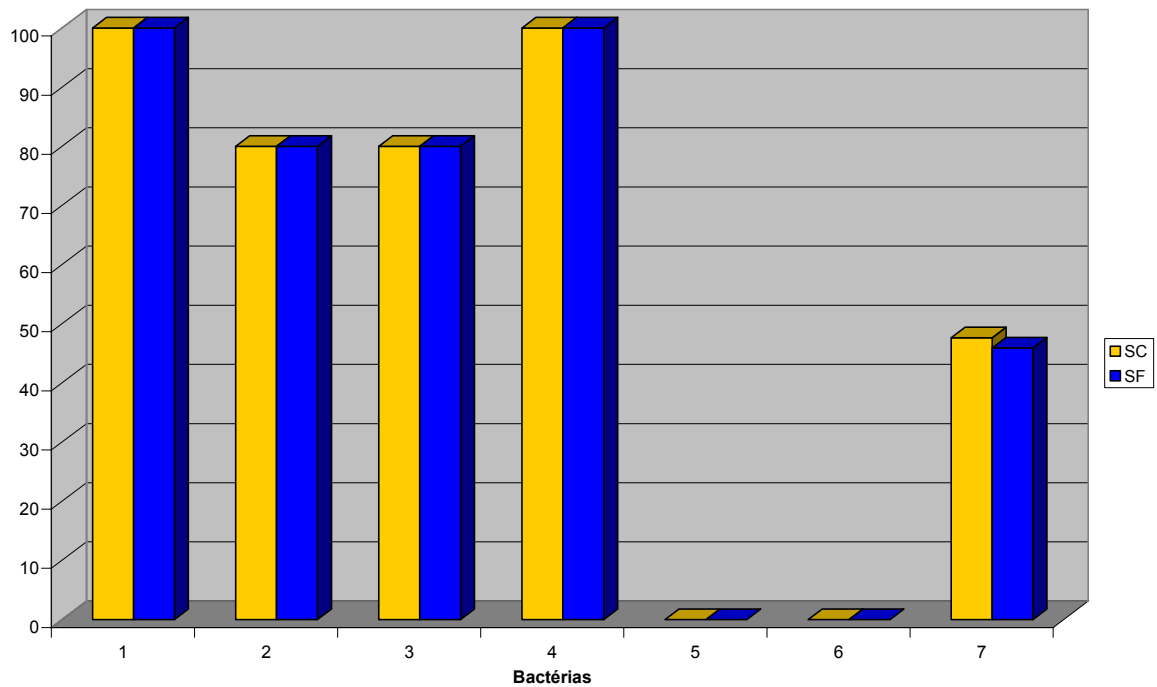
SC = sensibilidade ao Cloranfenicol; SF = sensibilidade ao Florfenicol

FIGURA 1. Perfil de sensibilidade das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas ao Cloranfenicol e Florfenicol.



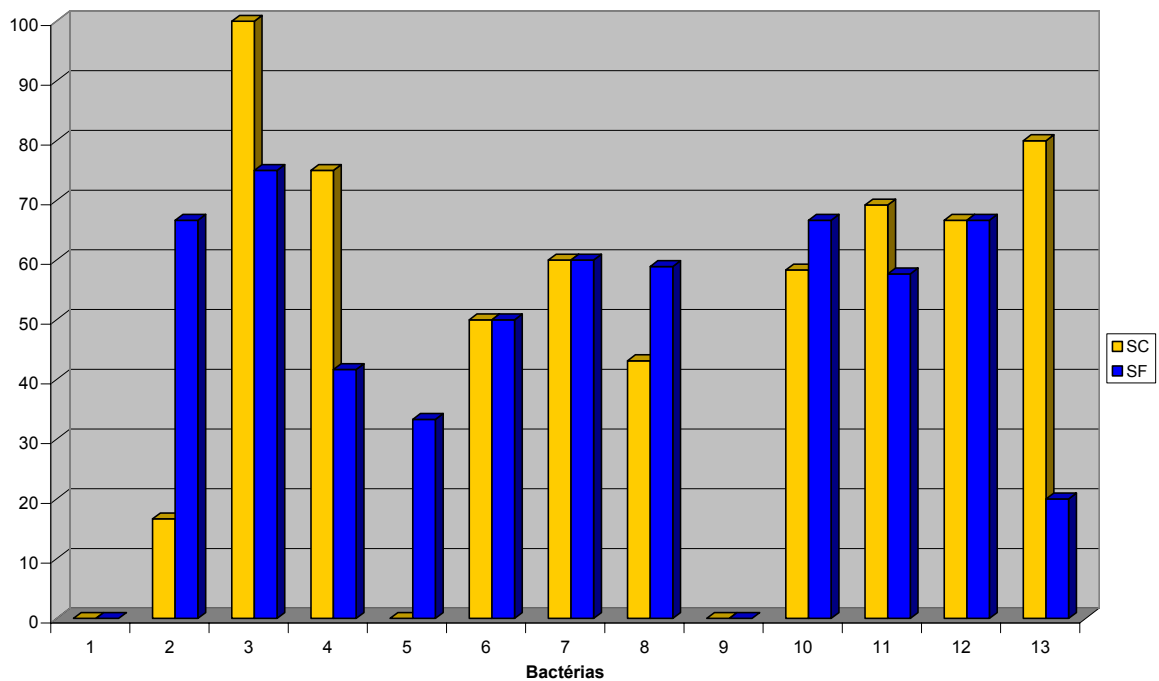
*SC = sensibilidade ao Cloranfenicol; *SF = sensibilidade ao Florfenicol; **Bactérias:** 1- *A. pyogenes*; 2- *C. pseudotuberculosis*; 3- *Corynebacterium* spp.; 4- *Micrococcus* spp.; 5- *R. equi*; 6- Grupo de estafilococos; 7- Grupo de estreptococos.

FIGURA 2. Sensibilidade das bactérias Gram-positivas ao Cloranfenicol e Florfenicol.



*SC = sensibilidade ao Cloranfenicol; *SF = sensibilidade ao Florfenicol; **Bactérias:** 1- *M. haemolytica*; 2- *M. bovis*; 3- *Pasteurella* spp.; 4- *P. multocida*; 5- *P. aeruginosa*; 6- *Pseudomonas* spp.; 7- Enterobactérias.

FIGURA 3. Sensibilidade das bactérias Gram-negativas ao Cloranfenicol e Florfenicol.



*SC = sensibilidade ao Cloranfenicol; *SF = sensibilidade ao Florfenicol; **Bactérias:** 1- *C. freundii*; 2- *Citrobacter* spp.; 3- *E. tarda*; 4- *E. aerogenes*; 5- *E. agglomerans*; 6- *E. cloacae*; 7- *Enterobacter* spp.; 8- *E. coli*; 9- *K. oxytoca*; 10- *K. pneumoniae*; 11- *P. mirabilis*; 12- *P. vulgaris*; 13- *Salmonella* spp.

FIGURA 4. Sensibilidade das Enterobactérias ao Cloranfenicol e Florfenicol.

CONCLUSÃO

Ambos antimicrobianos testados foram eficientes tanto nas bactérias gram-positivas, como nas bactérias gram-negativas, não havendo diferenças percentuais entre os dois. No grupo das enterobactérias há algumas divergências com relação à literatura consultada, referente ao perfil da *E. coli*, já que o florfenicol mostrou-se mais efetivo do que o cloranfenicol e no perfil das salmonelas, que mostraram sensibilidade ao cloranfenicol e resistência ao florfenicol. Sugere-se a importância de realizar periodicamente estudos retrospectivos referentes à ação dos antimicrobianos, já que podem apresentar eficiência diferente da descrita na literatura. Destaca-se, desta forma, a importância da realização do cultivo e antibiograma, quando possível, nas principais infecções.

REFERÊNCIAS

BELLINGI, G.C. Avaliação da eficácia do florfenicol na síndrome diarréica dos bezerros em propriedades argentinas. **Hora Vet.**, v.16, p.40-41, 1997.

CARVALHO, F.L.Q. Lincosamidas, tetraciclina e cloranfenicol. In: SILVA, P. 6.ed. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.1050-1057.

ESPINASSE, J. **Nuflor**: terapia antibiótica & doenças respiratórias dos bovinos. Rio de Janeiro: Indústria e Farmacêutica Shering-Plough S/A, 1995. 99p.

FIOL, F.S.; AVALLONE, A.M. Uso de cloranfenicol na gestação. **Rev. Eletron. Farm.**, v.2, p.31-37, 2005.

GREENE, C.E.; WATSON, A.D.J. Antibacterial chemotherapy. In: GREENE, C.E.; WATSON, A.D.J. **Infectious disease of the dog and cat**. 2.ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2006. p.274-301.

MARTINEZ, R.; GIRONI, R.H.A.R.; SANTOS, V.R. Sensibilidade bacteriana a antimicrobianos, usados na prática médica – Ribeirão Preto – SP – 1994. **Medicina, Ribeirão Preto**, v.29, p.278-284, 1996.

MOTTA, R.A.; DA SILVA, K.P.C.; RIBEIRO, T.C.F.; RAMOS, G.A.B.; DE LIMA, E.T.; DA SILVA, L.B.G.; ZÜNIGA, C.E.A. Eficácia do nuflor no tratamento diarreias em bezerros e leitões. **Hora Vet.**, Edição especial, p.3-6, 2000.

PAGE, S.W. Chloranphenicol 3. Clinical pharmacology of systemic use in the horse. **Aust. Vet. J.**, v.68, p.5-7, 1991.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.C.; LEONARD, F.C.; MAGUIRE, D. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 512p.

RIVIERE, J.E.; PAPICH, M.G. Cloranfenicol e derivados, macrolídeos, lincosamidas e antimicrobianos diversos. In: ADAMS, H.R. **Farmacologia e terapêutica em veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p.726-749.

ROCHA, H. Normas para seleção de antibióticos para uso clínico. In: SILVA, P. 6.ed. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.992-1000.

SAMS, R.A. Florfenicol: propriedades químicas e metabolismo de um novo antibiótico de largo espectro. **Hora Vet.**, v.16, p.19-22, 1997.

SCHAEFFER, A.J. Urinary tract infections: antimicrobial resistance. **Curr. Opin. Urol.**, v.10, p.23-24, 2000.

TAVARES, W. Cloranfenicol e tianfenicol. In: TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos**. 3ed. São Paulo: Atheneu, 2001. p.721-733.

TURNIDGE, J.D.; JORGENSEN, J.H. Antimicrobial susceptibility testing: general considerations. In: MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; PFALLER, M.A.; TENOVER, F.C.; YOLKEN, R.H. **Manual of clinical microbiology**. 7.ed. Washington: ASM Press, 1999. p.1469-1473.

VARMA, J.K. Microbiologia, disponibilidade farmacocinética e segurança do florfenicol em bovinos. **Hora Vet.**, v.16, p.24-28, 1997.

WATSON, A.D.J. Chloranphenicol 2. Clinical pharmacology in dogs and cats. **Aust. Vet. J.**, v.68, p.2-5, 1991.

WHITE, D. G. et al. Characterization of chloranphenicol and florfenicol resistance in *Escherichia coli* associated with bovine diarrhea. **J. Clin. Microbiol.**, v.38, p.4593-4598, 2000.

Recebido em: 03/09/2007

Aceito em: 05/08/2008