



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Faculdade de Medicina Veterinária
Câmpus de Araçatuba

Reinaldo Augusto Ferreira Victor

**PERFIL DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS
FRENTE À PSEUDOMONAS AERUGINOSA
ISOLADAS DE AFECÇÕES OFTÁLMICAS EM
DIVERSAS ESPÉCIES: REVISÃO SISTEMÁTICA**

**Araçatuba – São Paulo
2017**

Reinaldo Augusto Ferreira Victor

**PERFIL DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS
FRENTE À PSEUDOMONAS AERUGINOSA
ISOLADAS DE AFECÇÕES OFTÁLMICAS EM
DIVERSAS ESPÉCIES: REVISÃO SISTEMÁTICA**

Trabalho Científico, como parte do Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, câmpus de Araçatuba, para obtenção do grau de Médico Veterinário.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Lima de Andrade

**Araçatuba – São Paulo
2017**

ENCAMINHAMENTO

Encaminhamos o presente Trabalho Científico para que a Comissão de Estágios Curriculares tome as providências cabíveis.

Reinaldo Augusto Ferreira Victor
Estagiário

Prof. Dr. Alexandre Lima de Andrade
Orientador

Araçatuba – São Paulo
Junho / 2017

PERFIL DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS FRENTE À *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ISOLADAS DE AFECÇÕES OFTÁLMICAS EM DIVERSAS ESPÉCIES: REVISÃO SISTEMÁTICA

Reinaldo Augusto Ferreira Victor, Alexandre Lima de Andrade

RESUMO

O presente trabalho visa analisar, por revisão literária sistemática, a resposta, *in vitro*, da resistência aos antimicrobianos de isolados de *Pseudomonas aeruginosa* de afecções oftálmicas em diversas espécies animais, através da técnica disco-difusão em ágar (Bauer e Kirby, 1966). A pergunta investigativa foi estruturada na seguinte situação: “Qual a sensibilidade a antimicrobianos da *Pseudomonas aeruginosa* isolada de afecções oftálmicas?”. O levantamento bibliográfico abrangeu a base PubMed e Scopus de pesquisa. Foram selecionados 12 trabalhos, aos quais utilizaram diferentes discos antibióticos. Foram isolados 161 microrganismos de diferentes espécies animais: cães, gatos, cavalos, pinguim e urso-pardo. A enfermidade de maior prevalência foi a ceratite ulcerativa nestas espécies. As classes antibióticas que apresentaram menores porcentagens de resistência foram aos aminoglicosídeos (amicacina, gentamicina e tobramicina), às fluoroquinolonas (levofloxacina, ciprofloxacina, norfloxacina e gatifloxacina) e ao Imipenem. Observou-se 82,9% de resistência ao coloranfenicol, demonstrando não ser eficaz contra *Pseudomonas aeruginosa*, devendo-se, portanto, avaliar melhor o seu uso empírico devido aos efeitos deletérios rápidos que esta bactéria possui.

Palavras-chave: *Pseudomonas aeruginosa*. antibiograma. Ceratite ulcerativa. oftalmologia. microbiologia.

ANTIMICROBIAL RESISTANCE PROFILE TO PSEUDOMONAS AERUGINOSA ISOLATED FROM OPHTHALMIC AFFECTIONS IN VARIOUS SPECIES: SYSTEMATIC REVIEW

Reinaldo Augusto Ferreira Victor

SUMMARY

The aim of this study was to analyze the *in vitro* response of antimicrobial resistance to *Pseudomonas aeruginosa* isolated from ophthalmic diseases in several animal species, using the agar-diffusion technique in agar (Bauer and Kirby, 1966). The investigative question was structured in the following situation: "What is the sensitivity to antimicrobials against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from ophthalmic conditions?". The bibliographic survey covered the PubMed and Scopus research database. Twelve papers were selected, using different antibiotic disks was evaluated. A total of 161 microorganisms from different animal species were isolated: dogs, cats, horses, penguins and grizzly bears. The most prevalent disease was ulcerative keratitis. The antibiotic classes with the lowest percentages of resistance were to aminoglycosides (amikacin, gentamicin and tobramycin), to fluoroquinolones (levofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin and gatifloxacin) and to Imipenem. In the isolates were observed resistance of the 82,9% to chloramphenicol, proving not to be effective against *Pseudomonas aeruginosa*. This is the prove that the empirical use of this antibiotic should be better evaluated due to the rapid deleterious effects.

Palavras-chave: *Pseudomonas aeruginosa*. Antibiogram. Ulcerative keratitis. ophthalmology. microbiology.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados dos antibiogramas frente à <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , segundo diferentes autores.....	20
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ami = Amicacina

AmC = Amoxicilina/Clavulanato

Amp = Ampicilina

Bac = Bacitracina

Cef = Cefalotina

Cip = Ciprofloxacino

Clo = Cloranfenicol

Enr = Enrofloxacino

Ery = Eritromicina

Est = Estreptomicina

Gat = Gatifloxacino

Gen = Gentamicina

Imi = imipenem

Lev = Levofloxacino

Neo = Neomicina

Nor = Norfloxacino

Pol = Polimixina B

Sut = Sulfa-Trimetoprim

Tob = Tobramicina

Tet = Tetraciclina

(R) = Resistente

(S) = Susceptível

(T) = Total.

PA = *Pseudomonas aeruginosa*

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	10
MATERIAL E MÉTODOS	13
RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
CEFALOSPORINAS	14
AMINOGLICOSÍDEOS	14
TETRACICLINAS	16
CLORANFENICOL	17
POLÍPEPTÍDEOS	17
FLUOROQUINOLONAS	18
MACROLÍDEOS	20
SULFONAMIDAS	20
PENICILINAS	21
OUTROS	21
CONCLUSÃO	23
REFERÊNCIAS	23

1. INTRODUÇÃO

Afecções oculares de importância em medicina veterinária, como ceratite ulcerativa, ceratoconjuntivite seca e conjuntivite são exemplos de enfermidades que favorecem como porta de entrada para colonização de microrganismos patogênicos, que, de forma rápida e progressiva pioram o quadro e agravam a doença ocular. (Leigue et al., 2016). A ceratite ulcerativa, constitui-se em uma das afecções oculares mais comuns em cães e torna-se presente quando ocorre uma solução de continuidade no epitélio da córnea, que pode evoluir para exposição estromal. Clinicamente, os animais apresentam dor, que é demonstrada através de lacrimejamento, blefarospasmo, fotofobia, hiperemia conjuntival, edema de córnea e, possivelmente, miose. O diagnóstico é baseado na avaliação clínica verificando-se os sinais clínicos oftálmicos, por meio da magnificação das estruturas oculares e pelo uso de corantes específicos como a fluoresceína ou rosa bengala (Gelatt et al., 2007).

Microrganismos estão presentes de forma natural (saprofítica) na superfície ocular e elencam-se entre eles o *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp., *Neisseria* spp., *Pseudomonas* spp. e *E.coli*. (Lin; Petersen-Jones, 2007; Gerding et al., 1990; Andrade et al., 2002). O controle da população destes microrganismos advém de mecanismos imunológicos específicos e não específicos da superfície ocular (Gerding et al., 1990). Dentre eles, citam-se: imunidade inata (órbita ocular, pálpebras, lágrimas, nervos corneanos, epitélio, ceratócitos, células polimorfonucleares e citocinas) e imunidade adquirida (células de “Langerhans” apresentadoras de antígenos, linfócitos T CD4+ e CD8+, macrófagos e citocinas) (Akpek and Gottsch, 2003).

Algumas exceções são descritas como microrganismos não capazes de provocarem infecção ocular (Maggs, 2008). Uma injúria inicial como um trauma mecânico ou infecção primária por *Herpesvirus* spp devem ocorrer para que um microrganismo consiga penetrar, se aderir e infectar a córnea (Mayo et al., 1986; Lin; Petersen-Jones, 2007).

Pseudomonas spp. são bacilos gram-negativos móveis por flagelo polar, não fermentadores, aeróbios, que oxidam carboidratos, não formadores de esporos e produtoras de pigmentos como a piocianina, que causa lesão oxidativa nos tecidos e suprime a atividade de outras bactérias. São microrganismos ambientais de ocorrência mundial, encontrados no solo, água, plantas, pele, membranas mucosas e, por vezes, nas fezes. *Pseudomonas aeruginosa* (PA) é um patógeno oportunista

que pode causar, ocasionalmente, doença aguda sistêmica. A bactéria produz toxinas e enzimas que promovem a invasão e lesão tecidual e sua ligação as células dos hospedeiros é mediada por fímbrias (Quinn et al., 2005; Koneman, 2001).

A PA tem sido reportada como patógeno corneal mais virulento e agente complicador mais comum em ceratites ulcerativas em cães e gatos. A bactéria se adere ao epitélio corneal mais facilmente que outras bactérias patogênicas. A destruição corneal está associada a ação de várias enzimas, endotoxinas e exotoxinas, contudo, a aderência à superfície epitelial é o primeiro passo para a patogênese das ceratites agravadas pelo microrganismo. *Pseudomonas* sp. possui pouca capacidade de se aderir ao epitélio íntegro, mas se adere facilmente em superfícies epiteliais aviltadas. A penetração estromal ocorre quando a bactéria consegue se aderir ao epitélio, migrando através das células epiteliais para o espaço transcelular. Ocorre a exposição das células epiteliais à proteases, criando aberturas nas células e expondo proteínas intracelulares que auxiliam a aderência e colonização no tecido hospedeiro. O processo de migração transcelular pode ocorrer em até 30 minutos. (Gelatt et al., 2007).

PA produz várias toxinas, proteases e elastases que lesam tecidos e interferem na resposta imune do hospedeiro. Proteases do hospedeiro e da bactéria contribuem para a degradação da membrana de Bowman no homem e da membrana basal do epitélio em animais, bem como, da matriz extracelular (MEC), caracterizando severo dano na córnea. Exotoxina A e Exoenzima S estão relacionadas com a morte de células corneais, dano tecidual e disseminação do microrganismo. Estas últimas, além de contribuírem para a lesão corneal direta, auxiliam indiretamente a ativação de proteases corneais (Quinn et al., 2005; Lin; Petersen-Jones, 2007; Gelatt et al., 2007; Dong et al., 2001).

Dois tipos importantes de Metaloproteinases (MMP) são produzidas pela PA, designadas elastase e protease alcalina, e estão associadas à destruição lenta da estrutura helicoidal de colágeno tipo I e destruição rápida de colágeno tipo III e IV, principalmente pela elastase. MMPs são endopeptidases cálcio e zinco-dependentes que degradam vários componentes da Matriz Extracelular (MEC) sendo, portanto, importantes no processo de cicatrização de feridas teciduais, particularmente nas afecções da superfície ocular (Gelatt et al., 2007).

MMP-2 e MMP-9 estão presentes de forma natural nas células corneais. MMPs possuem atividade regulada por fatores de crescimento, citocinas, hormônios e estresse oxidativo (Spinale, 2007). Essa regulação pode ser feita por indução da transcrição gênica, modificação pós-transducional e pela atividade antagonista dos inibidores teciduais de metaloproteinases, denominados TIMPs. (Nagase; Jr., 1999; Murphy; Nagase, 2010.) Em condições fisiológicas, existe um equilíbrio entre MMPs e TIMPs em córneas saudáveis. Entretanto, em processos patológicos, ocorre um desequilíbrio entre eles, levando à degradação excessiva das proteínas da matriz extracelular, podendo ser um fator causal das úlceras de córnea complicadas (Sakimoto et al., 2014).

Pelo fato das Metaloproteinases (MMP) estarem intimamente relacionadas com a degradação corneal, resultando em liquefação do estroma e rápida progressão da úlcera, perfuração e exposição estromal (até 24 horas) as infecções causadas por *P. aeruginosa* na superfície ocular requerem um tratamento tópico antimicrobiano rápido e eficaz, a fim de diminuir a destruição epitelial e endotelial (Lin & Petersen-Jones, 2007; Gelatt et al., 2007; Dong et al., 2001; Moore; Naisse, 2000).

Espécies de bactérias não-fermentadoras exibem padrões de resistência a antibióticos, dificultando assim a escolha do melhor antimicrobiano para combater a destruição ocular (Koneman, 2001). A realização de culturas e antibiogramas avaliados por Goldstein et al. (1999) anuais e num período de 5 anos, demonstrou que o uso indiscriminado de antimicrobianos em afecção oculares, constitui-se em um fator que contribui para resistência de bactérias a antibióticos.

Por se tratar de uma bactéria de natureza de elevado potencial agressivo, o tempo entre o diagnóstico e o resultado de susceptibilidade aos antimicrobianos podem gerar danos significantes e irreversíveis à córnea. Sendo assim, dados epidemiológicos da susceptibilidade geral aos antibióticos e revisões de literatura podem ser úteis no tratamento empírico e imediato das afecções oculares associadas a *Pseudomonas aeruginosa* (Leigue et al., 2016; Golstein et al., 1999).

Este trabalho tem por objetivo apontar, segundo a literatura existente, dados da sensibilidade e resistência à antimicrobianos frente a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, um assunto que sempre merecerá novas e originais investigações.

2. MATERIAL E METODOS

Trata-se de uma revisão sistemática em que se objetivou analisar os estudos sobre a resposta, *in vitro*, da resistência a antimicrobianos frente à *Pseudomonas aeruginosa* isolada de afecções oftálmicas em diversas espécies animais. O levantamento bibliográfico foi realizado no primeiro semestre de 2017. Abrangeu a base PubMed e Scopus de pesquisa. A pergunta investigativa foi estruturada na seguinte situação: Qual a sensibilidade a antimicrobianos frente à *Pseudomonas aeruginosa* isolada de afecções oftálmicas? Os demais artigos foram encontrados por estarem relacionados a patogenia da doença e as atuais formas de tratamento. A pergunta investigativa gerou a seguinte estratégia de busca: (*Pseudomonas aeruginosa*) AND (Antibiotic susceptibility) AND (Ophthalmic) AND (veterinary). Inicialmente, foram identificados 6 estudos. Pela análise dos resumos foram selecionados apenas os que apresentavam resultados de antibiograma testados a partir do isolamento de *Pseudomonas aeruginosa* em afecções oftálmicas tais como ceratite ulcerativa, ceratoconjuntivite seca e conjuntivites secundárias a outros distúrbios da superfície ocular; em espécies domésticas. Os demais artigos foram selecionados a partir das referências dos artigos encontrados citados anteriormente.

O método utilizado pelos autores foi a técnica disco-difusão em ágar (Bauer e Kirby, 1966), também conhecida como Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos (TSA) ou antibiograma, recomendados por organizações internacionais – “Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI), cuja metodologia implica em semear os inoculados em placa de petri contendo ágar Mueller-Hinton cujas colônias foram suspensas em solução salina estéril (NaCl 0,85%) e avaliadas a turbidez na escala McFarland 0,5. Posteriormente, os discos de antibióticos a serem testados (variáveis entre os autores) são colocados sobre ágar, cujas placas são incubadas em estufa bacteriológica por 36°C de 18 a 24 horas, para então serem mensurados os halos de inibição do crescimento bacteriano, demonstrando sensibilidade, resistência ou crescimento intermediário.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram selecionados 12 trabalhos, sendo 9 apresentados na tabela 1, aos quais utilizaram diferentes discos antibióticos no teste de sensibilidade a antimicrobianos descrito por Bauer e Kirby. Nestes, observaram-se que foram isolados 161

microrganismos de diferentes espécies animais: cães, gatos, cavalos, pinguim e urso-pardo. Um trabalho consultado refere-se a resultados encontrados na medicina humana (Oydanich et al., 2017). A enfermidade de maior prevalência foi a ceratite ulcerativa, porém outros microrganismos foram isolados de animais com ceratoconjuntivite seca e conjuntivite associada a fistula oronasal (Sauer et al., 2003; Keller, Hendrix, 2005; Tolar et al., 2006; Ledbetter et al., 2007; Lin e Petersen Jones, 2007; Lin e Petersen Jones, 2008; Leigue et al., 2016; Pereira, C. S. G, 2016; Oydanich et al., 2017).

3.1 CEFALOSPORINAS

As cefalosporinas são uma classe de antibióticos bactericidas tempo-dependentes de amplo-espectro de ação, semelhantes as penicilinas em estrutura e mecanismo de ação, isto é, impedem a síntese da parede celular do microrganismo. Cefalotina é uma cefalosporina de primeira geração, efetivo contra patógenos gram-positivos nas doenças da superfície ocular (Gelatt, et al., 2007; Spinosa et al., 2011). Nos trabalhos analisados, foram obtidos valores relativos de resistência elevados para cefalotina (85,7%) para num total de 56 microrganismos isolados; 48 foram resistentes (Keller, Hendrix, 2005; Tolar et al., 2006; Lin, P. Jones, 2007; Lin, P. Jones, 2008). Estes valores, provavelmente, estejam relacionados ao fato desta classe antibiótica não ser efetiva contra PA.

3.2 AMINOGLICOSÍDEOS

Aminoglicosídeos são agentes bactericidas concentração-dependentes, efetivos contra bactérias aeróbias gram-positivas e gram-negativas, não penetram no bulbo ocular, sendo seu uso restrito a infecções externas, entretanto, sua potencial toxicidade limitam sua utilização. Seu mecanismo de ação é a interferência da síntese proteica, ligando-se à subunidade 30 S do ribossomo, necessitando penetrar na célula bacteriana. Gentamicina e tobramicina são recomendados para o tratamento de infecções corneais causadas por *P. aeruginosa*. O uso tópico de aminoglicosídeos é recomendado para tratar infecções já estabelecidas e não para uso profilático, devido ao risco da resistência bacteriana (Gelatt, et al., 2007, Spinosa, et al., 2011).

Sauer et al. (2003); Lin e Petersen Jones (2007) e Leigue et al. (2016) obtiveram valores relativos de resistência semelhantes para gentamicina (11,2%), para um total de 134 microrganismos isolados. Os demais autores obtiveram 100% de sensibilidade para gentamicina. Estes valores demonstram baixa resistência *in vitro* para o fármaco, sendo que os maiores valores de resistência encontrados são reportados em artigos mais antigos (Sauer et al., 2003), em comparação aos mais recentes (Oydanich et al., 2017). Preparações tópicas mais concentradas de gentamicina podem atingir concentrações corneais que podem atuar como bactericida para a maioria das cepas de *Pseudomonas* spp. (Gelatt, et al., 2007). Gentamicina (Garamicina Colírio®) e tobramicina (Tobrex®) são comercializados sob a forma de colírios e pomadas oftálmicas e são indicadas especialmente quando há suspeita de envolvimento de PA (Spinosa et al., 2011)

Tobramicina apresentou resistência de 15 (14,6%) microrganismos quando comparado entre os autores citados, num total de 103 amostras isoladas de *P.aeruginosa*. Sauer et al. (2003), em seu trabalho sobre a resistência antibiótica de microrganismos isolados de ceratite ulcerativa bacteriana em 65 equinos, demonstraram que em um total de 14 isolados, seis das amostras eram resistentes e oito eram sensíveis. A maioria dos microrganismos eram resistentes à tobramicina, em comparação ao descrito por Leigue et al. (2016) e Lin e Petersen Jones (2007), cujos isolados apresentaram resistência na proporção de 5/16 e 4/20 microrganismos, respectivamente. Os demais autores relatam sobre 100% de sensibilidade à tobramicina (Keller, Hendrix, 2005; Lin e Petersen Jones, 2008; Pereira, C. S. G, 2016; Tolar et al., 2006).

A Neomicina é um aminoglicosídeo utilizado frequentemente em preparações oftálmicas tópicas, devido à sua eficiente atividade bactericida contra microrganismos gram-negativos. Comumente, ela está associada à polimixina B (Maxitrol Colírio®), no entanto, há registros de elevada frequência de resistência bacteriana (Gelatt, et al., 2007; Spinosa et al., 2011). Lin e Petersen Jones (2007) em seu trabalho que avaliaram a susceptibilidade de bactérias isoladas de úlceras de córneas de cães em Taiwan-CN. Do total de vinte cepas isoladas, doze eram resistentes à neomicina. Desta forma, demonstraram a elevada resistência de bactérias em ceratites ulcerativas a este antibiótico. Achados semelhantes foram, recentemente, encontrados por Leigue et al. (2016). De 16 amostras de *P. aeruginosa* analisadas, 7

eram resistentes a neomicina. Pereira (2016) publicou 100% de resistência frente à três amostras isoladas de *P. aeruginosa*. Estes dados demonstram que bactéria parece estar mais resistente à neomicina nos últimos anos, quando comparado com os dados de 2003 a 2005, em que somente sete amostras eram resistentes num total de 39 analisadas.

Amicacina é classificada como um aminoglicosídeo efetivo contra a maioria dos bacilos gram-negativos resistentes a gentamicina e tobramicina (Gelatt, et al., 2007). Segundo os autores apresentados na tabela 1, que utilizaram discos antibioticos contendo amicacina, relaram uma porcentagem baixa de resistência para este fármaco em que apenas cinco cepas (5%) eram resistentes num total de 86 testadas. A estreptomicina foi testada por Leigue et al. (2016) em 16 cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, sendo resistente em 37,5% delas.

3.3 TETRACICLINAS

As tetraciclina são antibióticos bacteriostáticos que inibem a síntese protéica dos microrganismos sensíveis, ligando-se aos ribossomos, reversivelmente à subunidade 30 S impedindo, assim, que o RNA-transportador (RNAt) se fixe ao ribossomo inibindo, portanto, a síntese proteica (Spinosa et al., 2011). Keller e Hendrix (2005) e Pereira (2016) relataram sobre a resistência deste antibiótico em 100% dos isolados *P. aeruginosa*, referindo, portanto, pela sua ineficiência. Lin e Petersen Jones (2007 e 2008) já encontraram resultados diferentes, relatando por aproximadamente 72% de resistência ao fármaco em isolados da mesma natureza, fatos que coadunam com o descrito por Gellatt et al. (2007), que descreveu que, apesar do amplo espectro de ação deste antibiótico, raramente a *P. aeruginosa* será sensível à sua ação.

3.4 CLORANFENICOL

O Cloranfenicol e derivados são antibióticos bacteriostáticos que inibem a síntese protéica dos microrganismos sensíveis, ligando-se irreversivelmente à subunidade 50 S do ribossomo bacteriano. Desta forma, ocorre interferência na formação do peptídeo pelo bloqueio da enzima peptidiltransferase (Spinosa et al., 2011). Os autores que o testaram sob a forma de discos antibióticos, observaram certa

resistência (82%) ao fármaco de 76 amostras testadas. Apesar destes resultados frente à *P. aeruginosa*, o cloranfenicol é efetivo contra uma ampla variedade de microrganismos gram-positivos e gram-negativos (Gelatt, et al., 2007). Ele é comercializado na forma de colírio, chegando ao interior do bulbo ocular por qualquer via (Spinosa et al., 2011).

3.5 POLIPEPTÍDEOS

Polimixina B é um antibiótico polipeptídico eficaz contra bactérias gram-negativas (Gelatt, et al., 2007). As polimixinas são usadas por via tópica, devido a sua toxicidade sistêmica. São detergentes catiônicos que interferem na permeabilidade seletiva da membrana celular e ligam-se aos constituintes lipoproteicos da membrana, desorganizando essa estrutura. Possuem atividade contra bactérias gram-negativas, em especial *Pseudomonas* spp. (Spinosa et al., 2011). Sauer et al. (2003); Keller e Hendrix (2005) e Tolar et al. (2006) demonstraram 100% de sensibilidade desta bactéria, porém Lin e Petersen Jones (2007 e 2008) e Leigue et al. (2016) demonstraram 53,6% e 18,7% de resistência, respectivamente. Desta forma, demonstraram um aumento de resistência entre os anos de 2006 e 2008 e um decréscimo em 2016.

A bacitracina é outro fármaco deste grupo farmacológico de antibiótico e age por interferência na síntese de parede celular, inibindo a desfosforilação de um pirofosfato lipídico e parece, também, lesar a membrana citoplasmática, com atividade primária contra bactérias gram-positivas (Gelatt, et al., 2007; Spinosa et al., 2011). Sauer et al. (2003), Keller e Hendrix (2005) e Tolar et al. (2006) testaram discos antibióticos contendo bacitracina e demonstraram um percentil de 92,8%, 100% e 85% de resistência, respectivamente. Estes dados demonstram ineficácia deste fármaco frente a esta bactérias, por se tratar de um microrganismo gram-negativo.

3.6 FLUOROQUINOLONAS

Fluoroquinolonas são bactericidas efetivos de amplo alcance à microrganismos gram-negativos e alguns gram-positivos aeróbios. Sua atividade antimicrobiana se relaciona com a inibição das topoisomerasas bacterianas do tipo II, também

conhecidas como DNA girase, impedindo o enrolamento da hélice de DNA em sua forma superespiralada (Gelatt, et al., 2007; Spinosa et al., 2011). A resistência às fluoroquinolonas se desenvolve por modificação do alvo, incluindo modificações na DNA girase e topoisomerase IV, ou alteração de permeabilidade na célula bacteriana. Com frequência, a resistência a uma fluoroquinolona resulta em resistência a todos os outros fármacos desse grupo (Giguère et al., 2010; Spinosa et al., 2011; Ledbetter et al., 2007). Muitas cepas resistentes às fluoroquinolonas podem apresentar resistência cruzada a antimicrobianos estruturalmente diferentes devido à ampla especificidade do substrato das bombas de efluxo. (Ledbetter et al., 2007)

Ciprofloxacina (Biamotil® e Ciprovet®) é uma quinolona de segunda-geração e, também reconhecido como um quimioterápico de amplo-espectro, bastante efetivo no tratamento de infecções da superfície ocular (Spinosa et al., 2011). Em oito trabalhos aqui levantados em que estudaram a sua sensibilidade/resistência em 137 amostras testadas, observaram apenas 5,2% (n=7) de cepas resistentes (Lin e Petersen Jones, 2007; Leigue et al., 2016; Oydanich et al., 2017; Tolar et al., 2006). Em medicina veterinária, a ciprofloxacina é, geralmente, a única fluoroquinolona avaliada em testes de susceptibilidade. Sabe-se que ela não avalia adequadamente a susceptibilidade, *in vitro*, para a PA para as outras fluoroquinolonas usadas em medicina veterinária. Desta forma, deve-se ser cauteloso ao extrapolar os resultados de susceptibilidade testando apenas uma fluoroquinolona para as demais, pois alguns isolados podem ser susceptíveis e outros, resistentes às demais. (Ledbetter et al., 2007). A ofloxacina (Oflox®), mostrou-se ser ineficaz em 7,4% de 27 isolados estudados. Ambas fluorquinolonas (ciprofloxacina e ofloxacina) apresentam boa penetrabilidade corneal após sua instilação, sendo indicados para o tratamento de ceratites ulcerativas e outras alterações da conjuntiva ou córnea (Spinosa et al., 2011), em que cobertura antibiótica tópica esteja indicada. A norfloxacina é uma fluoroquinolona de segunda-geração, com eficácia elevada, pois o estudo demonstrou apenas 8,7% de resistência em 46 isolados de PA.

A levofloxacina é uma quinolona de terceira-geração foi estudada contra 42 cepas por Oydanich et al. (2017), sendo resistente à apenas uma delas, dados que já haviam sido relatados por Ledbetter et al. (2007) anteriormente, em que 100% de sensibilidade foi observada. Apesar destes dados demonstrarem grande sensibilidade do antibiótico, Kowalski et al. (2001) sugere que a levofloxacina pode não ser efetivo

empiricamente contra os isolados de *P. aeruginosa*, pois há relatos que algumas cepas possam ser resistentes às fluoroquinolonas de segunda geração. Ao que se refere à potência antibiótica, a ciprofloxacina se mostrou ser mais potente que levofloxacina e ofloxacina, quando testadas em amostras de PA sensíveis as fluoroquinolonas. O autor sugere, ainda, que a levofloxacina não apresenta vantagens convincentes em relação a ciprofloxacina e ofloxacina no tratamento das afecções colonizadas por PA, mesmo sendo uma fluoroquinolona manipulada mais recentemente.

A gatifloxacina (Zymar®) foi aprovada para uso ocular em 2013 (Gelatt et al., 2007) e, juntamente com a moxifloxacina (Vigamox®) são quinolonas de última geração e potentes contra a maioria das bactérias, inclusive contra a PA (Spinosa et al., 2011). Foram ineficazes, respectivamente, em apenas 9,3% de um total de 43 cepas testadas Leigue et al (2016). Anteriormente, Ledbetter et al. (2007) já haviam estudados tal susceptibilidade e relatam por uma resistência em torno de 11% em 27 isolados. Pensou-se, portanto, que a taxa de resistência das novas fluoroquinolonas seria menor, já que mutações bacterianas necessitariam de duas enzimas: DNA-girase e topoisomerase IV. No entanto, acreditam-se que a PA desenvolveu resistência aos novos fármacos (Fernandes et al., 2015). Jense et al. (2005), coparam o uso de gatifloxacina 0,3% e ciprofloxacina 0,3% em ceratite ulcerativa associada a PA induzida experimentalmente em coelhos e demonstraram que a primeira foi tão eficaz quanto a segunda, no tratamento das córneas lesadas.

Relataram 40,7% (n=33) de microrganismos resistentes à enrofloxacina de 81 amostras testadas. (Gelatt et al., 2007).

3.7 MACROLÍDIOS

Os macrolídeos impedem a síntese proteica bacteriana ao se ligarem à subunidade 50S do ribossomo. São bacteriostáticos, porém podem ser bactericidas em altas concentrações (Spinosa et al., 2011). Eritromicina possui espectro de ação majoritariamente contra bactérias gram-positivas. Esta disponível em alguns países em solução oftálmica a 0,5% e é efetivo contra *Clamýdia spp* e *Mycoplasma spp*. Lin e Petersen-Jones (2007 e 2008) avaliaram a sua eficácia em doenças oculares e relataram por 71% de resistência dos microrganismos isolados à ela (Gelatt et al.,

2007). A resistência bacteriana é mediada por plasmídios, porém uma mutação cromossômica que leva a modificação em ribossomos também já foi observada (Spinosa et al., 2011) sendo, portanto, de uso restrito em medicina veterinária.

3.8 SULFONAMIDAS

As sulfonamidas, quando administradas em concentrações terapêuticas, são bacteriostáticas; em concentrações elevadas, são bactericidas, porém podem ser tóxicas ao hospedeiro. É um quimioterápico análogo estrutural do ácido p-aminobenzoico (PABA), uma substância essencial para a síntese de DNA e RNA bacteriano; portanto, funcionam como um antimetabólito (Spinosa et al., 2011). O trimetoprim, uma diaminoprimidina, é um análogo estrutural do ácido di-hidrofólico e atua inibindo a enzima di-hidrofolato redutase, responsável pela transformação do ácido di-hidrofolato em ácido tetra-hidrofólico. Pode ser usado isoladamente, entretando, a associação com as sulfas é muito mais vantajosa, já que a associação a estes quimioterápicos, há efeito sinérgico, pois as sulfas e o trimetoprim atuam em etapas diferentes na formação do ácido tetra-hidrofólico (Spinosa et al., 2011). Sulfametoxazol-Trimetoprim foi testado por 4 autores que encontraram 82% de resistência. A resistência às sulfas ocorre de maneira lenta e gradativa e, presume-se que ocorra por meio de plasmídeos. Seu uso não é comum em oftalmologia veterinária devido a terapia antibiótica alternativa ser efetiva e prontamente disponível (Gelatt et al., 2007).

3.9 PENICILINAS

As penicilinas são bactericidas e seu espectro de ação é baseado em sua estrutura molecular. Predominantemente são efetivas contra cocos gram-positivos. Impedem a síntese da parede celular, interferindo na última etapa da síntese do peptidoglicano (Gelatt et al., 2007; Spinosa et al., 2011). Há uma taxa elevada de resistência frente a ampicilina (87,5%) e moderada em relação à amoxicilina com ácido clavulânico (64,3%)

3.10 OUTROS

Imipenem, um carbapenem são ativos contra quase todos os cocos ou bastonetes aeróbicos ou anaeróbicos gram-positivos ou gram-negativos. No entanto,

não é um antimicrobiano de primeira escolha, sendo indicado apenas em infecções graves em medicina veterinária, principalmente àqueles intra-cavitárias (Giguère et al., 2010, Spinosa et al., 2011). Sua ineficácia gera em torno de 5,2%.

Tabela 1. Resultados dos antibiogramas frente à *Pseudomonas aeruginosa*, segundo diferentes autores

Antibiótico testado	Autores (n <i>P.aeruginosa</i> isolados)																													
	Sauer et al., 2003 (14)			Keller, Hendrix, 2005 (6)			Tolar et al., 2006 (25)			Ledbetter et al., 2007 (27)			Lin, P. Jones, 2007 (20)			Lin, P.Jones, 2008 (8)			Leigue et al., 2016 (16)			Pereira, C. S. G, 2016 (3)			Oydanich et al., 2017 (42)					
	R	S	T	R	S	T	R	S	T	R	S	T	R	S	T	R	S	T	R	S	T	R	S	T	R	S	T	R	S	T
Ami	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	20	20	3	5	8	2	14	16	-	-	-	0	42	42			

conhecidas a microbiota ocular nas diferentes regiões do mundo. Outro ponto a ser questionado no momento da escolha antibiótica, refere-se ao fato de que microrganismos possuem a habilidade de criar mecanismos de resistência; o que os tornam resistentes às escolhas antibióticas clássicas. Tal assunto, sempre estará em destaque e merecerão novas e originais investigações.

5. REFERÊNCIAS

- AKPEK, E.K. e GOTTSCH, J.D. **Immune defense at the ocular surface**. Eye (Lond). 17, 949-956. 2003.
- ANDRADE, A. L.; STRINGHINI, G.; BONELLO, F. L.; MARINHO, M.; PERRI, S. H. V. **Microbiota conjuntival de cães da cidade de Araçatuba** - SP. Arquivo Brasileiro de Oftalmologia, v. 65, n. 3, p. 323-336, 2002.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS (CLSI) **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-third Informational Supplement M100-S23**. LSI, Wayne, PA, USA. 2013.
- DONG, Z.; KATAR, M.; ALOUST, S.; RICHARD, B. S. **Expression of Membrane-Type Matrix Metalloproteinases 4, 5, and 6 in Mouse Corneas Infected with P. aeruginosa** Investigative Ophthalmology & Visual Science, Vol. 42, No. 13, December 2001.
- FERNANDES, M.; VIRA, D.; MEDIKONDA, R.; KUMAR, N. **Extensively and pan-drug resistant Pseudomonas aeruginosa keratitis: clinical features, risk factors, and outcome**
- GELATT, K. N.; GILGER, B. C.; KERN, T. J. **Veterinary ophthalmology**. 5.ed. Iowa: Wiley-Blackwell, p. 2186. 2013.
- GERDING, P. A. & KAKOMA, I. **Microbiology of the canine and feline eye**. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice 20, 615-625 1990.
- GOLDSTEIN, H. M.; REGIS, MD.; KOWALSKI, P. **Emerging Fluoroquinolone Resistance in Bacterial Keratitis A 5-year Review**. Ophthalmology;106:1313–1318, 1999.
- JENSEN, H.; ZEROUALA, C.; CARRIER, M.; SHORT, B. **Comparison of Ophthalmic Gatifloxacin 0.3% and Ciprofloxacin 0.3% in Healing of Corneal Ulcers**

Associated with *Pseudomonas aeruginosa*–Induced Ulcerative Keratitis in Rabbits Journal of ocular pharmacology and therapeutics Vol 21, Num 1, 2005.

KELLER, R. L.; HENDRIX, D. V. H. **Bacterial isolates and antimicrobial susceptibilities in equine bacterial ulcerative keratitis (1993–2004)** Equine vet. J., 37 (3) 207-211, 2005.

KOWALSKI, R.P., DHALIWAL, D.K., KARENCHAK, L.M., ROMANOWSKI, E.G., MAH, F.S., RITTERBAND, D.C. e GORDON, Y.J.. **Gatifloxacin and moxifloxacin: an in vitro susceptibility comparison to levofloxacin, ciprofloxacin, and ofloxacin using bacterial keratitis isolates.** Am. J. Ophthalmol. 136, 500-505. 2003.

LEDBETTER, E.C., HENDRICKS, L.M., RIIS, R.C. e SCARLETT, J. **In vitro fluoroquinolone susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from dogs with ulcerative keratitis.** Am. J. Vet. Res.68, 638-642. 2007.

LEIGUE L.; FERREIRA, M. F.; MOORE, B. A. **Antimicrobial susceptibility and minimal inhibitory concentration of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from septic ocular surface disease in different animal species** Open Veterinary Journal, Vol. 6(3): 215-222, 2016.

LIN, C.T. e PETERSEN-JONES, S.M. **Antibiotic susceptibility of bacterial isolates from corneal ulcers of dogs in Taiwan.** J. Small Anim. Pract. 48, 271-274. 2007.

LIN, C.T. e PETERSEN-JONES, S.M. **Antibiotic susceptibility of bacteria isolated from cats with ulcerative keratitis in Taiwan.** J. Small Anim. Pract. 49, 80-83. 2008.

MAGGS, D.J. **Cornea and sclera.** In: MAGGS, D.J., MILLER, P.E. e OFRI, R. **SLATTER'S Fundamentals of Veterinary Ophthalmology 4th Ed.** Saunders Elsevier, St Louis. pp: 175-202. 2008.

MAYO, M.S., COOK, W.L., SCHLITZER, R.L., WARD, M.A., WILSON, L.A. E AHEARN, D.G. **Antibiograms, serotypes, and plasmid profile of *Pseudomonas aeruginosa* associated with corneal ulcers and contact lens wear.** J. Clin. Microbiol. 24, 372-376. 1986.

MURPHY, G.; NAGASE, H. **Progress in matrix metalloproteinase research** Mol Aspects Med. October ; 29(5): 290–308. 2008.

NAGASE, H.; JR. W. F. J. **Matrix Metalloproteinases** THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY Vol. 274, No. 31, Issue of July 30, pp. 21491–21494, 1999.

OYDANICH, M.; DINGLE, C. T.; HAMULA, L. C.; GHISA, C.; ASBELL, P. **Retrospective report of antimicrobial susceptibility observed in bacterial**

pathogens isolated from ocular samples at Mount Sinai Hospital, 2010 to 2015. Antimicrobial Resistance and Infection Control, 2017.

PEREIRA, G. S. C. **Perfil da Sensibilidade Microbiana de Bactérias Isoladas nos Olhos de Cães Com Ceratoconjuntivite Seca** Dissertação de Mestrado em Ciência Animal – Universidade do Oeste Paulista. Presidente Prudente, SP, 2016.

QUINN, P. J. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas.** Porto Alegre: Artmed, p.470. 2005.

SAKIMOTO, T.; OHNISHI, T.; ISHIMORI, A. **Simultaneous study of matrix metalloproteinases, proinflammatory cytokines, and soluble cytokine receptors in the tears of noninfectious corneal ulcer patients** Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 252:1451–1456, 2014.

SAUER, P., ANDREW, S.E., LASSALIN, M., GELATT, K.N. e DENIS, H.M. **Changes in antibiotic resistance in equine bacterial ulcerative keratitis (1991-2000): 65 horses.** *Vet. Ophthalmol.* **6**, 309-313. 2003

SPINALE, G. F. **Myocardial Matrix Remodeling and the Matrix Metalloproteinases: Influence on Cardiac Form and Function.** *Physiol Rev* **87**: 1285–1342, 2007

SPINOSA, H. S. GÓRNIK, S. L. BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária.** Editora Guanabara Koogan. 2006.

TOLAR, L. E.; HENDRIX, V. H. D.; ROHRBACH, W. B.; PLUMMER, E. C.; BROOKS, E. D. **Evaluation of clinical characteristics and bacterial isolates in dogs with bacterial keratitis: 97 cases (1993–2003)** JAVMA, Vol 228, No. 1, January 1, 2006

WINN JR, W.; ALLEN, S.; JANDA, W.; KONEMAN, E.W.; PROCOP, G.; SCHRECKENBERGER, P.; WOODS, G. **Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido.** 5ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1465p. 2008.