

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**PERFIL DE SENSIBILIDADE DE BACTÉRIAS
PATOGENICAS ISOLADAS DE CÃES FRENTE A
ANTIMICROBIANOS**

ADRIANA RESMOND CRUZ

Botucatu-SP

Outubro-2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**PERFIL DE SENSIBILIDADE DE BACTÉRIAS
PATOGENICAS ISOLADAS DE CÃES FRENTE A
ANTIMICROBIANOS**

ADRIANA RESMOND CRUZ

Dissertação apresentada junto
Programa de Pós- Graduação
Medicina Veterinária para obtenção
título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Paes

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
Divisão Técnica de Biblioteca e Documentação - Campus De Botucatu - UNESP
Bibliotecária responsável: *Sulamita Selma Clemente Colnago* – CRB 8/4716

Cruz, Adriana Resmond.

Perfil de sensibilidade de bactérias patogênicas isoladas de cães frente a antimicrobianos / Adriana Resmond Cruz. – 2009.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2009
Capes: 50503014

1. Bacteriologia veterinária

CDD 636.0896014

Palavras-chave: Bactérias multidrogas resistentes; Antimicrobianos;
Cães

Nome do Autor: Adriana Resmond Cruz

Título: Perfil de sensibilidade de bactérias patogênicas isoladas de cães frente a antimicrobianos.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Antonio Carlos Paes

Presidente e Orientador

Departamento: Higiene Veterinária e Saúde Pública

FMVZ – UNESP – Botucatu - SP

Prof. Titular Hélio Langoni

Membro

Departamento: Higiene Veterinária e Saúde Pública

FMVZ – UNESP – Botucatu - SP

Prof. Dr. Rogério Giuffrida

Membro

Departamento: Medicina Veterinária Preventiva

UNOESTE - Presidente Prudente-SP

DEDICATÓRIA

À minha família.

Essência da minha vida, pelo amor, paciência e compreensão, pelos sacrifícios partilhados, mas sobretudo, pela inesgotável fonte de estímulo para o meu aprimoramento, sem o qual talvez este trabalho não pudesse ter sido finalizado.

*“Se não houver frutos, valeu a beleza das flores
Se não houver flores, valeu a beleza das folhas
Se não houver folhas, valeu a graça dos galhos
Se não houver galhos, valeu a intenção da semente”
(Henfil)*

AGRADECIMENTOS

A Deus por sempre iluminar o meu caminho.

Ao meu orientador, prof. Paes, pela sua amizade, dedicação e por ter ajudado a superar as fases complicadas com seus sábios e valiosos conselhos.

Aos meus pais, José Eduardo e Georgette, por sempre acreditarem em mim, por entenderem a minha ausência, pelos estímulos e palavras de conforto e carinho que me deram forças para seguir em frente.

A minha irmã Marianne, pelo seu exemplo de luta, conquista e generosidade. Má, sem você não teria chegado até aqui.

A meu “eterno” professor Hélio Langoni por sempre me mostrar o caminho certo a ser seguido.

Aos residentes e pós-graduandos do departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, principalmente a Amanda e Tatiane, que me ajudaram muito na parte prática do projeto.

A todos os funcionários, em especial, o técnico do Laboratório de Microbiologia, Fernando, pelos seus ensinamentos e seu brilhantismo profissional.

As minhas amigas, Joyce, Carol, Letícia, Viviane e Bianca pelos momentos de descontração, pelo profissionalismo, por entenderem a minha ausência na clínica e sempre me apoiarem.

LISTA DE QUADRO E TABELAS

Quadro 1 – Fármacos utilizados nos antibiogramas em relação às diferentes cepas bacterianas.....	40
Tabela 1 - Porcentagem de resistência bacteriana frente aos antimicrobianos testados.....	42
Tabela 2 - Porcentagem de resistência dos antimicrobianos para todas as bactérias isoladas.....	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Placa com discos para antibiograma.....	39
Figura 2 - Resistência das bactérias Gram-negativas frente aos antimicrobianos testados.....	43
Figura 3 - Resistência dos <i>Streptococcus</i> spp. frente aos antimicrobianos testados.....	46
Figura 4 - Resistência dos <i>Staphylococcus</i> spp. frente aos antimicrobianos testados.....	48

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	09
ABSTRACT.....	10
I.INTRODUÇÃO.....	12
II.REVISÃO DE LITERATURA.....	16
II.1. Resistência natural.....	17
II.2. Resistência adquirida.....	17
II.2.1. Resistência cromossômica.....	18
II.2.2. Resistência extracromossômica.....	18
II.2.2.1. Transdução.....	19
II.2.2.2. Transformação.....	20
II.2.2.3. Conjugação.....	20
II.2.2.4. Transposição.....	21
II.3. Resistência cruzada.....	21
II.4. Resistência adquirida aos diferente antimicrobianos.....	22
II.4.1. Beta-lactâmicos.....	22
II.4.1.1. Penicilinas naturais.....	22
II.4.1.2. Penicilinas semi-sintéticas.....	24
II.4.1.3. Aminopenicilinas.....	25
II.4.1.4. Carboxipenicilinas.....	25
II.4.2. Cefalosporinas e análogos.....	26
II.4.3. Aminoglicosídeos.....	27
II.4.4. Tetraciclinas.....	29
II.4.5. Cloranfenicol.....	30
II.4.6. Quinolonas.....	31
II.4.7. Macrolídeos.....	33
II.4.8. Lincosaminas.....	34
II.4.9. Vancomicina.....	34
II.4.10. Rifamicinas.....	35
II.4.11. Sulfonamidas e Trimetoprim.....	35

III. OBJETIVO.....	38
IV. MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
V. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
VI. CONCLUSÕES.....	53
VII. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	55

CRUZ, A. R. **Perfil de sensibilidade de bactérias patogênicas isoladas de cães frente a antimicrobianos**. Botucatu, 2009. 59p. Dissertação – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista

RESUMO

A passagem de bactérias resistentes dos animais ao homem é possível. As amostras foram coletadas de cães, machos e fêmeas, de diferentes raças e idade, com infecções bacterianas variadas. Foram realizadas cultura e antibiograma das bactérias isoladas (n=100), sendo avaliadas como sensíveis ou resistentes. Grupo das bactérias Gram-negativas: tetraciclina 83,02%, azitromicina 81,48%, doxiciclina 77,78%, ampicilina 62,96%, ceftiofur e florfenicol 50%, cefalexina 46,3%, enrofloxacino 44,44%, norfloxacino 18,52%, gentamicina 20,37%, levofloxacino 27,78%, amoxicilina + ácido clavulânico 31,48%, ciprofloxacino 31,48%, amicacina e ceftriaxona 33,33%, cloranfenicol e sulfa + trimetoprin 35,19%. Grupo dos *Streptococcus*: tetraciclina 80%, eritromicina 72%, enrofloxacino e levofloxacino 52%, ampicilina, azitromicina, ciprofloxacino, norfloxacino, penicilina G e sulfa + trimetoprin 48%, amoxicilina + ácido clavulânico 4%, cefalexina 12%, florfenicol 24%, ceftiofur, ceftriaxona e oxacilina 28%, cloranfenicol 32%. Grupo dos *Staphylococcus* spp: ampicilina 57,14%, sulfa + trimetoprin e tetraciclina 52,38%, amicacina, amoxicilina + ácido clavulânico, gentamicina, levofloxacino, 4,76%; cefalexina, ceftiofur, ceftriaxona e cloranfenicol, 9,52%; vancomicina 13,33%, norfloxacino 19,05%; ciprofloxacino, enrofloxacino e oxacilina 23,81% e azitromicina 33,33%. Os cães são reservatórios de bactérias multidrogas resistentes que podem transmitir por meio de plasmídios os genes de resistência, explicando a resistência de bactérias isoladas de cães à antimicrobianos de uso humano como a vancomicina.

Palavras-chave: bactérias multidrogas resistentes, antimicrobianos, cães

CRUZ, A. R. Sensitivity profile of pathogenic isolated bacteria from dogs facing antimicrobial. Botucatu, 2009. 59p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

The transmission of resistant bacteria from animals to humans is possible. Samples were collected from different breeds of dogs in different ages including males and females, with a variety of bacterial infections. The culture and antibiograma of isolated bacteria were analysed (n = 100), being evaluated as sensitive or resistant. Group of Gram-negative bacteria tetracycline 83.02%, azithromycin 81.48%, doxycycline 77.78%, ampicillin 62.96%, ceftiofur and florfenicol 50%, cephalexin 46,3%, enrofloxacin 44.44%, norfloxacin 18.52%, gentamicin 20.37%, levofloxacin 27.78%, amoxicillin + clavulanic acid 31.48%, ciprofloxacin 31.48%, amikacin and ceftriaxone 33.33%, chloramphenicol and trimethoprim + sulfa (35.19%). *Streptococcus*' group: tetracycline 80%, erythromycin 72%, enrofloxacin and levofloxacin 52%, ampicillin, azithromycin, ciprofloxacin, norfloxacin, penicillin G and sulfamethoxazole + trimethoprim 48%, amoxicillin + clavulanic acid 4%, cephalexin 12%, florfenicol 24%, ceftiofur, ceftriaxone, and oxacillin 28%, chloramphenicol 32%. Group of *Staphylococcus* spp: ampicillin 57.14%, sulfamethoxazole + trimethoprim and tetracycline 52.38%, amikacin, amoxicillin + clavulanic acid, gentamicin, levofloxacin, 4.76%, cephalexin, ceftiofur, ceftriaxone, and chloramphenicol 9.52%, vancomycin 13.33%, norfloxacin 19.05% ciprofloxacin, enrofloxacin and oxacillin 23.81% and azithromycin 33.33%. Dogs have resistant-multidrug bacteria that might pass through the plasmid resistant genes, explaining the resistance of isolated bacteria from dogs to human use of antimicrobials such as vancomycin.

Keywords: resistant-multidrug bacteria, antimicrobial, dogs

INTRODUÇÃO

I. INTRODUÇÃO

A resistência aos antimicrobianos é um dos grandes problemas da medicina e da medicina veterinária, e é causada basicamente pela evolução das bactérias, pela mutação espontânea e recombinação de genes, que criam variabilidade genética sobre a qual atua a seleção natural aos mais aptos (Andrade, 2002).

A expansão do problema coincidiu com a descoberta e ampla utilização de inúmeros antimicrobianos na década de 1950, agravando-se a partir de 1960 com a introdução dos novos antimicrobianos beta-lactâmicos (Tavares, 2001). Segundo os estudos de Bauer et al. (1960), cerca de 5% de *Staphylococcus aureus* isolados de pessoas doentes eram resistentes à penicilina no ano de 1946. Em, 1949, esta resistência podia ser notada em 29% dos estafilococos isolados em hospitais; em 1950, atingia 50% e, em 1959, era de cerca de 80% em hospitais americanos.

Segundo Lelièvre (1999), ocorreu uma disseminação clonal rápida na França de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (SARA) em hospitais ao longo do período de sete anos. O isolamento de SARA sensíveis à gentamicina e com sensibilidade heterogênea à meticilina aumentou, de forma contínua, para atingir, de acordo com os hospitais, de 46,8% para 94,4% das estirpes de SARA em 1998. Na clínica geral, a frequência de estirpes de *Streptococcus pneumoniae* com sensibilidade diminuída à penicilina G aumentou, consideravelmente, de 4,9% em 1988 para 48% em 1997, assim como o número de falhas terapêuticas em infecções provocadas por estas bactérias (Cohen et al., 1994).

Na análise dos resultados de dois estudos multicêntricos na América Latina publicados por Sader (2000), foi detectada no Brasil uma resistência muito maior de cepas produtoras de beta-lactamases de amplo espectro, em relação aos estudos americanos e europeus. Outro problema de resistência bacteriana no Brasil, de acordo com o estudo, foi relacionado às enterobactérias com resistência à cefalosporinas de terceira geração devido à produção de cefalosporinases mediadas por cromossomos. Os gêneros mais importantes produtores deste tipo de beta-lactamases (com 20% de isolados no sangue) foram *Citrobacter* sp., *Enterobacter* sp. e *Serratia* sp. As

enterobactérias representaram 14,4% dos isolados, sendo que o *Enterobacter cloacae* foi à espécie mais isolada, apresentando alta resistência aos beta-lactâmicos.

Os *Staphylococcus aureus* representam os microrganismos de maior incidência nas infecções hospitalares. A redução da sensibilidade à vancomicina está descrita pelo U. S. Department of Health Care Services of the United States of America em 1997 e representa uma grande preocupação por se tratar de uma das últimas opções terapêuticas para este microrganismo. A ocorrência de enterococos resistentes à vancomicina é mais frequente e é alvo de igual ou maior preocupação (Hoefel & Lautert, 2006).

A situação é preocupante, pois para a descoberta e produção de novos antimicrobianos são necessários muitos anos e os indivíduos acometidos por microrganismos resistentes sofrem falhas de tratamento, aumento do custo da terapia e prolongamento do tempo de recuperação o que pode levar a exposição de outros agentes infecciosos altamente patogênicos (Andrade, 2002). No caso dos pacientes imunossuprimidos, os quais são vulneráveis a invasão de infecções oportunistas, os microrganismos multidrogas resistentes prejudicam a eficácia terapêutica, além de aumentar substancialmente a taxa de mortalidade (Moellering et al., 2007). Além disso, os materiais e superfícies contaminados com microorganismos modificados contaminam outros pacientes, criando, assim, uma cadeia interminável de infecções extremamente graves (Hoefel & Lautert, 2006).

A importância dos antimicrobianos no aumento do fenômeno da resistência reside no seu papel selecionador dos exemplares resistentes, pela pressão seletiva resultante do seu emprego clínico (humano e veterinário), industrial (conservação de alimentos), comercial (engorda de animais, tratamento de vegetais) e experimental (Trabulsi et al., 2004).

Em animais o aumento desse fenômeno de resistência é também verificado. De acordo com estudos de Srinivasan et al. (2007), realizados com isolados de *Escherichia coli* em vacas com mastite, a resistência é de 98,4% para ampicilina, 40,3% para estreptomicina, 24,8% para tetraciclina. No mesmo estudo, foram testados antimicrobianos de uso humano, e constatou taxas de resistência de 97,7% para aztreonam e 89,9% para cefaclor.

Oliveira et al. (2006) verificaram a resistência de cepas de *Staphylococcus intermedius* de cães com otite à penicilina G (25,96%), ampicilina (16,67%), eritromicina (27,78), tetraciclina (24,07%) e clindamicina (18,52%).

A transferência da resistência bacteriana dos animais ao homem é possível, sendo um assunto de importância para a saúde pública (Wegener et al., 1997). A relação entre o uso de antimicrobianos em medicina veterinária e a transferência de bactérias resistentes é um assunto que necessita ser mais pesquisado (Ossiprandi et al., 2008). Porém, estudos mostram que a microbiota intestinal de cães saudáveis pode atuar como reservatório de genes ligados à resistência (Guardabassi et al., 2004).

Descheemaeker et al. (1999), estabeleceram alguma identidade de genes de resistência contra glicopeptídeos em *Enterococcus faecium* isolados em porcos e aves e em seres humanos, indicando a possibilidade de troca de marcadores genéticos de resistência entre animais e o seres humanos.

O uso profilático de antibióticos resulta no desenvolvimento de cepas resistentes e supressão potencial da microbiota endógena que normalmente extermina as cepas de bactérias entéricas patogênicas por competição (Lorenz et al., 1996). Trott et al. (2004) demonstraram que o uso da enrofloxacin oral em cães aumenta a colonização e excreção de *Escherichia coli* multidroga resistente por causar a diminuição ou eliminação de coliformes comensais do trato gastrointestinal que controlam por competição o crescimento desse agente.

O controle da resistência bacteriana depende de um raciocínio complexo envolvendo indicações de uso, política de utilização, forma de administração e questões financeiras ligadas aos hospitais e aos interesses da indústria de medicamentos (Hoefel & Lautert, 2006).

REVISÃO DE LITERATURA

II. REVISÃO DE LITERATURA

O conhecimento do fenômeno da resistência a agentes físicos e químicos entre os microrganismos data do início da era dos antimicrobianos. Com a introdução das primeiras substâncias químicas com finalidade quimioterápica específica, Ehrlich e seus colaboradores Franke e Roehl em 1905, descobriram o fenômeno da resistência aos fármacos, ao observarem que em culturas de tripanossomas africanos tratados com arsênico ou com determinados corantes havia a sobrevivência de alguns exemplares (Tavares, 2001).

A resistência bacteriana é caracterizada pela capacidade que a bactéria tem de superar o mecanismo de ataque dos antimicrobianos. (Trabulsi et al. 2004).

As bactérias podem ser classificadas em sensíveis e resistentes aos antimicrobianos. Em geral, classificam-se como resistentes as bactérias que crescem, *in vitro*, nas concentrações médias que os antimicrobianos atingem no sangue, quando administrados por via oral. São sensíveis as que não crescem nessas concentrações (Trabulsi et al., 2004). Existem numerosos mecanismos distintos pelos quais os microorganismos podem exibir resistência aos antimicrobianos (Brooks et al. 2000).

A presença do antimicrobiano atua como mecanismo seletivo, suprimindo os microrganismos suscetíveis e permitindo o crescimento de mutantes resistentes ao fármaco (Brooks et al., 2000). Segundo estudos de Hyle et. al (2007) a incidência da resistência a antimicrobianos aumenta na proporção do uso freqüente.

Com o advento do uso clínico de sulfonamidas em 1933 e, em seguida, da penicilina em 1941, constatou-se que a resistência bacteriana aos agentes antimicrobianos podia ser uma característica natural das espécies de bactérias ou adquirida por cepas individuais dentro de uma população sensível (Tavares, 2001).

A resistência natural ocorre quando os genes de resistência fazem parte do código genético do microrganismo. Já a resistência adquirida ocorre quando os genes de resistência não estão presentes no código genético da bactéria, sendo a ele incorporados (Trabulsi et al., 2004).

1. Resistência natural

A resistência natural ou intrínseca faz parte das características biológicas primitivas dos microrganismos e é observada regularmente em uma determinada espécie bacteriana em relação a diferentes antimicrobianos (Tavares, 2001). De modo geral, está relacionada com a incapacidade dos mesmos em atingir os seus sítios de ação (Trabulsi et al., 2004).

A resistência natural é um caráter hereditário, transmitido verticalmente às células filhas, comandado por genes cromossômicos que determinam na célula bacteriana a ausência de receptores para a ação dos antimicrobianos, como no micoplasma em relação aos beta-lactâmicos; ou a existência de estruturas e mecanismos que impedem a ação do fármaco (Tavares, 2001; Trabulsi, 2004).

Outro mecanismo de resistência natural é a impermeabilidade ao fármaco, devido à existência no microrganismo de estruturas que impedem o antimicrobiano de penetrar no interior da célula bacteriana e, conseqüentemente, alcançar seus receptores. A resistência natural também pode ocorrer pela produção de enzimas que atuam inativando os antimicrobianos (Tavares, 2001).

2. Resistência adquirida

A resistência adquirida consiste no surgimento do fenômeno da resistência a um ou vários antimicrobianos numa população bacteriana originalmente sensível a estes fármacos (Tavares, 2001). Resulta de modificações na estrutura ou no funcionamento da célula bacteriana, que são decorrentes de fatores genéticos adquiridos por mecanismos que alteram o cromossomo bacteriano ou afetam elementos extracromossômicos formados por segmentos de DNA e denominados de plasmídeos (Brooks et al., 2000).

Enquanto a resistência natural não possui grande significado prático, por ser previsível e constante, bastando-se conhecer o espectro de ação de um fármaco para evitá-la, a resistência adquirida é causa importante de problemas clínicos, em decorrência da crescente participação de

microrganismos com sensibilidade aos antimicrobianos modificada na etiologia das infecções (Tavares, 2001).

2.1. Resistência cromossômica

A resistência cromossômica é uma modificação genética súbita e estável, transmissível hereditariamente (Tavares, 2001). Desenvolve-se em consequência de mutação espontânea em um *locus* que controla a suscetibilidade a determinado agente antimicrobiano (Brooks et al., 2000).

A resistência cromossômica estabelece-se por múltiplas etapas, isto é, são necessárias seguidas mutações em um mesmo gene para que sejam atingidos altos níveis de resistência. Além disso, os mutantes resistentes geralmente têm menor capacidade de sobrevivência que as cepas normais. Isso ocorre por apresentarem ritmo de crescimento mais lento, menor resistência a variações de pH, maior sensibilidade à competição biológica e habitualmente desaparecem com o progredir da população microbiana sensível. Este tipo de resistência é observada em relação às penicilinas, tetraciclina, cloranfenicol e outros antimicrobianos (Tavares, 2001).

Outro tipo de resistência cromossômica é aquela que ocorre em uma única etapa. Os modelos de antimicrobianos para este tipo de resistência são a estreptomicina, rifampicina, eritromicina, fluorquinolonas, sulfonamidas e isoniazida (Trabulsi et al., 2004).

2.2. Resistência extracromossômica

A transferência de resistência extracromossômica tem sido mais estudada, uma vez que a sua importância prática é maior (Trabulsi et al., 2004). A *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Proteus* spp. e *Pseudomonas* spp. foram associadas as mais freqüentes infecções hospitalares, sendo a resistência dessas bactérias aos antimicrobianos mediada por plasmídios (Lorenz et al., 1996).

Os fatores R constituem uma classe de plasmídios que transportam genes para a resistência e, com freqüência, a vários agentes antimicrobianos. As mutações e a aquisição de fatores R podem levar a bactéria a se tornar

resistente por diferentes mecanismos químicos. Um dos mais importantes é a produção de enzimas que modificam a parte ativa da molécula do antimicrobiano, tornando-o praticamente inativo (Brooks et al., 2000).

Outro mecanismo é a síntese pela bactéria de novas enzimas que não sofrem a ação do antimicrobiano e que possuem a mesma atividade metabólica das enzimas que são inativadas pelo mesmo. Podem ocorrer outras formas de resistência cromossômica como a diminuição da permeabilidade da célula bacteriana, alterações das moléculas onde se fixam os antimicrobianos e expulsão do antimicrobiano do interior da célula (Trabulsi et al., 2004).

Tanto a resistência cromossômica como a extracromossômica podem ser transferidas de uma bactéria para outra. A transferência de resistência pode ser por: transdução, transformação, conjugação ou transposição (Trabulsi et al., 2004).

2.2.1. Transdução

A transdução consiste na transferência de material genético de uma bactéria para outra por meio de bacteriófagos (Trabulsi et al., 2004)

O DNA do plasmídio é incorporado em um vírus bacteriano e transferido pelo mesmo para outra bactéria da mesma espécie, como por exemplo, o plasmídio que transporta o gene para a produção de beta-lactamase pode ser transferido de um estafilococo resistente à penicilina para um suscetível por meio de um bacteriófago adequado (Brooks et al., 2000).

A transdução de genes cromossômicos de resistência não tem importância prática, porque apenas casualmente se dará a incorporação ao fago de fragmentos de DNA cromossômico com genes de resistência. Além disso, se o fragmento traduzido não se recombinar adequadamente com o cromossomo da nova célula hospedeira, ele poderá ser destruído por enzimas bacterianas ou permanecer no citoplasma sem se replicar, vindo a desaparecer com a contínua multiplicação da bactéria (Tavares, 2001).

2.2.2. Transformação

A transformação é um mecanismo possível de aquisição de resistência, podendo uma bactéria incorporar ao seu material genético os genes de resistência existentes em outra bactéria (Trabulsi et al., 2004).

Esse mecanismo de resistência cromossômica parece ser de pouca importância em condições naturais, porque para ocorrer é frequentemente necessário que a bactéria receptora encontre-se em um estado fisiológico especial denominado estado de competência, ou seja, ser capaz de sintetizar proteínas de superfície que atuam na ligação do DNA; ou que haja condições ambientais ideais para o processo (Tavares, 2001). A transformação habitualmente só ocorre entre bactérias da mesma espécie. (Trabulsi et al., 2004).

2.2.3. Conjugação

A transferência da resistência aos antimicrobianos pela conjugação foi relatada, pela primeira vez, em 1958, por dois microbiologistas japoneses, Akiba e Ochiai. Eles isolaram a bactéria patogênica *Shigella dysenteriae* de pacientes com disenteria bacilar e verificaram que algumas dessas bactérias eram resistentes à sulfonamidas, tetraciclinas, estreptomicina e cloranfenicol. Outras bactérias da mesma cepa de *Shigella dysenteriae* não apresentavam resistência. Akiba e Ochiai demonstraram que os genes tinham sido adquiridos pela conjugação com *Escherichia coli* resistentes as drogas, presente no trato intestinal dos pacientes (Pelczar et al., 1996).

Durante o processo de conjugação, ocorre transferência unilateral de material genético entre bactérias de um mesmo gênero ou de gêneros diferentes. Este processo é mediado por um fator de fertilidade (F), que resulta na extensão de *pili* sexuais da célula doadora (F⁺) para a célula receptora. O DNA do plasmídeo é transferido por meio desses túbulos protéicos da célula doadora para a célula receptora. Trata-se do método mais comum de propagação da resistência a múltiplos fármacos entre gêneros diferentes de bactérias Gram-negativas, mas pode ocorrer também em alguns cocos Gram-positivos (Brooks et al., 2000).

A transferência pelo contato célula a célula observada entre os cocos Gram-positivos (estreptococos, enterococos e estafilococos) é resultante da secreção, pela célula doadora, de uma substância chamada ferormônio. O ferormônio provoca a adesão e a agregação da célula doadora com as células receptoras, possibilitando a transferência dos plasmídios conjugativos (Schaberg & Zervos, 1986).

A transferência extracromossômica pela transferência de fatores R constitui o mais freqüente processo de resistência bacteriana aos antimicrobianos em hospitais, favorecido pela pressão seletiva do uso dessas drogas neste ambiente (Tavares, 2001).

2.2.4. Transposição

Denomina-se transposição a transferência de genes de um plasmídio para outro plasmídio, para o cromossomo ou para um bacteriófago, bem como do cromossomo para plasmídios, dentro de uma célula (Trabulsi et al., 2004).

Segundo Brooks et al. (2000), esta transferência se dá por meio de transposons, que são segmentos de DNA que podem “saltar” ou autotransferir-se de uma molécula de DNA para outra.

Diferentemente dos plasmídios, os transposons não são capazes de replicar-se independentemente. Os transposons, ao se incorporarem em plasmídios ou no cromossomo bacteriano, podem manter-se estáveis e replicar-se junto com o DNA receptor (Tavares, 2001).

A existência dos transposons explica a possibilidade de plasmídios apresentarem múltiplos genes de resistência, ao captarem genes de diferentes fontes, tais como plasmídios, cromossomos e bacteriófagos (Tavares, 2001).

3. Resistência cruzada

A resistência cruzada ocorre mais freqüentemente entre antimicrobianos pertencentes a um mesmo grupo e que agem por um mesmo mecanismo de ação (Tavares, 2001). É o que pode ocorrer com os antimicrobianos macrolídeos e lincomicina (Brooks et al., 2000).

4. Resistência adquirida aos diferentes antimicrobianos

O antimicrobiano não induz a resistência. A resistência adquirida é um fenômeno espontâneo da bactéria, sendo os antimicrobianos apenas agentes seletivos de amostras resistentes (Trabulsi et al., 2004).

Os mecanismos genéticos que codificam a resistência bacteriana se exteriorizam frente aos antimicrobianos por seis principais mecanismos bioquímicos de ação: inativação do fármaco por enzimas; alteração da permeabilidade bacteriana ao fármaco; alteração de sistema de transporte na célula bacteriana; retirada ativa do fármaco do meio intracelular (efluxo); alteração do receptor do fármaco; modificação no sistema metabólico ativo para o fármaco e síntese de vias metabólicas alternativas (Tavares, 2001).

Existem duas classes principais de antimicrobianos: os bacteriostáticos e os bactericidas. O primeiro apenas inibe o crescimento celular evitando sua multiplicação e facilitando a ação do sistema imunológico e o segundo extermina a célula bacteriana (Lorenz et al., 1996).

4.1. Beta-lactâmicos

Os antibióticos beta-lactâmicos ou beta-lactaminas constituem um grupo de fármacos com um grupamento químico denominado anel beta-lactâmico. Pertencem a esse grupo as penicilinas, cefalosporinas, cefamixinas, oxicefamixinas, amidinopenicilinas, carbapemênicos, ácido clavulânico, sulbactam e os antibióticos monobactâmicos (Andrade, 2002).

4.1.1. Penicilinas naturais

As penicilinas naturais, isto é, obtidas a partir de variedades do fungo *Penicillium*, são denominadas com letras maiúsculas do alfabeto. Assim, têm-se a penicilina H, F, G e X; dentre estas, a mais potente é a penicilina G, sendo a única usada em terapêutica (Spinosa et al., 2002).

A penicilina G e seus ésteres são bactericidas (Andrade, 2002), provocam a lise osmótica celular ao se ligarem e inibirem as enzimas de membrana que sintetizam um componente de parede celular bacteriana

denominado peptidoglicano. As proteínas em que se ligam são as chamadas proteínas ligadoras de penicilina (termo em inglês: “*penicillin-binding proteins*” – PBP) (Brooks et al., 2000, Andrade 2002). A PBP 1b tem atividade de transpeptidase e é a mais importante enzima que promove a união das cadeias que formam o peptidoglicano responsável pelo alongamento da célula, essencial para o crescimento bacteriano. A PBP 2 tem atividade de transpeptidase e carboxipeptidase, enzimas que catalisam a formação do peptidoglicano envolvido na manutenção da forma bacteriana durante a reprodução. Já a PBP 3 tem atividade de carboxipeptidase que induz a formação do peptidoglicano responsável pela septação e divisão celular. Desta maneira, ao bloquear a ação das PBPs 1b, 2 e 3, a penicilina G impede a formação dos peptidoglicanos necessários a formação da parede celular durante a reprodução bacteriana (Tavares, 2001).

As penicilinas naturais são ativas contra bactérias Gram-positivas aeróbicas e anaeróbicas, cocos Gram-negativos, espiroquetas e actinomicetos. Os bacilos Gram-negativos aeróbicos ou anaeróbicos, que ocorrem em animais, são naturalmente resistentes às penicilinas naturais (Andrade, 2002).

As bactérias geralmente se tornam resistentes a estes antimicrobianos pela produção das beta-lactamases. Estas substâncias são enzimas dotadas de capacidade de hidrolisar o anel beta-lactâmico, transformando os antibióticos correspondentes em produtos inativos (Trabulsi et al., 2004).

Praticamente 100% das linhagens de *Staphylococcus aureus* e aproximadamente 80% das outras linhagens de *Staphylococcus* são produtoras de beta-lactamases. A maioria dos bacilos Gram-negativos, principalmente os anaeróbicos, são naturalmente resistentes a penicilina G, com exceção do gênero *Pasteurella* (Andrade, 2002).

As beta-lactamases produzidas por *Staphylococcus aureus* são codificadas por plasmídios e hidrolisam rapidamente a benzil-penicilina e ampicilina, mas de modo geral, não são ativas contra a meticilina, oxacilinas e cefalosporinas. As beta-lactamases de bactérias Gram-negativas são em maior número e apresentam espectro de ação mais variado. As mediadas por plasmídios têm sido divididas em três grupos: beta-lactamases de largo espectro, oxacilinas e carbenicilinas. De modo geral, as do primeiro grupo,

hidrolisam penicilinas e cefalosporinas; as do segundo, penicilinas e oxacilinas; e as do terceiro, penicilinas e carbenicilinas (Trabulsi et al., 2004).

As bactérias também podem se tornar resistentes aos antimicrobianos beta-lactâmicos por alteração de permeabilidade e modificações em suas PBPs (Trabulsi et al., 2004). A inacessibilidade dos receptores aos fármacos ocorre devido à existência de barreiras de permeabilidade nas membranas externas bacterianas (Brooks et al., 2000).

4.1.2. Penicilinas semi-sintéticas

As isoxazolilpenicilinas apresentam uma cadeia lateral isoxazolil no ácido 6-aminopenicilânico, o que confere a este grupo resistência à ação de algumas das beta-lactamases. Pertencem a este grupo: a oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina e floxacilina (Andrade, 2002). Agem de maneira semelhante às penicilinas naturais, tendo ação bactericida ao inibir a síntese da parede celular (Trabulsi et al., 2004).

São ativas contra cocos e bacilos Gram-positivos aeróbios e anaeróbios, com exceção dos enterococos. Atuam contra cepas de estafilococos produtoras e não produtoras de penicilinase, especialmente *Staphylococcus aureus*, porém sua ação é menos efetiva que a da penicilina G frente a bactérias não produtoras de penicilinase, incluindo as referidas cepas de estafilococos não produtoras desta enzima (Petri, 2001).

Os *Staphylococcus* resistentes à oxacilina possuem resistência cruzada com a metilina, sendo denominados de *Staphylococcus* metilina resistentes. Este grupo de bactérias é caracterizado por apresentar múltipla resistência a diversos antimicrobianos (Moellering et al., 2007).

O mecanismo de resistência ocorre por alterações nas PBPs, ausência de algumas PBPs e por alteração da permeabilidade da membrana celular bacteriana que impede a penetração das isoxazolilpenicilinas no interior da célula bacteriana (Tavares, 2001).

4.1.3. Aminopenicilinas

Pertencem a este grupo a ampicilina e suas pró-drogas como a metampicilina e análogos da ampicilina, como a amoxicilina e ciclacilina. A amoxicilina age em sinergismo com o ácido clavulânico, um inibidor de beta-lactamases. O mecanismo é o mesmo das penicilinas naturais, porém a ampicilina é chamada de penicilina de amplo espectro, pois apresenta boa ação frente a algumas bactérias Gram-negativas (Andrade, 2002).

A resistência é mediada por beta-lactamases ou mutações nas PBPs. Amoxicilina e ampicilina apresentam resistência cruzada em quase 100% das vezes. Para contornar o problema da produção de beta-lactamases, a ampicilina e seus análogos têm sido associados a inibidores de beta-lactamases, entre os quais, o ácido clavulânico e o sulbactam (Tavares, 2001).

A resistência à ampicilina vem aumentando drasticamente nos últimos anos, em decorrência da larga utilização deste fármaco na terapêutica veterinária e humana (Andrade, 2002). Segundo Lorenz et al. (1996), a ampicilina foi um agente comumente escolhido para uso profilático na clínica de pequenos animais e os estudos demonstraram que esta droga só tem 37% de eficácia contra *Staphylococcus* spp. e apenas 55% contra *Escherichia coli*.

4.1.4. Carboxipenicilinas

Pertencem a este grupo a carbenicilina e a ticarcilina. São antimicrobianos bactericidas que inibem a síntese da parede celular bacteriana, de maneira semelhante às penicilinas naturais (Andrade, 2002).

Apresentam atividade frente a Gram-positivos e uma gama maior de Gram-negativos, superando a ampicilina. São fármacos especialmente ativos frente à *Proteus* indol-positivo e *Pseudomonas aeruginosa*, sendo chamados de penicilinas anti-pseudomonas (Tavares, 2001). O seu uso é limitado em medicina veterinária devido à dificuldade de administração que deve ser por gotejamento contínuo (Andrade, 2002).

A resistência às carboxipenicilinas é determinada por plasmídios e é manifestada pela produção de beta-lactamases. É o que ocorre com a

Klebsiella spp. (Tavares, 2001). Outro mecanismo de resistência a este fármaco é por mutações nas PBPs (Andrade, 2002).

4.2. Cefalosporinas e análogos

As cefalosporinas provêm do fungo *Cephalosporium acremonium*, o núcleo básico é o ácido 7-amino-cefalosporânico, semelhante ao das penicilinas (Spinosa et al., 2002).

Existem atualmente quatro gerações de cefalosporinas. Em medicina veterinária são mais comumente utilizadas cefalosporinas de primeira (como a cefalexina) e segunda geração (cefamandol, cefoxitina e cefaclor) (Greene, 1998).

São componentes da terceira geração cefamicina, cefotaxima, ceftriaxona (apresenta interesse na terapêutica de cães e gatos), cefodizima, cefmenoxima, ceftazidima, cefoperazona (presente em formulações para tratamento de mastite bovina), cefsulodina, cefotetano, cefbuperazona, moxalactan, oxacefens, ceftiofur (grande importância e utilização em medicina veterinária) (Andrade, 2002). Ainda não há relatos de uso em medicina veterinária das cefalosporinas de quarta geração (cefpiroma, cefepima, cefquinina e cefquinoma) (Spinosa et al., 2002).

São antimicrobianos bactericidas com mecanismo de ação semelhante ao da penicilina G (Spinosa et al., 2002). Atuam inibindo a síntese dos peptidoglicanos que formam a parede celular bacteriana e os septos das bactérias em divisão, originando protoplastos osmoticamente instáveis e formas alongadas que sofrem lise osmótica (Petri, 2001).

As cefalosporinas para exercerem tais efeitos deletérios nas células bacterianas, tal como a penicilina G, ligam-se as PBPs que são as carboxipeptidases e transpeptidases atuantes na união das cadeias peptídicas que formam os polímeros mucocomplexos dos peptidoglicanos (Petri, 2001).

As cefalosporinas de terceira geração apresentam boa ação frente à maioria das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. As cefalosporinas de geração mais recente são mais ativas frente a bacilos Gram-negativos, incluindo as *Pseudomonas*, porém são menos ativas contra os Gram-positivos. (Andrade, 2002). São fármacos menos suscetíveis as beta-lactamases que as

penicilinas, sendo portanto, mais potentes frente aos *Staphylococcus* (Brooks et al., 2000).

Os mecanismos de resistência bacteriana são mediados por mutação cromossômica ou por plasmídios e transposons e se manifesta por produção de beta – lactamases ou cefalosporinas ou por impermeabilidade da membrana celular a penetração das cefalosporinas (Petri, 2001).

4.3. Aminoglicosídeos

Os aminoglicosídeos são antimicrobianos bactericidas extraídos de actinomicetos do grupo *Streptomyces*. Pertencem a esse grupo: a estreptomicina, a neomicina, a canamicina, a amicacina, a tobramicina e a gentamicina; fármacos muito utilizados na medicina veterinária, exceto a canamicina (Spinosa et al., 2002).

A passagem dos aminoglicosídeos para o meio intracelular bacteriano ocorre por um mecanismo ativo de transporte, associado com a diferença de potencial elétrico existente entre os meios exterior e interior da célula. Os aminoglicosídeos têm carga elétrica positiva e são transportados para o meio intracelular, que tem carga elétrica negativa, pela diferença de potencial entre as duas faces da membrana celular (Tavares, 2001). Uma vez no interior da célula, estes antimicrobianos ligam-se a subunidade 30S do ribossomo bacteriano, provocando leitura incorreta do código genético e, conseqüentemente, permitem a incorporação de aminoácidos incorretos na cadeia polipeptídica que está sendo formada no ribossomo. Uma proteína fundamental para o metabolismo bacteriano é formada defeituosa, acarretando a morte da bactéria (Spinosa et al., 2002).

Os aminoglicosídeos têm atividade predominante sobre as bactérias Gram- negativas, principalmente enterobactérias, mas falham frente a germes de localização intracelular como a *Salmonella*. Com exceção da estreptomicina, são ativos frente à *Staphylococcus* (Andrade, 2002).

São três os mecanismos químicos da resistência: alterações de permeabilidade, modificações ribossômicas e produção de enzimas inativantes, sendo o último mais importante. Os dois primeiros são mediados

por mutações cromossômicas e, o último, por plasmídios R (Brooks et al., 2000).

As mutações podem afetar tanto o sítio de ação ribossômico como o transporte dos aminoglicosídeos para o interior da célula bacteriana. As mutações que afetam o sítio de ação são mais importantes com relação à estreptomicina, pois, além de freqüentes, elas determinam elevados níveis de resistência e não modificam a capacidade de crescimento da bactéria (Trabulsi et al., 2004). A ampla resistência à estreptomicina e a neomicina ocorre provavelmente pela utilização em larga escala desses antimicrobianos (Andrade, 2002).

Quanto à resistência mediada por plasmídios R, ela é sempre decorrente da produção de enzimas que modificam a molécula dos aminoglicosídeos. Três grupos de enzimas modificadoras são conhecidos: fosfo-transferases (PT), adenil-transferases (ADT) e acetil-transferases (ACT). As primeiras fosforilam e as segundas adenilam grupamentos OH, enquanto as acetil-transferases, por sua vez, acetilam grupamentos NH₂. Os três tipos de enzimas reduzem a atividade dos aminoglicosídeos porque modificam as moléculas destes antimicrobianos, eliminando ou reduzindo a sua capacidade de fixação às proteínas ribossômicas. Além disso, as modificações introduzidas parecem reduzir o transporte destes antimicrobianos para o interior da célula (Trabulsi et al., 2004).

A resistência aos aminoglicosídeos pode resultar de mutações que afetam o metabolismo energético da membrana, diminuindo assim a diferença de potencial por meio da membrana e reduzindo a penetração dos antimicrobianos. Este tipo de “impermeabilidade”, relacionada com a diminuição do transporte ativo dos aminoglicosídeos para o interior da célula, habitualmente é causa de resistência cruzada completa a vários ou a todos os antimicrobianos desta família (Tavares, 2001).

As bactérias anaeróbicas obrigatórias e *Listeria monocytogenes* são naturalmente resistentes aos aminoglicosídeos. Já as *Pseudomonas* spp. são sensíveis somente aos aminoglicosídeos surgidos por último, como a gentamicina e amicacina (Andrade, 2002).

4.4. Tetraciclinas

As tetraciclina s são produzidas por diversas espécies de *Streptomyces* e algumas são semi-sintéticas. Fazem parte desse grupo a doxiciclina, a oxitetraciclina, clortetraciclina, a metaciclina e a minociclina (Spinosa et al., 2002).

Esses antimicrobianos são bacteriostáticos de amplo espectro, atuando em Gram-positivos, Gram-negativos aeróbicos e anaeróbicos, clamídias, riquetsias, espiroquetas e micoplasmas (Andrade, 2002).

O mecanismo de ação consiste na inibição da síntese protéica, ligando-se ao ribossomo 30S da bactéria, impedindo o acesso do RNA transportador aminoacil ao local receptor (A) no complexo RNA mensageiro – ribossomo. Dessa maneira as tetraciclina s impedem a introdução de novos aminoácidos na cadeia peptídica em início (Brooks et al., 2000).

De modo geral as bactérias tornam-se resistentes às tetraciclina s por aquisição de plasmídios R. A resistência determinada por estes plasmídios é mediada por certas proteínas denominadas Tet (Tet A, B, C e D) que, uma vez formadas, localizam-se na membrana citoplasmática, provocando a saída das tetraciclina s do citoplasma da bactéria. Embora os plasmídios R, que codificam as proteínas Tet, sejam bastante freqüentes em muitas bactérias, não têm sido encontrados nas bactérias cujas infecções são preferencialmente tratadas com estes fármacos (Trabulsi et al., 2004). Ocorre ainda a resistência por inativação enzimática das tetraciclina s (Andrade, 2002)

A resistência às tetraciclina s é muito comum entre os bacilos Gram-negativos entéricos portadores dos plasmídios R. Esta alta prevalência da resistência a estes antimicrobianos deve-se à transmissibilidade de plasmídios e parece estar relacionada com a estreita proximidade dos genes que determinam a resistência com a parte do plasmídio que comanda a transferência (Tavares, 2001).

4.5. Cloranfenicol

É produzido pelo *Streptomyces venezuelae*, podendo também ser obtido por síntese laboratorial. O tianfenicol e o florfenicol são análogos ao cloranfenicol (Spinosa et al., 2002).

O cloranfenicol possui amplo espectro, exercendo ação eficaz sobre grande número de bactérias Gram positivas, Gram negativas, *Mycoplasma* spp, *Ehrlichia canis*, riquetsias e clamídias (Tavares, 2001).

Sua atividade bacteriostática é exercida pela sua ligação com as subunidades 30S e 50S do ribossomo bacteriano. Ao se ligar a fração 30S do ribossomo, impede a ligação do RNA mensageiro ao mesmo, competindo com este ácido nucléico que carrega o programa da proteína a ser formada, ou seja, a cópia completa do fragmento de DNA com a informação genética. Porém, o principal mecanismo de ação do cloranfenicol se dá pela sua ligação na subunidade 50S do ribossomo bacteriano, impedindo, desta forma, a ação da enzima peptiltransferase, uma transferase ribossômica, com conseqüente bloqueio do deslocamento do ribossomo ao longo do RNA mensageiro e a ligação dos aminoácidos trazidos pelo RNA transportador, não ocorrendo a formação da proteína codificada geneticamente no cromossomo (Tavares, 2001).

Segundo a instrução normativa número 9, de 27 de junho de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, fica proibido a fabricação, manipulação, fracionamento, comercialização, importação e utilização dos princípios ativos cloranfenicol e nitrofuranos e dos produtos que contenham tais princípios ativos para uso veterinário e suscetível de emprego na alimentação dos animais. Os produtos autorizados que continham tais fármacos foram retirados do comércio. Tal medida se deve aos efeitos tóxicos que estes fármacos causariam a espécie humana caso fossem consumidos na forma de resíduos em carne, leite e derivados. Já o florfenicol, mantém o mesmo espectro de ação frente a agentes bacterianos, mas não apresenta efeitos tóxicos para o sistema hematopoiético, podendo ser utilizado nas espécies animais de produção pecuária de corte e leite destinados ao consumo humano (Rang et al., 2004).

A resistência bacteriana ao cloranfenicol é mediada por uma enzima inativadora do antimicrobiano, denominada cloranfenicol-acetil-transferase (CACT). Esta enzima acetila os grupamentos OH do antibiótico, tornando-o inativo e é codificada por plasmídios R (Trabulsi et al., 2004).

A produção da cloranfenicol-acetil-transferase é mediada por genes plasmidiais, tanto em bastonetes Gram-negativos como em estafilococos, pneumococos e estreptococos (Tavares, 2001).

Em um estudo realizado em 2004, de 360 amostras de *Streptococcus* spp, 60,44% se mostraram resistentes a penicilina e 77,34% foram sensíveis ao cloranfenicol (Paes et al., 2004).

A resistência bacteriana ao cloranfenicol pode ainda ocorrer por impermeabilidade do sistema de membranas à sua penetração, porém é pouco freqüente e mediada por plasmídios, ocorrendo em algumas cepas de *Escherichia coli* e de *Haemophilus influenzae* (Tavares, 2001).

O florfenicol é considerado o mais eficaz do grupo (Andrade, 2002). É um antimicrobiano de amplo espectro, abrangendo bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e *Ehrlichia canis*, sendo que a sua utilização na medicina veterinária aumentou recentemente (Andrade, 2002).

O florfenicol, como o cloranfenicol, tem ação bacteriostática inibindo a síntese protéica bacteriana, sendo que os sítios ribossômicos ocupados são os mesmos onde atua o cloranfenicol (Sams, 1997).

Como o florfenicol contém um átomo de flúor na posição do carbono 3, local onde o cloranfenicol possui o radical hidroxila, isto reduz o número de locais disponíveis para as reações de acetilação bacteriana, o que torna este antimicrobiano mais resistente a inativação por enzimas produzidas por bactérias (Papich & Riviere, 2003). Da mesma forma que ocorre com o cloranfenicol, outro mecanismo de resistência bacteriana ao florfenicol provavelmente se deve a impermeabilidade da parede celular bacteriana à penetração do mesmo (Paes et al., 2004).

4.6. Quinolonas

As quinolonas são um grupo de antimicrobianos bactericidas de amplo espectro e de grande aplicação tanto na medicina quanto na

veterinária (Mitchell, 2006). Existem atualmente quatro gerações de quinolonas: primeira geração (ácido nalidíxico, ácido oxonílico), segunda geração que são as fluorquinolonas (norfloxacino, ciprofloxacino, ofloxacino, pefloxacino, enrofloxacino, danofloxacino, orbifloxacino, marbofloxacino); de terceira geração (levofloxacino, esparfloxacino) e de quarta geração (trovafloxacino, clinafloxacino, sitafloxacino) (Spinosa et al., 2002).

As fluorquinolonas possuem como característica química em relação às outras quinolonas um átomo de flúor ligado na posição 6 da molécula estrutural básica, o que aumenta notavelmente a atividade antimicrobiana frente a bactérias Gram-negativas. Por este motivo, as fluorquinolonas são um grupo de agentes antimicrobianos sintéticos utilizados em medicina humana e medicina veterinária para o tratamento de um grande número de infecções e de enfermidades infecciosas (Otero et al., 2001).

O mecanismo de ação das quinolonas se dá pela inibição da DNA girase bacteriana, enzima que controla a direção e extensão do espiralamento das cadeias de DNA (Appelbaum & Hunter, 2000).

As quinolonas de primeira geração possuem um pequeno espectro, atuando em *Escherichia coli* e *Proteus* sp. As de segunda geração são ativas contra bactérias Gram-negativas, Gram-positivas, micoplasmas e clamídias. Já as quinolonas de terceira geração têm o mesmo espectro das de segunda geração, porém são ativas frente ao *Streptococcus pneumoniae* (Andrade, 2002).

A resistência adquirida as fluorquinolonas ocorre nas bactérias Gram-negativas, especialmente frente à *Pseudomonas aeruginosa* e é de origem cromossômica. É um processo de mutação levando ao aparecimento de DNA girase e topoisomerasas IV modificadas e refratárias a ação destes antimicrobianos. A resistência bacteriana as fluorquinolonas também pode se manifestar por modificações nos canais porínicos da membrana celular externa das bactérias, o que diminui radicalmente a difusão dos antimicrobianos para o interior celular. Mecanismos de resistência bacteriana frente às fluorquinolonas mediados por plasmídios foram pouco observados e são insignificantes (Tavares, 2001, Mitchell, 2006).

Os microrganismos resistentes às quinolonas podem apresentar reação cruzada com outros grupos de antimicrobianos como as cefalosporinas, o cloranfenicol e as tetraciclina (Spinosa et al., 2002).

Segundo estudos de Karaca et al.(2005) realizados na Turquia, observou-se que a taxa de resistência às quinolonas aumentou nos últimos dez anos, atingindo 25,3% para ofloxacino e 27,6% para ciprofloxacino em amostras de *Escherichia coli* isoladas de infecções urinárias em humanos.

4.7. Macrolídeos

Os macrolídeos são antimicrobianos bacteriostáticos, que se ligam a fração 50S do ribossomo bacteriano, impedindo a síntese protéica. Pertencem a este grupo a eritromicina, a espiramicina, a josamicina, a roxitromicina, a claritromicina, a azitromicina e a tilosina (Tavares, 2001).

A espiramicina é o macrolídeo de menor espectro de atividade antimicrobiana, sendo ineficaz contra micoplasma, porém apresenta melhor tolerância por via oral e maior concentração tissular do que a eritromicina. A azitromicina é um macrolídeo semi-sintético derivado da eritromicina, que se caracteriza pelo maior espectro de ação, sendo capaz de atuar contra bactérias Gram-negativas (Spinosa et al., 2002).

Em geral, atuam sobre bacilos e cocos Gram-positivos, cocos Gram-negativos, treponemas, alguns bacilos Gram-negativos não-fermentadores da glicose, actinomicetos, riquetsias, clamídias, micoplasmas, bactérias anaeróbicas e *Campylobacter* (Andrade, 2002).

A resistência deste antimicrobiano pode ser decorrente de mutação ou plasmídeo R. A resistência por mutação tem sido encontrada em *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* e outras bactérias, sendo devido a uma alteração de uma proteína na subunidade 50S, onde se fixa a eritromicina. A resistência mediada por plasmídios R pode ser encontrada nas mesmas bactérias, mas é decorrente de metilação do RNA ribossômico. Em consequência desta alteração, o antimicrobiano não se fixa aos ribossomos (Trabulsi et al., 2004).

4.8. Lincosaminas

As lincosaminas são um grupo de antimicrobianos bacteriostáticos representados pela lincomicina e clindamicina. Estes fármacos inibem a síntese protéica bacteriana pela ligação à subunidade ribossômica 50S (Andrade, 2002).

É ativa contra bactérias Gram-positivas aeróbias e anaeróbias, *Toxoplasma* sp., *Mycoplasma* sp. e *Neospora caninum*. A atividade antimicrobiana da clindamicina é maior do que a lincomicina, especialmente em bactérias anaeróbicas (Andrade, 2002).

A resistência bacteriana se dá pela alteração no local de ligação ao fármaco pelo ribossomo bacteriano (Andrade, 2002). As bactérias Gram-positivas e anaeróbicas podem se tornar resistentes à lincomicina e à clindamicina por modificação no RNA de transporte (Tavares, 2001).

Além disso, a resistência à lincosamidas pode ocorrer devido à inativação enzimática por uma lincosamida-nucleotidiltransferase, codificada geneticamente em plasmídios (Moreira & Daum, 1995). A resistência cruzada é comum entre lincosaminas e macrolídeos (Andrade, 2002).

4.9. Vancomicina

A vancomicina foi isolada a primeira vez do *Streptomyces orientalis* em 1956 (Spinosa et al., 2002). É bactericida, atuando contra bactérias Gram-positivas, impedindo a síntese da parede celular bacteriana pela inibição da liberação de um polímero da membrana celular (Andrade, 2002).

É rara a resistência adquirida à vancomicina, bem como a resistência cruzada com outros antimicrobianos, com exceção da avoparcina, sendo dessa maneira uma das poucas opções terapêuticas no tratamento das bactérias multidrogas resistentes (Spinosa et al., 2002).

A resistência dos enterococos à vancomicina é decorrente de uma única enzima que modifica a unidade precursora da parede celular de tal forma que ele não se liga mais a vancomicina (Andrade, 2002).

Em 1988, foi verificado que cepas de *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis* mostravam-se resistentes à vancomicina devido à

existência de um gene denominado Van A, presente em um plasmídeo transmissível. Este gene promove a formação de um novo precursor do peptidoglicano, o qual tem afinidade diminuída pelos glicopeptídeos (Goldmann, 1992).

4.10. Rifamicinas

As rifamicinas foram originalmente obtidas da cultura de *Streptomyces mediterranei*, em 1957; destas, a mais ativa foi a rifamicina B, a partir da qual foram obtidos vários derivados semi-sintéticos, como a rifamicina SV, a rifamida e a rifampicina (Spinosa et al., 2002).

São antimicrobianos bactericidas, que inibem a RNA-polimerase dependente de DNA, impedindo o início da síntese de RNA (Tavares, 2001). Atua em bactérias Gram-positivas e micobactérias (Andrade, 2002).

A resistência a estes fármacos é devido a mutações, que alteram as enzimas RNA polimerase e girases, que são inibidas, respectivamente, pelas rifamicinas. As alterações fazem com que estas enzimas não mais se combinem com os dois grupos de antimicrobianos (Tavares, 2001; Trabulsi, 2004).

O surgimento de resistência às rifamicinas ocorre com certa facilidade entre as enterobactérias, estafilococos, meningococos e o *Mycobacterium tuberculosis*, em decorrência de mutações nesses microrganismos (Benveniste & Davies, 1973). Não ocorre resistência cruzada com outros antimicrobianos (Spinosa et al., 2002).

4.11. Sulfonamidas e Trimetoprim

As sulfonamidas são bacteriostáticas para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas entéricas, clamídias, *Nocardia* spp. e protozoários (Brooks et al., 2000). O seu efeito é potencializado pelo trimetoprim (Andrade, 2002).

As sulfas competem com o ácido para-aminobenzóico (PABA), um precursor do ácido fólico. Este por sua vez é precursor das substâncias que formam os ácidos nucléicos bacterianos (Andrade, 2002).

A resistência bacteriana às sulfas normalmente ocorre de maneira gradativa e lenta. Entretanto, uma vez estabelecida é persistente e irreversível

(Spinosa et al., 2002). A resistência pode ser decorrente de mutação ou da aquisição de plasmídios R. As mutações podem levar a superprodução de PABA e alterações estruturais de enzimas que participam da síntese do ácido tetraidrofólico. Os plasmídios R codificam uma diidropteroato sintetase, com a qual as sulfonamidas não combinam. Embora as bactérias possam se tornar resistentes ao trimetoprin por meio de mutação, o mecanismo genético mais importante é a aquisição de plasmídios R, que codificam a síntese de uma diidrofolato redutase, que é resistente à ação do fármaco (Trabulsi et al., 2004).

Em estudo recente realizado por Apulche et al. (2007), a resistência do *Streptococcus pneumoniae* frente às sulfonamidas e trimetoprina foi de 51% no Brasil. A resistência natural às sulfonamidas e ao trimetoprin mediada por genes cromossômicos é encontrada na *Pseudomonas aeruginosa*, resultando de impermeabilidade aos fármacos (Tavares, 2001). Em relação à *Klebsiella* a resistência ocorre pela produção de diidrofolato-redutase com menor afinidade pelo trimetoprin (Andrade, 2002).

Objetivo

Materiais e Métodos

III. OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo traçar o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de bactérias patogênicas causadoras de diferentes infecções isoladas de cães.

IV. MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras foram coletadas de cães, machos e fêmeas, de diferentes idades e raças, com infecções bacterianas variadas.

As amostras foram semeadas em meio de ágar Mac Conkey e base de ágar sangue composta com 7% de sangue ovino desfibrinado. Em seguida, as amostras foram incubadas em condições de aerobiose à 37°C e observadas em 24, 48, 72 e 96 horas.

Para as amostras que apresentaram isolamentos, estas tiveram sua análise macroscópica, microscópica (morfotintorial pelo método de Gram) e bioquímica, seguindo as provas taxonômicas segundo Carter (1994).

As amostras coletadas para o antibiograma seguiram a metodologia sugerida pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). O meio de cultivo para o antibiograma foi Agar Mueller-Hinton (MHA), distribuído em placas de Petri de 14 cm de diâmetro interno.

Foram selecionadas e repicadas 4 ou 5 colônias sob teste para 5 mL de meio de cultivo em caldo. O caldo inoculado foi incubado por 2 a 8 horas à temperatura de 37° C, deixando assim o microrganismo crescer até atingir a turbidez padrão ou ajustando se necessário.

A turbidez padrão foi preparada à base de Cloreto de Bário e Ácido sulfúrico da seguinte maneira: 0,5 mL de 0,048M BaCl₂ adicionado a 99,5mL de 0,18M, que corresponde a 0,5 da escala de Mac Farland.

Dentro de 15 minutos após o ajustamento da turbidez, foi introduzido um swab estéril e não tóxico no inóculo, para colheita de amostra bacteriana, sendo o material assim obtido distribuído homogeneamente pela superfície da placa de Petri para posterior colocação dos discos com os antimicrobianos a serem testados.

Os discos para antibiograma SENSIFAR foram colocados sobre a superfície da placa com o auxílio de uma pinça estéril. A distância mínima entre os discos foi de 24 mm entre seus respectivos centros.

Após a colocação dos discos, as placas foram incubadas a 37 °C, sendo que a leitura das placas foi realizada após 24 horas de incubação. Os diferentes microrganismos foram avaliados como sensíveis ou resistentes, com o grupo intermediário considerado resistente.



FIGURA 1. Placa com discos para antibiograma, Botucatu 2009.

A análise dos resultados foi realizada de acordo com os diferentes microrganismos e drogas testadas, utilizando-se como método estatístico a análise descritiva com porcentagem simples.

QUADRO 1. Fármacos utilizados nos antibiogramas em relação às diferentes cepas bacterianas, Botucatu 2009.

	Gram-negativos	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> spp.
Amicacina	X	NT	X
Amoxicilina + Ác. Clavulânico	X	X	X
Ampicilina	X	X	X
Azitromicina	X	X	X
Cefalexina	X	X	X
Ceftiofur	X	X	X
Ceftriaxona	X	X	X
Ciprofloxacino	X	X	X
Cloranfenicol	X	X	X
Doxiciclina	X	NT	NT
Enrofloxacino	X	X	X
Eritromicina	NT	X	NT
Florfenicol	X	X	NT
Gentamicina	X	NT	X
Levofloxacino	X	X	X
Norfloxacino	X	X	X
Oxacilina	NT	X	X
Penicilina G	NT	X	NT
Sulfametrim	X	X	X
Tetraciclina	X	X	X
Vancomicina	NT	NT	X

* NT: Não testado

RESULTADOS E DISCUSSÃO

V. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O maior grupo isolado foi das bactérias Gram-negativas, sendo identificados 54 microrganismos. No grupo dos *Streptococcus* spp. foram isoladas 25 amostras e no grupo dos *Staphylococcus* spp. 21 amostras.

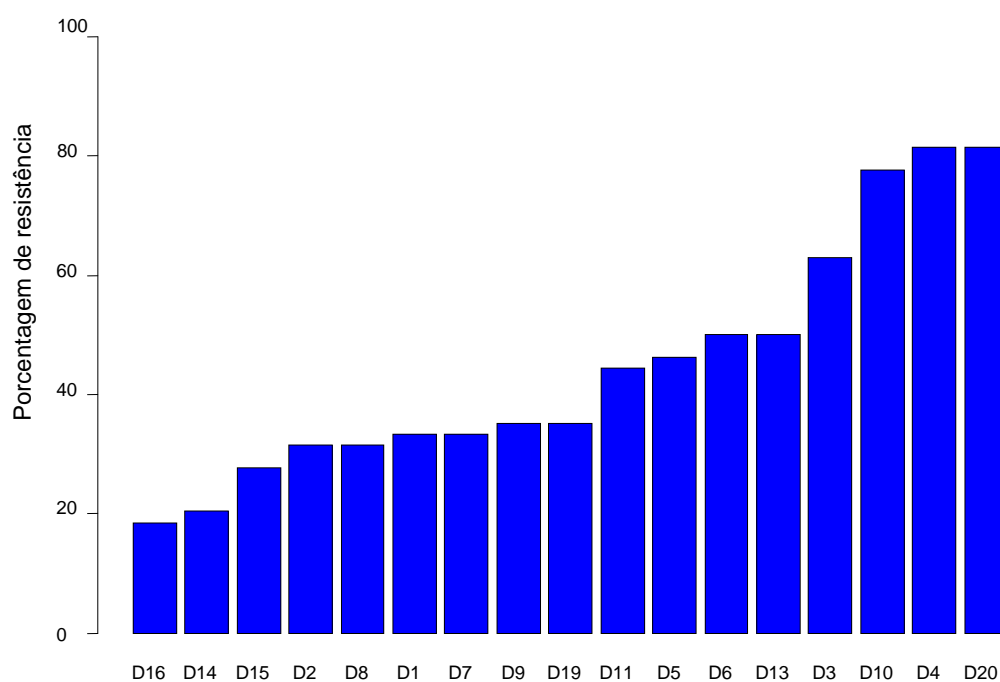
No grupo das bactérias Gram-negativas o agente mais isolado foi a *Escherichia coli* (55,55%), seguido do *Proteus* spp. (14,81%) e *Pseudomonas* spp. (11,1%). Também foram isolados: *Klebsiella* spp. (5,55%), *Enterobacter cloacae* (3,70%), *Corynebacterium* spp. (3,70%), *Hafnia alvei* (1,85%), *Pasteurella* spp (1,85%) e *Neisseria* spp (1,85%).

TABELA 1. Porcentagem de resistência bacteriana frente aos antimicrobianos testados, Botucatu 2009.

%	Gram-negativos (n=54)	<i>Streptococcus</i> (n=25)	<i>Staphylococcus</i> (n=21)
amicacina	33,33	NT	4,76
amoxicilina+ác.clavulânico	31,48	4,00	4,76
ampicilina	62,96	48,00	57,14
azitromicina	81,48	48,00	33,33
cefalexina	46,30	12,00	9,52
ceftiofur	50,00	28,00	9,52
ceftriaxona	33,33	28,00	9,52
ciprofloxacino	31,48	48,00	23,81
cloranfenicol	35,19	32,00	9,52
doxiciclina	77,78	NT	NT
enrofloxacino	44,44	52,00	23,81
eritromicina	NT	72,00	NT
florfenicol	50,00	24,00	NT
gentamicina	20,37	NT	4,76
levofloxacino	27,78	52,00	4,76
norfloxacino	18,52	48,00	19,05
oxacilina	NT	28,00	23,81
penicilina G	NT	48,00	NT
sulfametrin	35,19	48,00	52,38
tetraciclina	83,02	80,00	52,38
vancomicina	NT	NT	13,33

*NT: não testado

Os antimicrobianos que apresentaram menor eficácia para as bactérias Gram-negativas foram: tetraciclina com 83,02% de resistência, em seguida a azitromicina com 81,48%. Nesse mesmo grupo, alguns antimicrobianos obtiveram baixa eficácia, como é o caso da doxiciclina que apresentou 77,78% de resistência bacteriana, ampicilina 62,96%, ceftiofur 50%, florfenicol 50%, cefalexina 46,3% e enrofloxacino 44,44%. As drogas mais eficazes para essas bactérias foram: norfloxacino 18,52% de resistência bacteriana, gentamicina 20,37%, levofloxacino 27,78%, amoxicilina + ácido clavulânico 31,48%, ciprofloxacino 31,48%, amicacina 33,33%, ceftriaxona 33,33%, cloranfenicol 35,19% e sulfa + trimetoprin 35,19%.



Legenda:

D1: amicacina	D5: cefalexina	D10: doxiciclina	D16: norfloxacino
D2: amoxicilina + ác. clavulânico	D6: ceftiofur	D11: enrofloxacino	D19: sulfametrim
D3: ampicilina	D7: ceftriaxona	D13: florfenicol	D20:tetraciclina
D4: azitromicina	D8: ciprofloxacino	D14: gentamicina	
	D9: cloranfenicol	D15: levofloxacino	

FIGURA 2. Resistência das bactérias Gram-negativas frente aos antimicrobianos testados, Botucatu, 2009.

A tetraciclina e a doxicilina foram os fármacos mais ineficazes para as bactérias Gram-negativas, indicando que pode ocorrer reação cruzada entre esses grupos de antimicrobianos. A resistência as tetraciclinas é em decorrência da aquisição dos plasmídios R, principalmente nos bacilos Gram-negativos entéricos que são portadores desses elementos genéticos extracromossomais.

A azitromicina apresentou alta porcentagem de resistência, a essas bactérias. Segundo Tavares (2001), os bacilos Gram-negativos, dos gêneros *Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas* são naturalmente resistentes à azitromicina. Porém em relação a outras bactérias Gram-negativas a resistência ocorreu por transferência de plasmídios R que levam à metilação do RNA ribossômico, impedindo a fixação do antimicrobiano no ribossomo da bactéria.

A ampicilina e amoxicilina com ác. clavulânico são fármacos muito utilizados na medicina veterinária, em especial para infecções causadas por bactérias Gram-negativas. Porém o desempenho de ambas foi baixo, em especial a ampicilina, confirmando a afirmação do aumento drástico da sua resistência nos últimos anos em decorrência da ampla utilização na terapêutica, muitas vezes de forma inadequada.

As cefalosporinas de primeira e terceira geração apresentaram alta porcentagem de resistência, especialmente o ceftiofur que foi o mais ineficaz desse grupo de antimicrobianos. Era esperado que a cefalosporina de terceira geração, ceftiofur, apresentasse melhor desempenho do que cefalosporina de primeira geração, cefalexina, porém, a porcentagem de resistência foi semelhante entre ambos. É importante que se leve em consideração que o ceftiofur é um antimicrobiano de custo elevado, muito utilizado em medicina veterinária, mas no presente trabalho apresentou desempenho similar a fármacos mais baratos, não justificando a relação custo-benefício da sua utilização. A ceftriaxona foi a cefalosporina de melhor desempenho frente aos Gram-negativos.

O florfenicol é considerado mais eficaz desse grupo de antimicrobianos devido a possuir um átomo de flúor na posição do carbono 3, local onde o cloranfenicol possui o radical hidroxila o que reduziria o número de locais disponíveis para as reações de acetilação bacteriana, tornando-o

mais resistente a inativação por enzimas produzidas por bactérias. Porém no presente estudo, foi observado maior porcentagem de resistência ao florfenicol do que ao cloranfenicol. Isso pode ter ocorrido pela resistência primária ao florfenicol observada usualmente com a *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia* spp. e *Proteus* spp. Em relação aos outros agentes Gram-negativos, pode ter ocorrido a resistência adquirida por transferência de plasmídios com genes de resistência, observada entre as enterobactérias, estreptococos e estafilococos. A baixa eficácia do cloranfenicol frente a esse grupo de bactérias pode ser explicada por sua inativação enzimática, sendo o principal mecanismo de resistência a este antimicrobiano devido à presença nas bactérias resistentes da cloranfenicol-acetiltransferase.

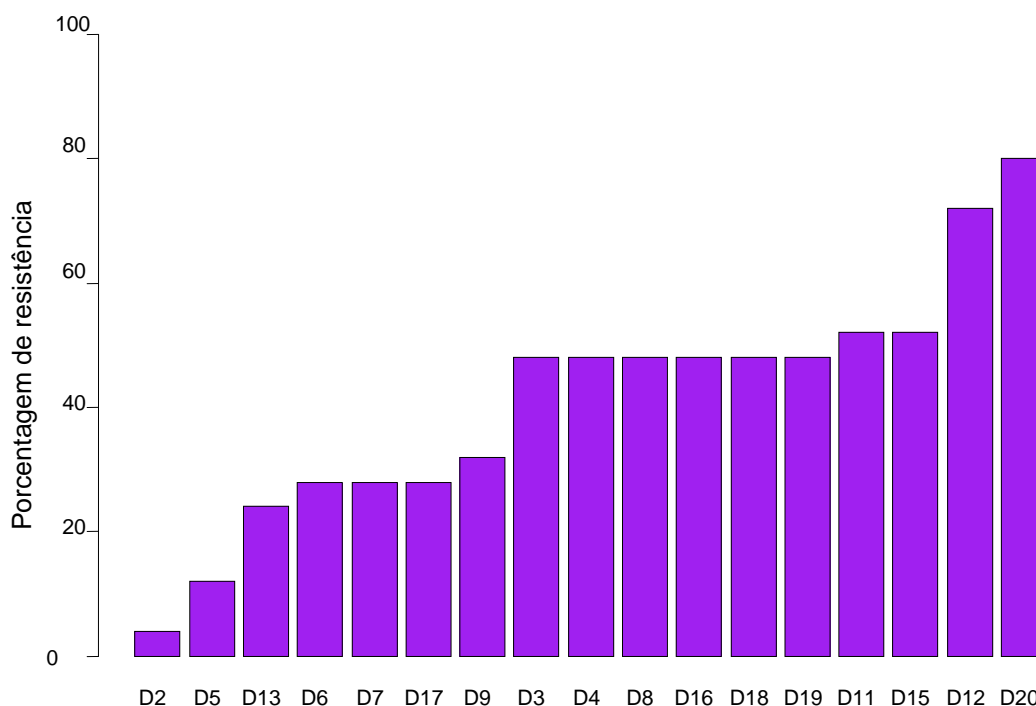
Nas fluorquinolonas também foram observadas altas porcentagens de resistência, em especial ao enrofloxacino. A resistência adquirida é de origem cromossômica e ocorre com frequência nas bactérias Gram-negativas, especialmente a *Pseudomonas aeruginosa*. O levofloxacino apresentou considerável resistência a esse grupo de bactérias, mesmo sendo o seu uso ainda pouco freqüente na medicina veterinária. Isso pode ser explicado pela resistência cruzada com outras fluorquilononas muito utilizadas na terapêutica veterinária, como o enrofloxacino. Karaka et al. (2005), constataram que a resistência do ciprofloxacino frente a *Escherichia coli* era de 27,6% em humanos e no presente estudo mostrou que essa porcentagem é de 31,48% para cães.

O baixo desempenho da sulfa associada ao trimetoprim no caso das *Pseudomonas* spp. é devido aos genes cromossômicos encontrados nessas bactérias, resultando na impermeabilidade da droga. Em relação à *Klebsiella* spp. a resistência ocorreu pela produção de diidrofolato-redutase, com menos afinidade pelo trimetoprim (Tavares, 2001).

A amicacina apresentou baixa eficácia frente as bactérias Gram-negativas. Isso pode ter ocorrido por transferência de plasmídio com genes de resistência (Brooks et al., 2000).

Streptococcus spp. foi o grupo que apresentou maior número de cepas resistentes. Os fármacos com baixa eficácia foram: tetraciclina com 80% de resistência, eritromicina 72%, enrofloxacino 52%, levofloxacino 52%, ampicilina 48%, azitromicina 48%, ciprofloxacino 48%, norfloxacino 48%,

penicilina G 48% e sulfa + trimetoprin 48% de resistência. Os antimicrobianos mais eficazes para os *Streptococcus* spp. foram: amoxicilina + ácido clavulânico com 4% de resistência, cefalexina 12%, florfenicol 24%, ceftiofur 28%, ceftriaxona 28%, oxacilina 28% e cloranfenicol com 32% de resistência.



Legenda:

D2: amoxicilina + ác. clavulânico	D6: ceftiofur	D12: eritromicina	D18: penicilina G
D3: ampicilina	D7: ceftriaxona	D13: florfenicol	D19: sulfametrin
D4: azitromicina	D8: ciprofloxacino	D15: levofloxacino	D20: tetraciclina
D5: cefalexina	D9: cloranfenicol	D16: norfloxacino	
	D11: enrofloxacino	D17: oxacilina	

FIGURA 3. Resistência dos *Streptococcus* spp. frente aos antimicrobianos testados, Botucatu 2009.

Assim como no caso das bactérias Gram-negativas, a tetraciclina apresentou maior porcentagem de resistência frente aos estreptococos, indicando a aquisição de plasmídios R e o seu uso indiscriminado por longo tempo em medicina veterinária como principais causas da resistência.

A azitromicina, assim como a eritromicina, apresentou alta porcentagem de resistência frente a esse grupo de bactérias, que pode ser explicado pela mutação que tem sido encontrada em *Streptococcus pyogenes* e *Staphylococcus aureus*, alterando uma proteína na subunidade 50S, onde se fixa os macrolídeos, não ocorrendo assim a fixação do antimicrobiano ao ribossomo da bactéria (Trabulsi et al., 2004).

As fluorquinolonas apresentaram baixa eficácia, especialmente o enrofloxacino, com maior porcentagem de resistência frente aos estreptococos em relação aos demais grupos bacterianos. A maior porcentagem de resistência do levofloxacino foi frente aos *Streptococcus* spp. Sendo uma droga praticamente não utilizada em medicina veterinária, pode-se concluir que está ocorrendo resistência cruzada com outros antimicrobianos, o que inviabiliza a prescrição de um fármaco ainda não devidamente utilizado em medicina veterinária. É conhecido que os microrganismos resistentes às quinolonas podem apresentar resistência cruzada com cefalosporinas, cloranfenicol e tetraciclina (Tavares, 2001).

A amoxicilina associada ao ácido clavulânico foi ativa contra *Streptococcus* spp. diferentemente da ampicilina, indicando que não ocorreu resistência cruzada que é extremamente comum nesse grupo de antimicrobiano. Podemos concluir também que o ácido clavulânico tem se mostrado efetivo frente as betalactamases.

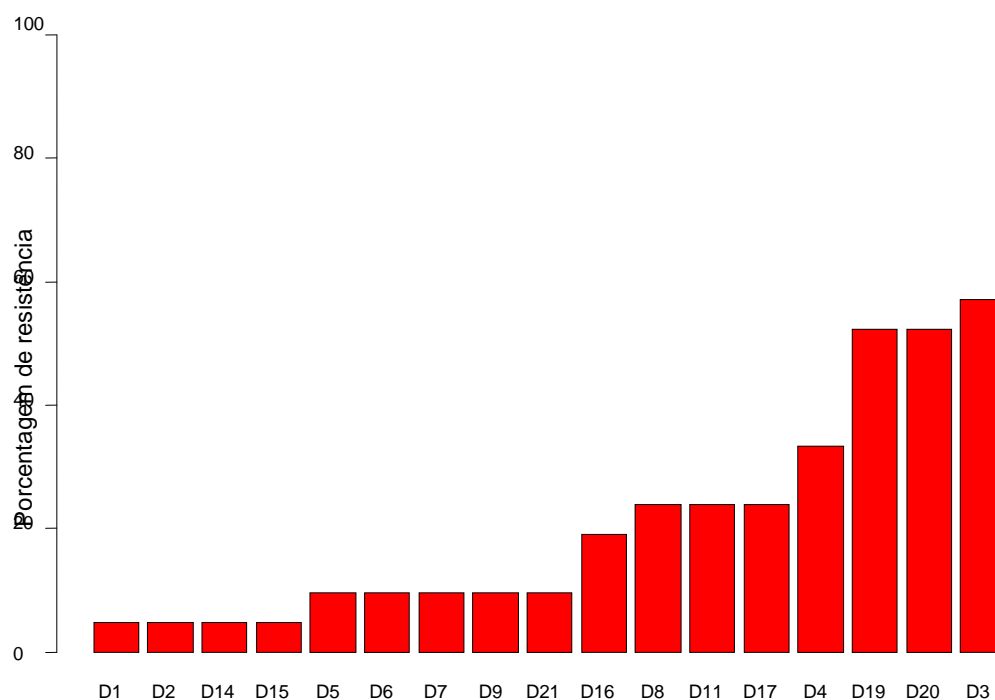
A penicilina G apresentou baixa eficácia frente a esse grupo de bactérias, como já foi descrito em estudo anterior (Paes et al., 2004). Como os estreptococos não produzem beta-lactamases, o mecanismo de resistência está relacionado a modificações nas PBPs, que apresentam menor afinidade pela droga o que diminui a ligação nas mesmas (Tavares, 2001).

A oxacilina foi menos eficaz frente aos *Streptococcus*, sendo as alterações das PBPs e alterações da permeabilidade da membrana celular bacteriana os mecanismos mais comuns de resistência.

O florfenicol foi mais eficaz contra os estreptococos do que o cloranfenicol. Isso mostra que frente aos *Streptococcus*, o florfenicol é mais resistente a inativação por enzimas produzidas por essas bactérias.

No grupo dos *Staphylococcus* spp. não ocorreram altos índices de resistência aos antimicrobianos testados. Os fármacos com menor eficácia

foram: ampicilina com 57,14% de resistência, sulfa + trimetoprin e tetraciclina 52,38% de resistência. As drogas mais eficazes foram: amicacina, amoxicilina + ácido clavulânico, gentamicina, levofloxacino, com 4,76% de resistência; cefalexina, ceftiofur, ceftriaxona e cloranfenicol, 9,52%; vancomicina 13,33%, norfloxacino 19,05%, ciprofloxacino, enrofloxacino e oxacilina 23,81% e azitromicina com 33,33% de resistência.



Legenda:

D1: amicacina	D5: cefalexina	D11: enrofloxacino	D19: sulfametrin
D2: amoxicilina + ác. clavulânico	D6: ceftiofur	D14: gentamicina	D20: tetraciclina
D3: ampicilina	D7: ceftriaxona	D15: levofloxacino	D21: vancomicina
D4: azitromicina	D8: ciprofloxacino	D16: norfloxacino	
	D9: cloranfenicol	D17: oxacilina	

FIGURA 4. Resistência dos *Staphylococcus* spp. frente aos antimicrobianos testados, Botucatu, 2009.

A penicilina antiestafilocócica oxacilina apresentou porcentagem de resistência considerável, sendo resultado de genes cromossômicos que codificam mutações no receptor de ação dos beta-lactâmicos, as PBPs,

havendo a produção de novas PBPs (PBP 2a ou PBP2') com pequena afinidade por esses antimicrobianos (Tavares, 2001). Os estafilocos resistentes as oxacilinas, provavelmente são resistentes também a meticilina e cefalosporinas devido a resistência cruzada entre esses ocorrer com muita frequência (Moellering et al., 2007).

A vancomicina é uma das últimas opções terapêuticas contra bactérias multidrogas resistentes em medicina humana e é proibido seu uso na medicina veterinária. Porém, 13,33% dos *Staphylococcus* testados apresentaram resistência a essa droga e como não houve administração de vancomicina nos cães, podemos supor que ocorreu uma resistência mediada por plasmídios, de bactérias humanas resistentes para os animais. Isto talvez represente o mais que surpreendente achado em termos de resistência bacteriana observado neste trabalho e é um risco real em saúde pública pois expõem as pessoas que tem contato direto com os cães a cepas de *Staphylococcus* totalmente resistentes a um antimicrobiano reservado para situações especiais nos hospitais.

Na tabela 2 podemos observar os elevados percentuais de resistência aos grupos bacterianos testados, em especial as tetraciclinas e a doxiciclina que foram as drogas com o pior desempenho.

A azitromicina também apresentou baixo desempenho frente as bactérias testadas. E essas altas porcentagens significam que está ocorrendo um aumento crescente da resistência a esse antimicrobiano surpreendentemente, pois seu uso em medicina veterinária ainda é pouco difundido.

A ampicilina teve pior desempenho quando comparada a amoxicilina, isso demonstra que não houve resistência cruzada comum entre esses fármacos. A amoxicilina associada ao ácido clavulânico foi mais ativa contra *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* spp.

Foi observado alta resistência da sulfa frente aos grupos bacterianos, isso está ocorrendo devido a sua ampla utilização durante muitos anos na medicina veterinária, muitas vezes sem critério técnico.

As fluorquinolonas, em especial, o enrofloxacino, tiveram um desempenho abaixo do esperado, o que também pode ser explicado pelo

aumento da sua utilização em cães, sendo que muitos profissionais o fazem de forma indiscriminada.

TABELA 2. Porcentagem de resistência dos antimicrobianos para todas as bactérias isoladas, Botucatu, 2009.

Antimicrobianos	média da % de resistência
doxiciclina	77,78
eritromicina	72
tetraciclina	71,8
ampicilina	55,8
azitromicina	54,27
penicilina G	48
sulfametrim	45,19
enrofloxacino	40
florfenicol	37
ciprofloxacino	34,43
ceftiofur	29,1
norfloxacino	28,6
oxacilina	28,4
levofloxacino	28,18
cloranfenicol	25,57
ceftriaxona	23,6
cefalexina	22,6
amicacina	19,04
amoxicilina+ác.clavulânico	13,4
vancomicina	13,33
gentamicina	12,5

O florfenicol teve pior desempenho em relação ao cloranfenicol no geral, significando que as bactérias além de produzirem as enzimas inativantes, também adquirem plasmídios de resistência para esse antimicrobiano, ao passo que o cloranfenicol apesar de utilizado há 60 anos

ainda superou a maioria dos antimicrobianos testados, inclusive os mais modernos como a azitromicina e o levofloxacino.

As cefalosporinas apresentaram-se ativas frente aos microrganismos testados. Não foi observada uma diferença significativa de desempenho entre as cefalosporinas de primeira e terceira geração, o que demonstra para esse família de antimicrobianos a descoberta e produção de novas drogas não melhorou praticamente em nada a eficácia terapêutica das mesmas.

Os antimicrobianos mais eficazes no geral foram à gentamicina, seguido da vancomicina e amoxicilina com ác. clavulânico.

A gentamicina é muito ativa frente a enterobactérias e *Pseudomonas aeruginosa* e dificilmente apresenta resistência cruzada com outros antimicrobianos. A resistência bacteriana a esse fármaco é adquirida principalmente pela transferência de fatores R pelo processo de conjugação, que produzem enzimas inativantes e a resistência por mutação é muito rara, o que explica a sua maior efetividade entre todos os antimicrobianos testados (Tavares, 2001).

CONCLUSÕES

VI. CONCLUSÕES

Após os antimicrobianos serem utilizados por mais de 60 anos, beneficiando a humanidade e os animais, por diminuir a ocorrência, a duração, as complicações e a letalidade das doenças infecciosas, especialmente das infecções bacterianas, chegamos ao início do século XXI com a evidência da capacidade dos microrganismos de superarem a ação desses fármacos. Continuam as infecções bacterianas a ameaçar a vida, principalmente da humanidade, causadas agora por microrganismos multidroga resistentes. Se o fenômeno de resistência bacteriana é inevitável, as boas práticas terapêuticas e a diminuição da contaminação de pacientes nos hospitais e clínicas são medidas que precisam ser adotadas para tentar conter esses agentes e impedir que essas porcentagens aumentem cada vez mais.

O presente estudo mostrou que a resistência dos microrganismos está em ascensão em praticamente todos os antimicrobianos testados, mesmo aqueles ainda sequer utilizados em medicina veterinária como o levofloxacino ou fracamente utilizados como a azitromicina e oxacilina.

A resistência encontrada a vancomicina foi surpreendente, visto que é uma das últimas opções terapêuticas contra bactérias multidroga resistentes e o seu uso na medicina veterinária é proibido. Como não houve administração de vancomicina nos cães, podemos supor que a teoria da transmissão de genes de resistência é possível entre as espécies como a humana e a canina.

A frequência dessa transmissão ainda não é conhecida. Mas ela existe, significando um problema de saúde pública. Os cães são reservatórios dessas bactérias multidroga resistentes e podem transmitir através de plasmídios os genes de resistência. É provável que o aumento da proximidade com esses animais facilite a transmissão, causando um grave problema de saúde pública.

O fenômeno da passagem de genes de resistência em bactérias circulantes entre animais de companhia e seres humanos precisa ser melhor estudado, assim como, a resistência a estes agentes mais monitorada, caso contrário poderemos criar uma situação caótica com bactérias causadoras de

doenças que não mais poderão ser tratadas com os antimicrobianos disponíveis no arsenal terapêutico veterinário.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, S. P. **Manual de terapêutica veterinária**. 2.ed. São Paulo: Rocca, 2002, 697p
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resistência microbiana – mecanismos e impacto clínico. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/atm_racional/modulo2/laboratorio2.htm> Acesso em 16/11/2009.
- APPELBAUM, P.C.; HUNTER, P.A. Review. The Fluorquinolone antibacterials: past, present and future perspectives. **International Journal of Antimicrobial Agents**. v.16, p.5-15, 2000.
- APULCHE, C; GARAU, J.; LIM, V. Global and local variations in antimicrobial susceptibilities and resistance development in the major respiratory pathogens. **International Journal of Antimicrobial agents**. Antage-2538; 4p, 2007.
- BARNES, A.I.; HERRERO, I. L.; ALBESA, I. New aspect of the synergistic antibacterial action of ampicillin and gentamicin. **International Journal of Antimicrobial Agents**. v.26, p. 146-151, 2005.
- BAUER A. W., et al. Drug usage and antibiotic susceptibility of staphylococci. **Journal of the American Medical Association**. v.173, n. 5, p. 475-80, 1960.
- BENVENISTE, R.; DAVIES, J. Mechanism of antibiotic resistance in bacteria **Annual Review of Biochemistry**. v.42, p.471-506, 1973.
- BROOKS, G. F.; BUTEL, J. S.; MORSE, S. A. **Microbiologia Médica**. 21ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, 609p.
- CARTER, M.E. et al. **Clinical Veterinary Microbiology**. London: Wolfe, 1994, 648p.
- COHEN R et al. Treatment failure in otitis media: an analysis. **Journal of chemotherapy** v. 6, n.4, p.17-22, 1994.
- DESCHEEMAEKER, P.R. M., et al. Comparison of glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* isolates and glycopeptides resistance genes of human and animal origins. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** v.43, n.8, p. 2027-2032, 1999.
- GOLDMANN, D. A. Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*: headline news. **Infection Control and Hospital Epidemiology**.v.13, n.12, p.695-699, 1992.

- GREENE, C. E. **Infectious Diseases of the Dog and the Cat**. 2. ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1998. 934p
- GUARDABASSI, L.; SCHWARZ, S.; LOYD, D. H. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. V. 54, n.2, p.321-332, 2004.
- HOEFEL, H. H. K.; LAUTERT, L. Administração endovenosa de antibióticos e resistência bacteriana: responsabilidade da enfermagem. **Revista Eletrônica de Enfermagem**. v. 8, n. 3, p. 441 - 449, 2006.
- HYLE, E. P. Use of different thresholds of prior antimicrobial use in defining exposure: impact on the association between antimicrobial use and antimicrobial resistance. **Journal of Infection** . v. 55 p 414-418, 2007
- KARACA, Y. et al. Clo-trimoxazole and quinolone resistance in *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections over the last 10 years. **International Journal of Antimicrobial Agents**. v. 26 p.75-77, 2005.
- LELIEVRE H. et al. Emergence and spread in French hospitals of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with increasing susceptibility to gentamicin and other antibiotics. **Journal of Clinical Microbiology** v.37, p.3452-3457, 1999.
- LORENZ, M. D.; CORNELIUS, L. M.; FERGUSON, D. C. **Terapêutica Clínica em Pequenos Animais**. 1 ed. Rio de Janeiro: Interlivros Edições Ltda, 1996, 484p.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTACIMENTO. Instrução normativa número 9, 27/06/2003. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1398>> Acesso em 02/11/ 2009.
- MITCHELL, M. A. Therapeutic review: enrofloxacin. **Journal of Exotic Pet Medicine**.v.15, n.1, p.66-69, 2006
- MOELLERING, R. C. et al. Antimicrobial resistance prevention initiative-an update: proceedings of an expert panel on resistance. **Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology**. v.35, n. 9, p-1-23, 2007.
- MOREIRA, B. M.; DAUM, R. S. Antimicrobial resistance in staphylococci. **Pediatric Clinics of North America**. v.42, n.3, p.:619-648, 1995.

- OLIVEIRA, L. C. et al. Perfil de isolamento microbiano em cães com otite média e externa associadas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.58, n. 6, p.32-35, 2006.
- OTERO, J.L.; MESTORINO, N.; ERRECALDE, J.O. Enrofloxacin: una fluorquinolona de uso exclusivo en veterinaria. Parte I: Química, Mecanismo de Accion, actividad Antimicrobiana y Resistência Bacteriana. **Analecta Veterinária**, v.21, n.1, p.31-49, 2001.
- OSSIPRANDI, M. C.; BOTTARELLI, E.; CATTABIANI, F. Susceptibility to vancomycin and other antibiotics of 165 *Enterococcus* strains isolated from dogs in Italy. **Comparative Immunology, Microbiology and infectious Diseases**. v.31, p. 1-9, 2008.
- PAES, A. C.; SIQUEIRA, A. K. Perfil de Sensibilidade e Resistência dos *Streptococcus* spp frente a Antimicrobianos de Uso Veterinário. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. v.26, n.3, 2004.
- PELCZAR, M.J.; CHAN, E. C.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2ed. São Paulo: Makron, 1996.517p.
- PAPICH, M. G.; RIVIERE, J. E. Cloranfenicol e Derivados. In: ADAMS H. R. **Farmacologia e Terapêutica em Veterinária**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 1034p.
- PETRI, JR. W. A. Penicillins, Cephalosporins, and other β - Lactam Antibiotics. In: HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. **Goodman & Gimán's – The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 10. ed. New York: Mc Graw Hill, 2001. 2148p.
- RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; MOORE, P. K. **Farmacologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, 2004. 904p.
- SADER, H. Antimicrobial resistance in Brazil: comparison of results from two multicenter studies. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**. v.4, n.2, p.91-99, 2000.
- SAMS, R. A. Florfenicol: propriedades químicas e metabolismo de um novo antibiótico de largo espectro. **A Hora Veterinária**. Edição Extra, n. 2, abril p.19–22, 1997.
- SCHABERG, D. G.; ZERVOS, M. J. Intergeneric and interspecies gene exchange in gram-positive cocci. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 30, n. 6, p.: 817-822, 1986.

- SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 752p.
- SRINIVASAN, V. et al. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* isolated from dairy cows with mastitis. **Veterinary Microbiology**. v.124, p.319-328, 2007.
- TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos**. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 2001, 1216p.
- TRABULSI, L. R. et al. **Microbiologia**. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 2004, 586p.
- TROTT, D. J. Canine model for investigating the impact of oral enrofloxacin on commensal coliforms and colonization with multidrug-resistant *Escherichia coli*. **Journal of Medical Microbiology**. v. 53, p. 439-443, 2004.
- WEGENER, H.; BAGER, F.; ARESTRUP, F. M. A vigilância da resistência antimicrobiana no homem e nos animais na Europa. **Eurosurveillance**. v.2, n.3, p.21-22, 1997.

TRABALHO CIENTÍFICO

Trabalho a ser enviado para Revista Veterinária e Zootecnia – Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia – UNESP - Botucatu

NORMAS PARA APRESENTAÇÃO DE TRABALHOS

Artigos Científicos

Devem ser estruturados de acordo com os seguintes itens:

1. Página de rosto, com:

- Título do trabalho em português, em inglês e em espanhol, fonte Times New Roman, tamanho 12, com espaçamento simples, em negrito e centralizado, em letra maiúscula. Quando necessário, indicar a entidade financiadora da pesquisa, como primeira chamada de rodapé;
- Nomes completos dos autores, em que somente a primeira letra de cada nome deve ser maiúscula, do lado direito da página. Digitá-los, separados um por linha, com chamadas de rodapé numeradas e em sobrescrito, que indicarão o cargo e o endereço profissional dos autores, seguidos da instituição onde o trabalho foi desenvolvido ou às quais estão vinculados;
- Nome, endereço, telefone, fax e correio eletrônico, para correspondência;
- Em caso de envolvimento de seres humanos ou animais de experimentação, encaminhar o parecer da Comissão de Ética ou equivalente, assinalando, no trabalho, antes das referências, a data de aprovação.

2. Página com resumo, abstract e resumen

- Tanto o resumo, como o abstract e o resumen devem ser seguidos do título do trabalho, no respectivo idioma, e conter no máximo 400 palavras cada um, com informações referentes à introdução, metodologia, resultados e conclusões. O texto deve ser justificado e digitado em parágrafo único e espaço 1,5, começando por RESUMO. O abstract, e o resumen devem ser tradução fiel do resumo. Independente da língua em que o artigo for apresentado, deverá conter o resumo em português, inglês e espanhol.
- Devem conter, no máximo, cinco palavras-chave, key words, e palabras-clave que identifiquem o conteúdo do texto.

3. A estrutura do artigo deverá conter:

Introdução: Deve ser clara, objetiva e relacionada ao problema investigado e à literatura pertinente, bem como aos objetivos da pesquisa. A introdução estabelece os objetivos do trabalho.

Material e Métodos: Deve oferecer informações de reprodutibilidade da pesquisa, de forma clara e concisa, como variáveis, população, amostra, equipamentos e métodos utilizados, inclusive os estatísticos.

Resultados: Apresentação dos resultados obtidos, que devem ser descritos sem interpretações e comparações. Poderá ser sob a forma de tabelas, em folha à parte, no máximo de cinco, ordenadas em algarismos arábicos e encabeçadas pelo título, de acordo com as normas de apresentação tabular da ABNT/WBR 6023/2000 da Associação Brasileira de Normas Técnicas, identificadas no texto como Tabela; sob a forma de figuras, nos casos de gráficos, fotografias, desenhos, mapas, etc., ordenadas em algarismos arábicos, até no máximo de seis, e citadas no texto como Figura. Devem ser identificadas em folha à parte, onde deve constar o título do artigo. Fotografias podem ser em preto e branco ou coloridas, identificadas com o(s) nome(s) do(s) autor(es) no verso. No caso de desenhos originais, a impressão deve ser em papel adequado, de qualidade.

Discussão: Deve ser entendida como a interpretação dos resultados, confrontando com a literatura pertinente, apresentada na introdução. Se julgar conveniente, os resultados e a discussão poderão ser apresentados conjuntamente.

Conclusões: É a síntese final, fundamentada nos resultados e na discussão.

Referências: Devem ser apresentadas de acordo com as normas Vancouver (<http://www.icmje.org/>).

Deverão ser editorados em Microsoft Word for Windows, para edição de textos, Excel (qualquer versão) para gráficos, formato JPEG ou GIF (imagem) para fotografias, desenhos e mapas, em três vias (uma original e duas cópias) impressas, formato A4 (21,0 x 29,7 cm), em espaço duplo, mantendo margens de 2,5 cm, nas laterais, no topo e pé de cada página, fonte Times New Roman, tamanho 12 e numeração consecutiva das

páginas em algarismos arábicos, a partir da folha de identificação. Deverão também apresentar numeração nas linhas, reiniciando a contagem a cada nova página. Ilustrações e legendas devem ser apresentadas em folhas separadas. Encaminhar cópia em disquete 3 ½” de alta densidade ou CD, identificado com título do artigo e nome dos autores. Nas duas cópias deve(m) ser omitido(s) o(s) nome(s) do(s) autor(es), o local onde se realizou o trabalho, bem como o rodapé. Não serão fornecidas separatas. Os artigos estarão disponíveis no formato PDF no endereço eletrônico da revista. Para as demais seções da revista são válidas as normas anteriores. Não devem exceder a 15 páginas. Abreviaturas não usuais devem ser empregadas após escritas por extenso na primeira utilização.

Trabalho a ser enviado para Revista Veterinária e Zootecnia – Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu

PERFIL DE SENSIBILIDADE DE BACTÉRIAS PATOGÊNICAS ISOLADAS DE CÃES FRENTE A ANTIMICROBIANOS ¹

Adriana Resmond Cruz²

Antonio Carlos Paes³

Amanda Keller Siqueira⁴

RESUMO

A passagem de bactérias resistentes dos animais ao homem é possível. As amostras foram coletadas de cães, machos e fêmeas, de diferentes raças e idade, com infecções bacterianas variadas. Foram realizados cultura e antibiograma das bactérias isoladas (n=100), sendo avaliadas como sensíveis ou resistentes. Grupo das bactérias Gram-negativas: tetraciclina 83,02%, azitromicina 81,48%, doxiciclina 77,78%, ampicilina 62,96%, ceftiofur e florfenicol 50%, cefalexina 46,3%, enrofloxacino 44,44%, norfloxacino 18,52%, gentamicina 20,37%, levofloxacino 27,78%, amoxicilina + ácido clavulânico 31,48%, ciprofloxacino 31,48%, amicacina e ceftriaxona 33,33%, cloranfenicol e sulfa + trimetoprin 35,19%.

¹ Recebido em ...

Aceito para publicação em ...

² Mestre do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu. Distrito de Rubião Jr. s/n. Botucatu-SP. CEP: 18618-000. (14) 3811-6270. E-mail: aresmond@hotmail.com

³ Professor Doutor do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu. Distrito de Rubião Jr. s/n. Botucatu-SP. CEP: 18618-000. (14) 3811-6270. E-mail: paesacmi@fmvz.unesp.br

⁴ Doutoranda do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu. Distrito de Rubião Jr. s/n. Botucatu-SP. CEP: 18618-000. (14) 3811-6270. E-mail: kellersiqueira@hotmail.com

Grupo dos *Streptococcus*: tetraciclina 80%, eritromicina 72%, enrofloxacino e levofloxacino 52%, ampicilina, azitromicina, ciprofloxacino, norfloxacino, penicilina G e sulfa + trimetoprin 48%, amoxicilina + ácido clavulânico 4%, cefalexina 12%, florfenicol 24%, ceftiofur, ceftriaxona e oxacilina 28%, cloranfenicol 32%. Grupo dos *Staphylococcus* spp: ampicilina 57,14%, sulfa + trimetoprin e tetraciclina 52,38%, amicacina, amoxicilina + ácido clavulânico, gentamicina, levofloxacino, 4,76%; cefalexina, ceftiofur, ceftriaxona e cloranfenicol, 9,52%; vancomicina 13,33%, norfloxacino 19,05%; ciprofloxacino, enrofloxacino e oxacilina 23,81% e azitromicina 33,33%. Os cães são reservatórios de bactérias multidrogas resistentes que podem transmitir por meio de plasmídios os genes de resistência, explicando a resistência de bactérias isoladas de cães à antimicrobianos de uso humano como a vancomicina.

Palavras-chave: bactérias multidrogas resistentes, antimicrobianos, cães

ABSTRACT – Cruz, A.R.; Paes, A.C. [**Sensitivity profile of pathogenic isolated bacteria from dogs facing antimicrobial.**] Perfil de sensibilidade de bactérias isoladas de cães frente a antimicrobianos. *Revista de Veterinária e Zootecnia* 00(0):00-00. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

The transmission of resistant bacteria from animals to humans is possible. Samples were collected from different breeds of dogs in different ages including males and females, with a variety of bacterial infections. The culture and antibiograma of isolated bacteria were analysed (n = 100), being evaluated as sensitive or resistant. Group of Gram-negative bacteria tetracycline 83.02%, azithromycin 81.48%, doxycycline 77.78%, ampicillin 62.96%, ceftiofur and florfenicol 50%, cephalexin 46,3%, enrofloxacin 44.44%, norfloxacin 18.52%, gentamicin 20.37%, levofloxacin 27.78%, amoxicillin + clavulanic acid 31.48%, ciprofloxacin 31.48%, amikacin and ceftriaxone 33.33%, chloramphenicol and trimethoprim + sulfa (35.19%). *Streptococcus*' group: tetracycline 80%, erythromycin 72%, enrofloxacin and levofloxacin 52%, ampicillin, azithromycin, ciprofloxacin, norfloxacin, penicillin G and sulfamethoxazole + trimethoprim 48%, amoxicillin + clavulanic acid 4%, cephalexin 12%, florfenicol 24%, ceftiofur, ceftriaxone, and oxacillin 28%, chloramphenicol 32%. Group of *Staphylococcus* spp: ampicillin 57.14%, sulfamethoxazole + trimethoprim and tetracycline 52.38%, amikacin, amoxicillin + clavulanic acid, gentamicin, levofloxacin, 4.76%, cephalexin, ceftiofur, ceftriaxone, and chloramphenicol 9.52%, vancomycin 13.33%, norfloxacin

19.05% ciprofloxacin, enrofloxacin and oxacillin 23.81% and azithromycin 33.33%. Dogs have resistant-multidrug bacteria that might pass through the plasmid resistant genes, explaining the resistance of isolated bacteria from dogs to human use of antimicrobials such as vancomycin.

Key words: resistant-multidrug bacteria, antimicrobial, dogs

RESUMEN- Cruz, A.R.; Paes, A.C. [Perfil de la sensibilidad de bacterias patógenas aisladas de perros frente a los antimicrobianos.] Perfil de sensibilidade de bactérias isoladas de cães frente a antimicrobianos. *Revista de Veterinária e Zootecnia* 00(0):00-00. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

La transmisión de bacterias resistentes de animales a los seres humanos es posible. Se obtuvieron muestras provenientes de perros, machos y hembras, de diferentes razas y edad, con una variedad de infecciones bacterianas. Se analizaron la cultura y antibiograma de bacterias aisladas (n=100), siendo avaluado como sensibles o resistentes. Grupo de las bacterias Gram-negativas: tetraciclina 83.02%, azitromicina 81.48%, doxiciclina 77.78%, ampicilina 62.96%, ceftiofur y florfenicol el 50%, cefalexina 46.3%, enrofloxacino 44.44%, norfloxacino 18.52%, gentamicina 20.37%, levofloxacino 27.78%, amoxicilina + ácido clavulánico 31.48%, ciprofloxacino 31.48%, ampicilina y ceftriaxona 33.33%, cloranfenicol y sulfa + trimetoprim 35.19%. Grupo de *Streptococcus* spp: tetraciclina 80%, eritromicina 72%, enrofloxacino y levofloxacino el 52%, ampicilina, azitromicina, ciprofloxacino, norfloxacino, penicilina G y sulfa + trimetoprim el 48%, amoxicilina + ácido clavulánico 4%, cefalexina 12%, florfenicol 24%, ceftiofur, ceftriaxona y oxacilina el 28%, cloranfenicol 32%. Grupo de *Staphylococcus* spp: ampicilina 57.14%, sulfa + trimetoprim y tetraciclina el 52.38%, ampicilina, amoxicilina + ácido clavulánico, gentamicina y levofloxacino el 4.76%; cefalexina, ceftiofur, ceftriaxona y cloranfenicol el 9.52%; vancomicina 13.33%, norfloxacino 19.05%; ciprofloxacino, enrofloxacino y oxacilina el 23.81% y azitromicina 33.33%. Los perros tienen bacterias resistentes a múltiples-fármacos que pueden transmitir por medio de plasmídios los genes de la resistencia, explicando la resistencia de bacterias aisladas de perros a los antimicrobianos del uso humano con el vancomicina.

Palabras-clave: bacterias resistentes a múltiples-fármacos, antimicrobianos, perros

INTRODUÇÃO

A resistência aos antimicrobianos é um dos grandes problemas da medicina e da medicina veterinária, e é causada basicamente pela evolução das bactérias, pela mutação espontânea e recombinação de genes, que criam variabilidade genética sobre a qual atua a seleção natural aos mais aptos (1).

A situação é preocupante, pois para a descoberta e produção de novos antimicrobianos são necessários muitos anos e os indivíduos acometidos por microrganismos resistentes sofrem falhas de tratamento, aumento do custo da terapia e prolongamento do tempo de recuperação o que pode levar a exposição de outros agentes infecciosos altamente patogênicos (1).

O aumento desse fenômeno de resistência é cada vez mais freqüente com os animais. Oliveira et al. (2) verificaram a resistência de cepas de *Staphylococcus intermedius* de cães com otite à penicilina G (25,96%), ampicilina (16,67%), eritromicina (27,78), tetraciclina (24,07%) e clindamicina (18,52%).

A transferência da resistência bacteriana dos animais ao homem é possível, sendo um assunto de importância para a saúde pública (3). A relação entre o uso de antimicrobianos em medicina veterinária e a transferência de bactérias resistentes é um assunto que necessita ser mais pesquisado (4). Porém, estudos mostram que a microbiota intestinal de cães saudáveis pode atuar como reservatório de genes ligados à resistência (5).

Descheemaeker et al. (6), estabeleceram alguma identidade de genes de resistência contra glicopeptídeos em *Enterococcus faecium* isolados em porcos e aves e em seres humanos, indicando a possibilidade de troca de marcadores genéticos de resistência entre animais e o seres humanos.

O presente trabalho teve como objetivo traçar o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de bactérias patogênicas causadoras de diferentes infecções isoladas de cães.

MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras foram coletadas de cães, machos e fêmeas, de diferentes idades e raças, com infecções bacterianas variadas.

O material obtido foi semeado em meio de ágar Mac Conkey e base de ágar sangue composta com 7% de sangue ovino desfibrinado. Em seguida, as amostras foram incubadas em condições de aerobiose à 37°C e observadas em 24, 48, 72 e 96 horas.

Para as amostras que apresentaram isolamentos, estas tiveram sua análise macroscópica, microscópica (morfotintorial pelo método de Gram) e bioquímica, seguindo as provas taxonômicas segundo Carter (7).

As amostras coletadas para o antibiograma seguiram a metodologia sugerida pela ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (8). O meio de cultivo para o antibiograma foi Agar Mueller-Hinton (MHA).

Foram selecionadas e repicadas 4 ou 5 colônias sob teste para 5 mL de meio de cultivo em caldo. O caldo inoculado foi incubado por 2 a 8 horas à temperatura de 37°C, deixando assim o microrganismo crescer até atingir a turbidez padrão, correspondente a 0,5 da escala de Mac Farland. Dentro de 15 minutos após o ajustamento da turbidez, foi introduzido um swab estéril e não tóxico no inoculo, para colheita de amostra bacteriana, sendo o material assim obtido distribuído homogeneamente pela superfície da placa de Petri para posterior colocação dos discos com os antimicrobianos a serem testados.

Após a colocação dos discos, as placas foram incubadas a 37 °C, sendo que a leitura das placas foi realizada após 24 horas de incubação. Os diferentes microrganismos foram avaliados como sensíveis ou resistentes, com o grupo intermediário considerado resistente.

Os fármacos utilizados nos antibiogramas estão descritos no Quadro 1.

A análise dos resultados foi realizada de acordo com os diferentes microrganismos e drogas testadas, utilizando-se como método estatístico a análise descritiva com porcentagem simples.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O maior grupo isolado foi das bactérias Gram-negativas, sendo identificados 54 microrganismos. No grupo dos *Streptococcus* spp. foram isoladas 25 amostras e no grupo dos *Staphylococcus* spp. 21 amostras.

No grupo das bactérias Gram-negativas o agente mais isolado foi a *Escherichia coli* (55,55%), seguido do *Proteus* spp. (14,81%) e *Pseudomonas* spp. (11,1%). Também foram isolados: *Klebsiella* spp. (5,55%), *Enterobacter cloacae* (3,70%), *Corynebacterium* spp. (3,70%), *Hafnia alvei* (1,85%), *Pasteurella* spp (1,85%) e *Neisseria* spp (1,85%).

A Tabela 1 mostra a porcentagem de resistência bacteriana frente aos antimicrobianos testados no experimento.

Os antimicrobianos que apresentaram menor eficácia para as bactérias Gram-negativas foram: tetraciclina com 83,02% de resistência, em seguida a azitromicina com 81,48%. Nesse mesmo grupo, alguns antimicrobianos obtiveram baixa eficácia, como é o caso da doxiciclina que apresentou 77,78% de resistência bacteriana, ampicilina 62,96%, ceftiofur 50%, florfenicol 50%, cefalexina 46,3% e enrofloxacino 44,44%. As drogas mais eficazes para essas bactérias foram: norfloxacino 18,52% de resistência bacteriana, gentamicina 20,37%, levofloxacino 27,78%, amoxicilina + ácido clavulânico 31,48%, ciprofloxacino 31,48%, amicacina 33,33%, ceftriaxona 33,33%, cloranfenicol 35,19% e sulfa + trimetoprin 35,19%.

A tetraciclina e a doxiciclina foram os fármacos mais ineficazes para as bactérias Gram-negativas, indicando que pode ocorrer reação cruzada entre esses grupos de antimicrobianos. A resistência as tetraciclinas provavelmente ocorre em decorrência da aquisição dos plasmídios R, principalmente nos bacilos Gram-negativos entéricos que são portadores desses elementos genéticos extracromossomais.

A azitromicina apresentou alta porcentagem de resistência, a essas bactérias. Segundo Tavares (9), os bacilos Gram-negativos, dos gêneros *Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas* são naturalmente resistentes à azitromicina. Porém em relação a outras bactérias Gram-negativas a resistência ocorreu por transferência de plasmídios R que levam à metilação do RNA ribossômico, impedindo a fixação do antimicrobiano no ribossomo da bactéria.

A ampicilina e amoxicilina com ácido clavulânico são fármacos muito utilizados na medicina veterinária, em especial para infecções causadas por bactérias Gram-negativas. Porém o desempenho de ambas foi baixo, em especial a ampicilina, confirmando a afirmação do aumento drástico da sua resistência nos últimos anos em decorrência da ampla utilização na terapêutica, muitas vezes de forma inadequada.

As cefalosporinas de primeira e terceira geração apresentaram alta porcentagem de resistência, especialmente o ceftiofur que foi o mais ineficaz desse grupo de antimicrobianos. Era esperado que a cefalosporina de terceira geração, ceftiofur, apresentasse melhor desempenho do que cefalosporina de primeira geração, cefalexina, porém, a porcentagem de resistência foi semelhante entre ambos. É importante que se leve em consideração que o ceftiofur é um antimicrobiano de custo elevado, muito utilizado em medicina veterinária, mas no presente trabalho apresentou desempenho similar a fármacos mais baratos, não justificando a relação custo-benefício da sua utilização. A ceftriaxona foi a cefalosporina de melhor desempenho frente aos Gram-negativos.

O florfenicol é considerado mais eficaz desse grupo de antimicrobianos devido a possuir um átomo de flúor na posição do carbono 3, local onde o cloranfenicol possui o radical hidroxila o que reduziria o número de locais disponíveis para as reações de acetilação bacteriana, tornando-o mais resistente a inativação por enzimas produzidas por bactérias. Porém no presente estudo, foi observado maior porcentagem de resistência ao florfenicol do que ao cloranfenicol. Isso pode ter ocorrido pela resistência primária ao florfenicol observada usualmente com a *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia* spp. e *Proteus* spp. Em relação aos outros agentes Gram-negativos, pode ter ocorrido a resistência adquirida por transferência de plasmídios com genes de resistência, observada entre as enterobactérias, estreptococos e estafilococos. A baixa eficácia do cloranfenicol frente a esse grupo de bactérias pode ser explicada por sua inativação enzimática, sendo o principal mecanismo de resistência a este antimicrobiano devido à presença nas bactérias resistentes da cloranfenicol-acetiltransferase.

Nas fluorquinolonas também foram observadas altas porcentagens de resistência, em especial ao enrofloxacino. A resistência adquirida é de origem cromossômica e ocorre com frequência nas bactérias Gram-negativas, especialmente a *Pseudomonas aeruginosa*. O levofloxacino apresentou considerável resistência a esse grupo de

bactérias, mesmo sendo o seu uso ainda pouco freqüente na medicina veterinária. Isso pode ser explicado pela resistência cruzada com outras fluorquilononas muito utilizadas na terapêutica veterinária, como o enrofloxacino. Karaka et al. (10), constataram que a resistência do ciprofloxacino frente a *Escherichia coli* era de 27,6% em humanos e no presente estudo mostrou que essa porcentagem é de 31,48% para cães.

O baixo desempenho da sulfá associada ao trimetoprim no caso das *Pseudomonas* spp. é devido aos genes cromossômicos encontrados nessas bactérias, resultando na impermeabilidade da droga. Em relação à *Klebsiella* spp. a resistência ocorreu pela produção de diidrofolato-redutase, com menos afinidade pelo trimetoprim (9).

A amicacina apresentou baixa eficácia frente as bactérias Gram-negativas. Isso pode ter ocorrido por transferência de plasmídeo com genes de resistência (11).

Streptococcus spp. foi o grupo que apresentou maior número de cepas resistentes. Os fármacos com baixa eficácia foram: tetraciclina com 80% de resistência, eritromicina 72%, enrofloxacino 52%, levofloxacino 52%, ampicilina 48%, azitromicina 48%, ciprofloxacino 48%, norfloxacino 48%, penicilina G 48% e sulfá + trimetoprim 48% de resistência. Os antimicrobianos mais eficazes para os *Streptococcus* spp. foram: amoxicilina + ácido clavulânico com 4% de resistência, cefalexina 12%, florfenicol 24%, ceftiofur 28%, ceftriaxona 28%, oxacilina 28% e cloranfenicol com 32% de resistência.

Assim como no caso das bactérias Gram-negativas, a tetraciclina apresentou maior porcentagem de resistência frente aos estreptococos, indicando a aquisição de plasmídios R e o seu uso indiscriminado por longo tempo em medicina veterinária como principais causas da resistência.

A azitromicina, assim como a eritromicina, apresentou alta porcentagem de resistência frente a esse grupo de bactérias, que pode ser explicado pela mutação que tem sido encontrada em *Streptococcus pyogenes* e *Staphylococcus aureus*, alterando uma proteína na subunidade 50S, onde se fixa os macrolídeos, não ocorrendo assim a fixação do antimicrobiano ao ribossomo da bactéria (10).

As fluorquinolonas apresentaram baixa eficácia, especialmente o enrofloxacino, com maior porcentagem de resistência frente aos estreptococos em relação aos demais

grupos bacterianos. A maior porcentagem de resistência do levofloxacino foi frente aos *Streptococcus* spp. Sendo uma droga praticamente não utilizada em medicina veterinária, pode-se concluir que está ocorrendo resistência cruzada com outros antimicrobianos, o que inviabiliza a prescrição de um fármaco ainda não devidamente utilizado em medicina veterinária. É conhecido que os microrganismos resistentes às quinolonas podem apresentar resistência cruzada com cefalosporinas, cloranfenicol e tetraciclinas (9).

A amoxicilina associada ao ácido clavulânico foi ativa contra *Streptococcus* spp. diferentemente da ampicilina, indicando que não ocorreu resistência cruzada que é extremamente comum nesse grupo de antimicrobiano. Podemos concluir também que o ácido clavulânico tem se mostrado efetivo frente as betalactamases.

A penicilina G apresentou baixa eficácia frente a esse grupo de bactérias, como já foi descrito em estudo anterior (12). Como os estreptococos não produzem betalactamases, o mecanismo de resistência está relacionado a modificações nas PBPs, que apresentam menor afinidade pela droga o que diminui a ligação nas mesmas (9).

A oxacilina foi menos eficaz frente aos *Streptococcus*, sendo as alterações das PBPs e alterações da permeabilidade da membrana celular bacteriana os mecanismos mais comuns de resistência.

No grupo dos *Staphylococcus* spp. não ocorreram altos índices de resistência aos antimicrobianos testados. Os fármacos com menor eficácia foram: ampicilina com 57,14% de resistência, sulfá + trimetoprim e tetraciclina 52,38% de resistência. As drogas mais eficazes foram: amicacina, amoxicilina + ácido clavulânico, gentamicina, levofloxacino, com 4,76% de resistência; cefalexina, ceftiofur, ceftriaxona e cloranfenicol, 9,52%; vancomicina 13,33%, norfloxacino 19,05%, ciprofloxacino, enrofloxacino e oxacilina 23,81% e azitromicina com 33,33% de resistência.

A penicilina antiestafilocócica oxacilina apresentou porcentagem de resistência considerável, sendo resultado de genes cromossômicos que codificam mutações no receptor de ação dos beta-lactâmicos, as PBPs, havendo a produção de novas PBPs (PBP 2a ou PBP2') com pequena afinidade por esses antimicrobianos (9).

A vancomicina é uma das últimas opções terapêuticas contra bactérias multidrogas resistentes em medicina humana e é proibido seu uso na medicina

veterinária. Porém, 13,33% dos *Staphylococcus* testados apresentaram resistência a essa droga e como não houve administração de vancomicina nos cães, podemos supor que ocorreu uma resistência mediada por plasmídios, de bactérias humanas resistentes para os animais. Isto talvez represente o mais que surpreendente achado em termos de resistência bacteriana observado neste trabalho e é um risco real em saúde pública pois expõem as pessoas que tem contato direto com os cães a cepas de *Staphylococcus* totalmente resistentes a um antimicrobiano reservado para situações especiais nos hospitais.

Na tabela 2 podemos observar os elevados percentuais de resistência aos grupos bacterianos testados, em especial as tetraciclina e a doxiciclina que foram as drogas com o pior desempenho.

A azitromicina também apresentou baixo desempenho frente as bactérias testadas. E essas altas porcentagens significam que está ocorrendo um aumento crescente da resistência a esse antimicrobiano surpreendentemente, pois seu uso em medicina veterinária ainda é pouco difundido.

A ampicilina teve pior desempenho quando comparada a amoxicilina, isso demonstra que não houve resistência cruzada comum entre esses fármacos. A amoxicilina associada ao ácido clavulânico foi mais ativa contra *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* spp.

Foi observado alta resistência da sulfa frente aos grupos bacterianos, isso está ocorrendo devido a sua ampla utilização durante muitos anos na medicina veterinária, muitas vezes sem critério técnico.

As fluorquinolonas, em especial, o enrofloxacino, tiveram um desempenho abaixo do esperado, o que também pode ser explicado pelo aumento da sua utilização em cães, sendo que muitos profissionais o fazem de forma indiscriminada.

O florfenicol teve pior desempenho em relação ao cloranfenicol no geral, significando que as bactérias além de produzirem as enzimas inativantes, também adquirem plasmídios de resistência para esse antimicrobiano, ao passo que o cloranfenicol apesar de utilizado há 60 anos ainda superou a maioria dos antimicrobianos testados, inclusive os mais modernos como a azitromicina e o levofloxacino.

As cefalosporinas apresentaram-se ativas frente aos microrganismos testados. Não foi observada uma diferença significativa de desempenho entre as cefalosporinas de primeira e terceira geração, o que demonstra para esse família de antimicrobianos a descoberta e produção de novas drogas não melhorou praticamente em nada a eficácia terapêutica das mesmas.

A gentamicina é muito ativa frente a enterobactérias e *Pseudomonas aeruginosa* e dificilmente apresenta resistência cruzada com outros antimicrobianos. A resistência bacteriana a esse fármaco é adquirida principalmente pela transferência de fatores R pelo processo de conjugação, que produzem enzimas inativantes e a resistência por mutação é muito rara, o que explica a sua maior efetividade entre todos os antimicrobianos testados (9).

CONCLUSÕES

O presente estudo mostrou que a resistência dos microrganismos está em ascensão em praticamente todos os antimicrobianos testados, mesmo aqueles ainda sequer utilizados em medicina veterinária como o levofloxacino ou fracamente utilizados como a azitromicina e oxacilina.

A resistência encontrada a vancomicina foi surpreendente, visto que é uma das últimas opções terapêuticas contra bactérias multidrogas resistentes e o seu uso na medicina veterinária é proibido. Como não houve administração de vancomicina nos cães, podemos supor que a teoria da transmissão de genes de resistência é possível entre as espécies como a humana e a canina.

A frequência dessa transmissão ainda não é conhecida. Mas ela existe, significando um problema de saúde pública. Os cães são reservatórios dessas bactérias multidrogas resistentes e podem transmitir através de plasmídios os genes de resistência. É provável que o aumento da proximidade com esses animais facilite a transmissão, causando um grave problema de saúde pública.

REFERÊNCIAS

- (1) Andrade SP. Manual de terapêutica veterinária. 2ª ed. São Paulo: Rocca, 2002, 697p.
- (2) Oliveira LC. et al. Perfil de isolamento microbiano em cães com otite média e externa associadas. Arq Bras Med Vet Zootec. 2006; 58:6, 32-35.
- (3) Wegener H, Bager F, Arestrup FM. A vigilância da resistência antimicrobiana no homem e nos animais na Europa. Euro Surveill. 1997, 2:3, 21-22.
- (4) Ossiprandi MC, Bottarelli E, Cattabiani F. Susceptibility to vancomycin and other antibiotics of 165 *Enterococcus* strains isolated from dogs in Italy. Comp Immunol Microbiol infect Dis. 2008; 31, 1-9.
- (5) Guardabassi L, Schwarz S, Loyd DH. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. J Antimicrob Chemother. 2004; 54:2, 321-332.
- (6) Descheemaeker PRM., et al. Comparison of glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* isolates and glycopeptides resistance genes of human and animal origins. Antimicrob Agents Chemother. 1999; 43:8,2027-2032.
- (7) Carter ME. et al. Clinical Veterinary Microbiology. London: Wolfe, 1994, 648p.
- (8) ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resistência microbiana – mecanismos e impacto clínico. Disponível em:
<http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm/cursos/atm_racional/modulo2/laboratorio2.htm> Acesso em 16/11/2009.
- (9) Tavares W. Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos. 3ª ed. São Paulo: Atheneu, 2001, 1216p.
- (10) Karaca, Y. et al. Clo-trimoxazole and quinolone resistance in *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections over the last 10 years. Int J Antimicrob Agents. 2005; 26, 75-77.
- (11) Brooks GF, Butel, JS, Morse, SA. Microbiologia Médica. 21ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, 609p.
- (12) Paes AC, Siqueira AK. Perfil de Sensibilidade e Resistência dos *Streptococcus* spp frente a Antimicrobianos de Uso Veterinário. Rev Bras Med Vet. 2004, 26:3.

QUADRO 1. Fármacos utilizados nos antibiogramas em relação às diferentes cepas bacterianas, Botucatu 2009.

	Gram-negativos	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> spp.
Amicacina	X	NT	X
Amoxicilina + Ác. Clavulânico	X	X	X
Ampicilina	X	X	X
Azitromicina	X	X	X
Cefalexina	X	X	X
Ceftiofur	X	X	X
Ceftriaxona	X	X	X
Ciprofloxacino	X	X	X
Cloranfenicol	X	X	X
Doxiciclina	X	NT	NT
Enrofloxacino	X	X	X
Eritromicina	NT	X	NT
Florfenicol	X	X	NT
Gentamicina	X	NT	X
Levofloxacino	X	X	X
Norfloxacino	X	X	X
Oxacilina	NT	X	X
Penicilina G	NT	X	NT
Sulfametrin	X	X	X
Tetraciclina	X	X	X
Vancomicina	NT	NT	X

* NT: Não testado

TABELA 1. Porcentagem de resistência bacteriana frente aos antimicrobianos testados, Botucatu 2009.

	Gram-negativos	<i>Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>
%	(n=54)	(n=25)	(n=21)
amicacina	33,33	NT	4,76
amoxicilina+ác.clavulânico	31,48	4,00	4,76
ampicilina	62,96	48,00	57,14
azitromicina	81,48	48,00	33,33
cefalexina	46,30	12,00	9,52
ceftiofur	50,00	28,00	9,52
ceftriaxona	33,33	28,00	9,52
ciprofloxacino	31,48	48,00	23,81
cloranfenicol	35,19	32,00	9,52
doxiciclina	77,78	NT	NT
enrofloxacino	44,44	52,00	23,81
eritromicina	NT	72,00	NT
florfenicol	50,00	24,00	NT
gentamicina	20,37	NT	4,76
levofloxacino	27,78	52,00	4,76
norfloxacino	18,52	48,00	19,05
oxacilina	NT	28,00	23,81
penicilina G	NT	48,00	NT
sulfametrin	35,19	48,00	52,38
tetraciclina	83,02	80,00	52,38
vancomicina	NT	NT	13,33

*NT: não testado

TABELA 2. Porcentagem de resistência dos antimicrobianos para todas as bactérias isoladas, Botucatu, 2009.

Antimicrobianos	média da % de resistência
doxiciclina	77,78
eritromicina	72
tetraciclina	71,8
ampicilina	55,8
azitromicina	54,27
penicilina G	48
sulfametrin	45,19
enrofloxacino	40
florfenicol	37
ciprofloxacino	34,43
ceftiofur	29,1
norfloxacino	28,6
oxacilina	28,4
levofloxacino	28,18
cloranfenicol	25,57
ceftriaxona	23,6
cefalexina	22,6
amicacina	19,04
amoxicilina+ác.clavulânico	13,4
vancomicina	13,33
gentamicina	12,5