

Eficácia *in silico* do florfenicol no tratamento de pododermatite infecciosa por *Fusobacterium necrophorum* em ovelhas*

In silico efficacy of florfenicol in the treatment of *Fusobacterium necrophorum* infectious pododermatitis in sheep

Bruna Christina Fernandes Soares,** Emanuely Ramos Tameirão,*** Lucas Wamser Fonseca Gonzaga,**** Larissa Alexsandra Felix,***** Hugo Shisei Toma,***** Francisco Antonio Acuña,***** Patrícia Yoshida Faccioli-Martins,***** Valeria Amable,***** Humberto de Mello Brandão,***** Marcos Ferrante*****

Resumo

Objetivou-se comparar o efeito *in silico* do florfenicol nas doses de 20 e 30 mg/Kg em ovinos pelas vias intravenosa (IV) e intramuscular (IM), usando a modelagem PK/PD. Realizou-se uma simulação de Monte Carlo com base nos dados de concentração plasmática de um estudo publicado anteriormente. Calculou-se a área sob a curva (ASC) e as taxas de eficácia do florfenicol para os efeitos bacteriostático, bactericida e de erradicação bacteriológica. A dose de 20 mg/Kg IV demonstrou efeitos de erradicação de 100, 93 e 0% para CIM de 0,5, 1 e acima, respectivamente. O efeito bacteriostático foi de 99 e 90% para CIM de 4 e 2 µg/ml, enquanto o bactericida foi de 14% para CIM de 2 µg/ml. A dose de 30 mg/Kg IV apresentou 100% de erradicação para CIM de 1 µg/mL e 100% de efeito bactericida para CIM de 2 µg/mL. Há 100% de efeito bacteriostático em CIM de 4 µg/ml. As doses de 20 e 30 mg/Kg IM mostraram 100% de erradicação para CIM até 1 µg/mL e 0% para CIM maiores. O efeito bacteriostático foi mantido em 100% para uma CIM de 4 µg/mL em ambas as doses. Este estudo mostra o efeito de erradicação bacteriológica do florfenicol nas doses de 20 e 30 mg/Kg, IV e IM. Recomenda-se que seja feito um estudo de eficácia *in vivo* com a dose de 30mg/Kg IM em ovinos infectados por *F. necrophorum* com MIC superior a 2 µg/mL.

Palavras-chave: antibioticoterapia, modelamento PK/PD, simulação de Monte Carlo, ovinocultura, footrot.

Abstract

We aimed to compare the *in silico* effect of florfenicol at doses of 20 and 30 mg/Kg in sheep by intravenous (IV) and intramuscular (IM) routes, using PK/PD modeling. We performed a Monte Carlo simulation based on plasma concentration data from a previously published study. We calculated the area under the curve (AUC) and the efficacy rates of florfenicol to bacteriostatic, bactericidal, and bacteriological eradication effects. The dose of 20 mg/Kg IV demonstrated 100, 93, and 0% eradication effects for MICs of 0.5, 1, and above, respectively. The bacteriostatic effect was 99 and 90% for MIC of 4 and 2 µg/ml, while the bactericide was 14% for MIC of 2 µg/ml. The 30 mg/Kg IV dose showed 100% eradication for MIC of 1 µg/mL and 100% bactericidal effect for MIC of 2 µg/mL. There is a 100% of bacteriostatic effect at MIC of 4 µg/ml. Doses of 20 and 30 mg/Kg IM showed 100% eradication for MIC up to 1 µg/mL and 0% for MIC above. The bacteriostatic effect was maintained at 100% for a MIC of 4 µg/mL at both doses. This study shows the bacteriological eradication effect of florfenicol at doses of 20 and 30 mg/Kg, IV, and IM. Therefore, we recommend an *in vivo* efficacy study with a dose of 30mg/Kg IM in sheep infected with *F. necrophorum* with MIC greater than two µg/mL.

Key-words: antibiotic therapy, PK/PD modeling, Monte Carlo simulation, sheep farming, footrot.

*Recebido em 4 de agosto de 2022 e aceito em 22 de fevereiro de 2023.

**Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras/MG. Bolsista CAPES. Email: bruni.cris@hotmail.com.

***Mestrando do PPGCV-UFLA, Lavras/MG, Brasil.

****Doutoranda do PPGCV-UFLA, Lavras/MG, Brasil. Bolsista CAPES.

*****Professor Adjunto do Departamento de Medicina Veterinária (DMV) – UFLA, Lavras/MG, Brasil.

*****Investigador de la Estación Experimental Agropecuaria del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (EEA/INTA) Abra Pampa, Jujuy, Argentina.

*****Pesquisadora da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) - Caprinos e Ovinos, Sobral/CE, Brasil.

*****Profesora de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), Corrientes, Corrientes, Argentina.

*****Pesquisador da EMBRAPA – Gado de Leite, Juiz de Fora/MG, Brasil.

*****Professor Adjunto do DMV – UFLA, Lavras/MG, Brasil.

Introdução

As afecções podais apresentam alta prevalência nos rebanhos brasileiros e são responsáveis por elevados prejuízos econômicos (SILVEIRA et al., 2016). Estas afecções causam dor, desconforto e claudicação em decorrência de infecções que reduzem a mobilidade e o consumo alimentar dos animais, diminuindo o peso das carcaças e a produção de lã (VAN METRE, 2017). Os sinais clínicos da pododermatite podem variar desde uma leve dermatite interdigital, até a separação da sola e a parede do casco, resultando no descolamento completo do estojo córneo nos casos mais graves (ABBOTT et EGERTON, 2003).

Os principais responsáveis pela afecção são *Fusobacterium necrophorum* e *Dichelobacter nodosus*, dois agentes bacterianos Gram negativos anaeróbios (BUSIN, 2018). Depois de se estabelecer no local de infecção, *D. nodosus* permite que *F. necrophorum* entre mais profundamente no tecido, causando inflamação e necrose dos cascos (ABBOT et LEWIS, 2005). Desta forma, ambos agentes são essenciais para o processo infeccioso, visto que isoladamente nenhum deles é capaz de provocar a doença (BUSIN, 2018).

A gravidade da afecção se dá pela presença simultânea das duas bactérias, virulência das cepas, condições ambientais e manejo, susceptibilidade do hospedeiro e possíveis mecanismos de resistência (GELASAKIS et al., 2019). As sequências genômicas derivadas de 103 isolados de *D. nodosus* mundialmente distribuídos, mostraram uma taxa de conservação maior que 95%, sugerindo que os genes associados a virulência não costumam ser transferidos entre as cepas (ZANOLARI, 2021). O principal fator de virulência de *D. nodosus* é determinado por suas proteases extracelulares e suas fimbrias (*fimA*), que lhe conferem adesão e motilidade. Essas fimbrias diferem os sorotipos em 10 sorogrupos, variando de A a I, no entanto, não existe associação dos sorotipos a cepas virulentas (WANI et al., 2019). No Brasil, foram identificados sete sorotipos diferentes no estado do Rio Grande do Sul (A, B, C, D, E, F e H) (RIET-CORREA ET AL., 2001).

Para *F. necrophorum* existem quatro biótipos ou biovars tradicionais (A, B, AB e C) baseados em RNA ribossômico 16S, sendo que o tipo AB isolado em abscessos ovinos possui características semelhantes a ambos os biótipos A e B (TAN et al., 1996). A virulência das cepas está relacionada às leucotoxinas que induzem apoptose e lise celular; as endotoxinas que induzem necrose e coagulação intravascular disseminada; hemolisinas e hemaglutinas que induzem hemólise e hemaglutinação; além das proteases e fatores de agregação plaquetária que provocam o rompimento de proteínas celulares (NAGARAJA, 2005).

O Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos (BrCAST 2022) definiu os pontos de corte da concentração inibitória mínima (CIM) de *F. necrophorum*, como resistente para os antimicrobianos benzilpenicilina (>0,06 mg/L), piperacilina-tazobactam (>0,5 mg/L), meropenem (>0,03mg/L), clindamicina (>0,25mg/L) e metronidazol (>0,5mg/L), no entanto, não foi encontrada a definição dos pontos de corte de CIM para *D. nodosus*. Um trabalho canadense de 1977 relata a susceptibilidade de 25 isolados de *F. necrophorum* a 37 antimicrobianos pelo método do disco, no qual os isolados foram susceptíveis a 15 antimicrobianos, entre eles a ampicilina,

cefalotina, cloranfenicol, lincomicina, doxiciclina, penicilina e tetraciclina (SIMON, 1977). Ademais, não existe descrição do perfil epidemiológico de cepas brasileiras de *F. necrophorum* ou *D. nodosus* e nem de suas respectivas sensibilidades aos agentes antimicrobianos.

Quanto ao tratamento, a primeira medida a ser tomada é isolar os animais portadores para evitar a propagação da doença no rebanho. O casqueamento é fundamental para restaurar o formato ideal do casco, retirar tecidos necróticos e permitir que os antibióticos cheguem ao sítio de infecção, mas não deve ser feito excessivamente, pois pode retardar a cicatrização, sensibilizar a derme, gerar dor e proliferação granulomatosa (GELASAKIS et al., 2019). O uso de pedilúvio com desinfetantes como sulfato de zinco, formaldeído ou sulfato de cobre para o tratamento da afecção ainda é questionado, embora seja uma estratégia efetiva de prevenção (HÅRDI-LANDERER et al., 2019).

O tratamento com antibióticos sistêmicos e locais reduz a prevalência e incidência da doença, melhora a saúde, o bem estar e aumenta a produtividade dos animais (WASSINK et al., 2010). A depender do país e das agências regulatórias, uma série de antimicrobianos podem ser utilizados, como oxitetraciclina, da classe das tetraciclinas (STROBEL et al, 2014); florfenicol, da classe dos afenicóis (STROBEL et STAUCH, 2014); amoxicilina, penicilinas (DUCAN et al., 2012); penicilina-estreptomicina e espectinomicina, aminoglicosídeos (SAGLIYAN et al., 2008); lincomisina, lincosamidas (VENNING et al., 1990); enrofloxacin, fluoroquinolonas (KALER et al., 2012kale); ceftiofur, cefalosporina de 3ª geração (SANO et al., 2007), além da gamitromicina, eritromicina e tulatromicina, macrolídeos (KRAFT et al., 2020; PIRIZ et al., 2001; YAEGER et al., 2021).

Apesar desses antimicrobianos se mostrarem eficazes no tratamento da pododermatite ovina, não se pode ignorar a declaração da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2019) que classificou os antibióticos de importância médica a saúde humana. Dentro do grupo dos “Críticamente Importantes”, classificados como “Máxima Prioridade”, encontram-se as cefalosporinas de 3ª geração, macrolídeos e quinolonas, enquanto no grupo de “Alta Prioridade” encontram-se os aminoglicosídeos e as penicilinas. No grupo dos “Altamente Importantes”, as tetraciclinas tem critério C1 e as lincosamidas e afenicóis tem critério C2, o que significa que o seu uso deve ser priorizado na medicina veterinária, com o objetivo de reduzir novos casos de resistência aos antimicrobianos (WHO, 2019, IBRAHIM et al., 2020).

A *European Medicines Agency* também publicou em 2020 uma declaração de importância dos antimicrobianos para a União Europeia, no qual as cefalosporinas de 3ª geração e as quinolonas estão na categoria B e devem ter seu uso restringido na medicina veterinária, pois são extremamente importantes na medicina humana. Na categoria C encontram-se os macrolídeos, aminoglicosídeos, lincosamidas e afenicóis, que devem ser considerados apenas quando não existirem antibióticos na categoria D que possam ser clinicamente eficazes (EMA, 2020). Desta forma, o florfenicol mostra-se um excelente candidato e pode ser priorizado, visto que é um fármaco de uso exclusivo na medicina veterinária.

O florfenicol é um antibiótico de amplo espectro, que possui como índice farmacocinético/farmacodinâmico (PK/PD) a área sob a curva (ASC) de tempo de concentração plasmática, de

0 a 24 horas, sobre a concentração inibitória mínima (CIM) das bactérias infectantes (ASC/CIM) (AHMAD et al., 2016). A modelagem PK/PD associada a simulação de Monte Carlo permite estimar as probabilidades de se alcançar os alvos PK/PD entre os pacientes simulados, por meio de uma técnica matemática que utiliza uma amostragem aleatória repetida.

Desta forma, este trabalho objetiva comparar o efeito *in silico* do florfenicol nas doses de 20 e 30 mg/Kg para o tratamento de pododermatite por *Fusobacterium necrophorum* em ovelhas, pelas vias intravenosa e intramuscular, utilizando o modelamento PK/PD.

Materiais e métodos

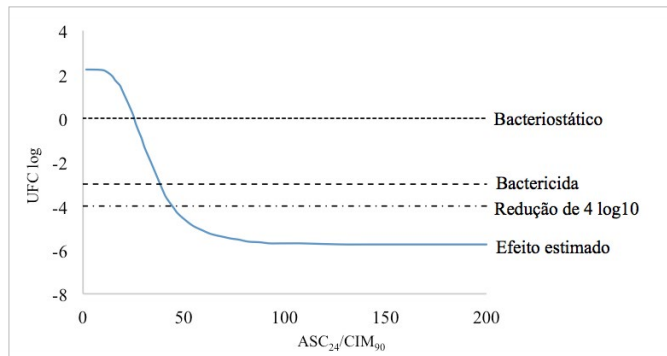
Os dados farmacocinéticos foram adquiridos de um estudo prévio realizado por Jianzhong et al. (2004), com 20 ovelhas mestiças, no qual administrou-se florfenicol em uma única dose de 20 e 30 mg/Kg, pela via intravenosa (IV) e intramuscular (IM). Os valores de concentração plasmática foram extraídos com o software GetData Graph Digitizer® e os valores de área sob a curva, de 0 a 24 horas (ASC₂₄), foram calculados através do método dos trapézios (Figura 1).

Figura 1: Método de aproximação da área sob a curva (ASC) pelo método dos trapézios, no qual C_i é a concentração plasmática observada e t_i é o tempo de coleta correspondente.

$$ASC^{(t)} = \sum_{i=1}^k \left(\frac{C_{i-1} + C_i}{2} \right) \times (t_i - t_{i-1}).$$

Posteriormente, foram simulados valores para uma população de 10.000 indivíduos, através da simulação de Monte Carlo (ODA, 2011; SHARMA et al., 2016) e em seguida, foi avaliada a eficácia do florfenicol seguindo o protocolo da Agência Europeia de Medicamentos (EMA, 2016). O efeito do florfenicol foi determinado segundo os índices de ASC₂₄/CIM₉₀ de aproximadamente 14, 43 e 63, para efeito bacteriostático, bactericida e erradicação bacteriológica, respectivamente (DOREY et al., 2017) (Figura 2).

Figura 2: Relação entre a área sob a curva de tempo de concentração plasmática, de 0 a 24 horas (ASC₂₄), e a concentração inibitória mínima de 90% (CIM₉₀), em função da contagem de unidades formadoras de colônias (UFC), a partir da contagem inicial (log₁₀ UFC/mL) (Adaptado de DOREY et al., 2017).



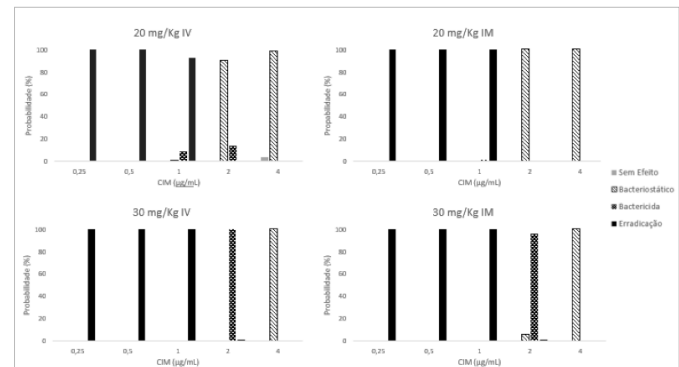
A simulação de Monte Carlo foi realizada usando os parâmetros de ASC₂₄ no programa Microsoft® Office Excel 2019 (ODA, 2011; SHARMA et al., 2016) e a análise estatística, nos programas Microsoft® Office Excel 2019 e BioEstat 5.0. Todas as taxas de eficácia foram comparadas, de acordo com cada CIM₉₀ estudada, no intervalo de 0,25 – 4 µg/mL, mediante o teste de independência do Qui-Quadrado de Pearson (χ²) com um valor de significância de p < 0,05.

Resultados e discussão

Os valores de área sob a curva, de 0 a 24 horas (ASC₂₄), das concentrações séricas de florfenicol a 20 e 30 mg/Kg, foram de 76.31 ± 9.17 e 119.21 ± 2.05 µg.h/mL para via intravenosa (IV) e 67.95 ± 0.61 e 101.95 ± 8.92 g.h/mL, para via intramuscular (IM), respectivamente.

As doses de 20 e 30 mg/Kg de florfenicol, por ambas vias, obtiveram 100% de chance de erradicação bacteriológica para isolados de *F. necrophorum* com CIM de até 1 µg/mL, exceto a dose de 20 mg/Kg IM, que obteve 93% (Figura 3). O efeito bactericida foi maior nas doses de 30 mg/Kg, enquanto o bacteriostático foi maior nas doses de 20 mg/Kg, para CIM de 2 e 4 µg/mL, em ambas vias.

Figura 3: Probabilidade de se atingir o índice ASC₂₄/CIM₉₀ de acordo com a CIM de *F. necrophorum*, após tratamento com florfenicol em ovelhas, baseado na simulação de Monte Carlo (n = 10.000).



Considerando a dose de 20 mg/Kg pela via intravenosa, para *F. necrophorum* com CIM de até 0,5 µg/mL, há 100% de chance de erradicação bacteriológica, diminuindo para 93% para CIM de 1 µg/mL e 0% para CIM maior que 1 µg/mL. Entretanto, há uma probabilidade de efeito bacteriostático alta de 99% e 90% para CIM de 2 e 4 µg/mL, respectivamente. Por último, o efeito bactericida máximo foi de 14% para CIM de 2 µg/mL. Já a dose de 30 mg/Kg IV, para *F. necrophorum* com CIM de até 1 µg/mL, apresentou 100% de chance de erradicação bacteriológica, e 100% de efeito bactericida para CIM de até 2 µg/mL. O efeito bacteriostático também atingiu 100% para CIM de até 4 µg/mL.

Para a via intramuscular, a dose de 20 mg/Kg demonstrou 100% de efeito de erradicação bacteriológica para *F. necrophorum* com CIM de até 1 µg/mL, diminuindo para 0% para CIM superior a 1 µg/mL. Entretanto, também há probabilidade de efeito bacteriostático de 100% para CIM de 2 e 4 µg/mL. Enquanto para a dose de 30 mg/Kg IM o efeito de erradicação bacteriológica foi o mesmo da dose de 20 mg/Kg, o efeito bactericida máximo foi de 96% para

F. necrophorum com CIM de 2 µg/mL. O efeito bacteriostático também se manteve em 100% para CIM de até 4 µg/mL.

Para *F. necrophorum*, o Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos definiu os pontos de corte da concentração inibitória mínima para os antimicrobianos benzilpenicilina (>0,06 mg/L), piperacilina-tazobactam (>0,5 mg/L), meropenem (>0,03mg/L), clindamicina (>0,25mg/L) e metronidazol (>0,5mg/L) (BrCAST, 2022). Se consideramos que a CIM do *F. necrophorum* para florfenicol está no intervalo de 0,25 a 0,5 µg/mL, as doses de 20 e 30 mg/Kg, tanto pela via intramuscular, quanto pela intravenosa, apresentam taxas de eficácia adequadas para o tratamento de pododermatite infecciosa em ovinos no Brasil (p <0,05).

No entanto, deve-se ressaltar que para sucesso da antibioticoterapia, além de se determinar a CIM, é necessário que haja concentração suficiente do fármaco no sítio de infecção. Os resultados obtidos neste estudo permitem evidenciar como as diferenças na farmacocinética, resultante de diferentes vias de administração e doses, impactam no efeito e na eficácia do tratamento. A variação farmacocinética pode ser influenciada por diferenças de raça, aptidão, idade, estado nutricional e sanidade dos animais, impactando diretamente no sucesso terapêutico (MOSER et al., 2019).

Além disso, é importante considerar a variação de sensibilidade bacteriana dentre isolados de uma determinada região, uma vez que estes influenciam na dose preconizada e consequentemente, no sucesso da antibioticoterapia (BHARDWAJ et al., 2018). Assim, faz-se necessário a determinação do ponto de corte epidemiológico, a partir de uma distribuição populacional de CIM (WHO, 2015; ZHANG et al., 2016). No Brasil, existe uma falta de estudos sobre susceptibilidade bacteriana e determinação do ponto de corte epidemiológico (ECOFF) de cepas de *D. nodosus* e *F. necrophorum*. A falta de valores de CIM dessas bactérias frente ao florfenicol, evidencia a necessidade de se realizar estudos de suscetibilidade que permitam otimizar as doses de antibióticos para orientar um tratamento empírico mais eficaz e seguro.

Independentemente da antibioticoterapia, existem algumas estratégias que podem ser adotadas para prevenir a ocorrência

dos casos de pododermatite, diminuindo assim a necessidade e os custos com o tratamento, principalmente nas regiões com condições climáticas favoráveis a ocorrência do agravo. As estratégias vão desde evitar a compra de animais que tenham histórico da doença, transportá-los em veículos higienizados e desinfetados, passar novos animais pelo pedilúvio antes de entrarem na propriedade, evitando que novas bactérias sejam introduzidas no rebanho. Para zonas endêmicas, recomenda-se o uso da vacina, que associada ao pedilúvio, a rotação de pastagens e ao casqueamento rotineiro pode reduzir em até 100% o aparecimento da enfermidade (CHAGAS et al., 2017; CLIFTON et al, 2019).

É possível perceber que existem inúmeras abordagens para impedir o surgimento de novos casos, controlar o status sanitário do rebanho e até mesmo, eliminar a doença da propriedade. Em adição ao sucesso epidemiológico, decisões contra ou a favor de certas estratégias, dependem de outras considerações, como por exemplo, evitar o uso de antibióticos criticamente importantes.

Portanto, é imprescindível ajustar a dose terapêutica e se atentar a via de administração realizada. Ademais, o trabalho demonstra a necessidade de novos estudos que determinem o perfil de susceptibilidade bacteriana dos isolados em rebanhos brasileiros, além de se determinar o perfil farmacocinético do florfenicol em ovelhas de raças adaptadas a pecuária nacional, a fim de otimizar a antibioticoterapia nesses animais.

Conclusão

O presente estudo permitiu determinar o efeito de erradicação bacteriológica do florfenicol nas doses de 20 e 30 mg/Kg pela via intramuscular e intravenosa, para o tratamento de pododermatite por *Fusobacterium necrophorum* em ovelhas. Para CIM maior que 1 µg/mL, a dose de 30 mg/Kg terá melhor efeito bactericida, enquanto a de 20 mg/Kg, melhor efeito bacteriostático. Portanto, recomenda-se fazer um estudo de eficácia *in vivo* do florfenicol na dose de 30mg/Kg pela via intramuscular, em ovelhas infectadas com *F. necrophorum* com CIM maior que 2 µg/mL.

Agradecimentos

A Universidade Federal de Lavras (UFLA) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Este estudo foi feito em parceria e financiado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA/SEG20.20.03.002.00.00), pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG/APQ-01168-21) e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq/448011/2014-0).

Referências

ABBOTT, K.A., EGERTON, J.R., 2003. Effect of climatic region on the clinical expression of footrot of lesser clinical severity (intermediate footrot) in sheep. *Australian Veterinary Journal* 81, 756–762.

ABBOTT, K.A.; LEWIS, C.J. Current approaches to the management of ovine footrot. , 169(1), 28–41. 2005. doi:10.1016/j.tvjl.2004.05.008

AHMAD, I.; HUANG, L.; HAO, H.; SANDERS, P.; YUAN, Z. Application of PK/PD modeling in veterinary field: dose optimization and drug resistance prediction. *BioMed Research International*, v. 2016, 5465678, 2016.

BHARDWAJ, P.; SIDHU, P. K.; LONARE, M. K.; KAUR, R.; DUMKA, V. K.; RAMPAL, S. Pharmacokinetic-pharmacodynamic integration of marbofloxacin after single and repeated intravenous administration in goats. *Research in Veterinary Science*, v. 121, p. 111-115, 2018.

BRCAST – Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 01 - Tabela-pontos-de-corte-clinicos-BrCAST 14 de abril, 2022. Disponível em: <http://brcast.org.br/documentos/>

BUSIN, V. Sheep lameness: causes, types and options for treatment. *Veterinary Times*, 48(15), 2018.

CHAGAS, A C de S; VERÍSSIMO, C J; SANTANA, R C M. Principais Enfermidades e Manejo Sanitário de Ovinos. EMBRAPA. 2 edição. 2017

- CLIFTON, R., GIEBEL, K., LIU, N.L.B.H., PURDY, K.J., GREEN, L.E. Sites of persistence of *Fusobacterium necrophorum* and *Dichelobacter nodosus*: a paradigm shift in understanding the epidemiology of footrot in sheep. *Scientific Reports* 9 14429-14429. 2019.
- DOREY, L.; PELLIGAND, L.; CHENG, Z.; LEES, P. Pharmacokinetic/pharmacodynamics integration and modelling of florfenicol for the pig pneumonia pathogens *Actinobacillus pleuropneumoniae* and *Pasteurella multocida*. *Plos One*, v. 12, n. 5, 2017.
- DUNCAN, J.S., GROVE-WHITE, D., MOKS, E., CARROLL, D., OULTRAM, J.W., PHYTHIAN, C.J., WILLIAMS, H.W. Impact of footrot vaccination and antibiotic therapy on footrot and contagious ovine digital dermatitis. *Veterinary Record* 170, 462. 2012.
- EMA – European Medicines Agency: Science Medicines Health. Categorisation of antibiotics in the European Union. EMA/CVMP/CHMP/682198/2017. 2020.
- EMA. European Medicines Agency. Guideline on the use of pharmacokinetics and pharmacodynamics in the development of antimicrobial medicinal products.” Document EMA/CHMP/594085/2015, 2016.
- GELASAKIS, A.I., KALOGIANNI, A.I., BOSSIS, I. Aetiology, risk factors, diagnosis and control of foot-related lameness in dairy sheep. *Animals* (Basel) 9. 2019.
- HÄRDI-LANDERER, M.C., STOFFEL, A., DÜRR, S., STEINER, A. Footbath as treatment of footrot in sheep. Current-situation on Swiss sheep farms. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 161, 377–386. 2019.
- IBRAHIM, M, AHMAD, F, YAQUB, B, RAMZAN, A, IMRAN, A, AFZAAL, M, MIRZA, S.A, et al. Chapter 4 - Current trends of antimicrobials used in food animals and aquaculture. In *Advances in Environmental Pollution Research series, Antibiotics and Antimicrobial Resistance Genes in the Environment*, Elsevier, v.1, 39-69, 2020.
- JIANZHONG, S., XIUBO, L., HAIVANG, J., WALTER, H.H. Bioavailability and pharmacokinetics of florfenicol in healthy sheep. 27(3), 163–168. 2004.
- KALER, J., WANI, S.A., HUSSAIN, I., BEG, S.A., MAKHDOOMI, M., KABLI, Z.A., GREEN, L.E. A clinical trial comparing parenteral oxytetracycline and enrofloxacin on time to recovery in sheep lame with acute or chronic footrot in Kashmir, India. *BMC Veterinary Research* 8 12–12.2012.
- KRAFT, A.F., STROBEL, H., HILKE, J., STEINER, A., KUHNERT, P. The prevalence of *Dichelobacter nodosus* in clinically footrot-free sheep flocks: a comparative field study on elimination strategies. *BMC Veterinary Research* 16, 21. 2020.
- MOSER, C.; LERCHE, C. J.; THOMSEN, K.; HARTVIG, T.; SCHIERBECK, J.; JENSEN, P. Ø.; CIOFU, O.; HØIBY, N. Antibiotic therapy as personalized medicine – general considerations and complicating factors. *APMIS*, v. 127, p. 361– 371, 2019.
- NAGARAJA, T. G., NARAYANAN, S. K., STEWART, G. C., & CHENGAPPA, M. M. *Fusobacterium necrophorum* infections in animals: Pathogenesis and pathogenic mechanisms. *Anaerobe*, 11(4), 239–246.2005. doi:10.1016/j.anaerobe.2005.01.007
- ODA, K. Development of software for antimicrobial PK/PD simulation incorporating Monte Carlo simulation based on Microsoft® Office Excel. *Journal of Pharmaceutical Health Care and Sciences*, v. 37, n. 6, p. 335-344, 2011.
- PIRIZ, S., POBEL, T., JIMENEZ, R., MATEOS, E.M., MARTIN-PALOMINO, P., VILA, P., VADILLO, S. Comparison of erythromycin and oxytetracycline for the treatment of ovine footrot. *Acta Veterinaria Hungarica* 49, 131–139. 2001.
- RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MENDES, M. C.; LEMOS, A.; BORGES, J. R. J. Doenças bacterianas. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MENDES, M. C.; LEMOS, R.A. A. *Doenças de ruminantes e equinos*. São Paulo: Varela, p. 242-252. 2001
- SAGLIYAN, A., GUNAY, C., HAN, M.C. Comparison of the effects of oxytetracycline and penicillin-streptomycin in the treatment of footrot in sheep. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 7, 986–990. 2008.
- SANO, K.; TAGUCHI, K.; MARUYAMA, N.; et al. Efficacy of ceftiofur given intramuscularly at 1 or 2 mg/kg for 3 days in the treatment of bovine foot rot in Japan. *J Vet Med Japan*. 60:203–8. 2007.
- SHARMA, V.D.; SINGLA, M.; CHAUDHARY, M.; KUMAR, M.; BHATNAGAR, A. et al. Dose optimization of ceftriaxonevancomycin combination using fractional inhibitory concentration kinetics in resistant bacteria. *ADMET and DMPK*, v. 4, n. 3, p. 241-260, 2016.
- SILVEIRA, C.S., DAMBORIARENA, P.A., MORAIS, R.M., TROST, M.E., PPZZPBON, R., ANJOS, B.L. Foot lesions of sheep from southwestern Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 36(10):971-978, outubro, 2016.
- SIMON PC. Susceptibility of *Fusobacterium necrophorum* to antimicrobials. Part I: as determined by the disc method. *Can J Comp Med*. Apr;41(2):166-8. 1977
- STROBEL, H., LAUSEKER, M., FORBES, A.B. Targeted antibiotic treatment of lame sheep with footrot using either oxytetracycline or gamithromycin. *Veterinary Record* 174, 46. 2014
- STROBEL, H., STAUCH, S. Metaphylactic antibiotic treatment of footrot in sheep using Florfenicol. *Berliner und Münchner Tierärztliche Wochenschrift* 127, 211– 215. 2014
- TAN ZL, NAGARAJA TG, CHENGAPPA MM. *Fusobacterium necrophorum* infections: virulence factors, pathogenic mechanism and control measures. *Vet Res Comm*; 20:113–40. 1996.
- VAN METRE, D.C. Pathogenesis and Treatment of Bovine Foot Rot. *Vet Clin Food Anim*, 33, 183–194. 2017.
- VENNING, C.M., CURTIS, M.A., EGERTON, J.R. Treatment of virulent footrot with lincomycin and spectinomycin. *Australian Veterinary Journal* 67, 258–260. 1990.
- WANI, S.A., FAROOQ, S., KASHOO, Z.A., HUSSAIN, I., BHAT, M.A., RATHER, M.A., AALAMGEER, S. Determination of prevalence, serological diversity, and virulence of *Dichelobacter nodosus* in ovine footrot with identification of its predominant serotype as a potential vaccine candidate in J and K, India. *Tropical Animal Health and Production* 51, 1089–1095. 2019.
- WASSINK, G.J., KING, E.M., GROGONO-THOMAS, R., BROWN, J.C., MOORE, L.J., GREEN, L.E. A within farm clinical trial to compare two treatments (parenteral antibacterials and hoof trimming) for sheep lame with footrot. *Preventive Veterinary Medicine* 96, 93–103. 2010.
- WHO - World Health Organization Global Action Plan On Antimicrobial Resistance. World Health Organization, Geneva, Suíça. 2015.
- WHO – World Health Organization. Critically Important Antimicrobials for Human Medicine. (6th revision). World Health Organization Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance (AGISAR), Geneva, Suíça. 2019.
- YAERGER, M, MOCHEL, J.P, WU, Z, PLUMMER, P, SAHIN, O, SMITH, J, et al. Pharmacokinetics of tulathromycin in pregnant ewes (*Ovis aries*) challenged with *Campylobacter jejuni*. *PLoS ONE* 16(8): e0256862. 2021.
- ZANOLARI, P., DÜRR, S., JORES, J., STEINER, A., & KUHNERT, P. *Ovine footrot: A review of current knowledge*. *The Veterinary Journal*, 271, 105647.2021. doi:10.1016/j.tvjl.2021.105647
- ZHANG, N.; GU, X.; YE, X.; WU, X.; ZHANG, B.; ZHANG, L.; SHEN, X.; JIANG, H.; Ding, H. The PK/PD interactions of doxycycline against *Mycoplasma gallisepticum*. *Front. Microbiol*, v. 7, 2016.