

**Artigo Original de Pesquisa**  
**Original Research Article**

# **Avaliação do potencial do cloranfenicol para induzir teratogenicamente o aparecimento de fissura palatina em ratos Wistar**

## **Evaluation of the teratogenic potential of chloramphenicol to induce the appearance of cleft palate in Wistar rats**

Heloísa STEFFENS\*  
Andréa Azevedo BRANDÃO\*  
Odilon GUARIZA FILHO\*\*  
Ana Maria Trindade GRÉGIO\*\*  
João Paulo STEFFENS\*\*\*

**Endereço para correspondência:**  
**Address for correspondence:**

João Paulo Steffens  
Programa de Pós-Graduação em Odontologia – Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista – Unesp  
Rua Humaitá, 1.680  
CEP 14801-903 – Araraquara – SP  
E-mail: joaopaulosteffens@hotmail.com

\* Cirurgiãs-dentistas – PUCPR.

\*\* Professores do curso de Odontologia – PUCPR.

\*\*\* Mestre em Odontologia – UEPG. Doutorando em Odontologia, área de concentração em Periodontia – Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista – Unesp

**Recebido em 21/7/2009. Aceito em 14/10/2009.**  
**Received on July 21, 2009. Accepted on October 14, 2009.**

**Palavras-chave:**

cloranfenicol; agentes antibacterianos; fissura palatina.

### **Resumo**

**Introdução:** O cloranfenicol é um antibiótico com uso controverso durante a gestação, por atravessar a barreira placentária com facilidade e atingir altas concentrações no feto. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial teratogênico do cloranfenicol para induzir fenda palatina em ratos. **Material e métodos:** Foram utilizadas 10 ratas Wistar para a realização da cópula, alocadas em dois grupos: G1 – cinco ratas receberam 0,5 mg/kg de cloreto de sódio via intramuscular do 14.º ao 17.º dia de prenhez (controle); G2 – cinco ratas receberam 0,5 mg/kg de cloranfenicol via intramuscular do 14.º ao 17.º dia de

prenhez. Foram realizadas cesarianas no 20.º dia de prenhez. A cabeça dos fetos foi removida e examinada clinicamente com o auxílio de lupa estereoscópica para diagnóstico de fenda palatina. **Resultados:** Os resultados mostraram que os fetos de G1 ou G2 não apresentaram fenda palatina. **Conclusão:** Concluiu-se que o cloranfenicol não tem potencial teratogênico para induzir o aparecimento de fenda palatina em ratos.

### Keywords:

chloramphenicol; anti-bacterial agents; cleft palate.

### Abstract

**Introduction:** Chloramphenicol is an antibiotic with controversial use during pregnancy for easily crossing the placental barrier and achieving high concentrations in the fetus. **Objective:** The aim of this study was to evaluate the teratogenic potential of chloramphenicol to induce cleft palate in rats. **Material and methods:** 10 female Wistar rats were used to perform the mating, allocated into two groups: G1 – 5 female rats received 0.5 mg/kg of sodium chloride intramuscularly from the 14<sup>th</sup> to the 17<sup>th</sup> day of pregnancy (control); G2 – 5 female rats received 0.5 mg/kg of chloramphenicol intramuscularly from the 14<sup>th</sup> to the 17<sup>th</sup> day of pregnancy. Cesareans were performed in the 20<sup>th</sup> day of pregnancy. The fetuses' heads were removed and clinically examined with the aid of a stereoscopic magnifying glass for the diagnosis of cleft palate. **Results:** The fetuses of G1 or G2 did not present cleft palate. **Conclusion:** Chloramphenicol does not have the teratogenic potential to induce cleft palate in rats.

### Introdução

Algumas malformações congênitas estão comprovadamente associadas ao uso de medicamentos em um período gestacional precoce. As fendas orofaciais são uma das malformações congênitas mais frequentes e foram descritas pela primeira vez há quase dois séculos. No entanto sua etiologia não se encontra claramente estabelecida. Entre outros fatores ambientais, a exposição a medicamentos parece ter importante ação no mecanismo que interfere no desenvolvimento embriológico, resultando na falha parcial de fusão dos processos nasais médios e outras anormalidades de desenvolvimento.

O cloranfenicol é um antibiótico de amplo espectro, eficaz contra bactérias gram-negativas, gram-positivas e riquétsias. Tem como indicações clínicas primárias as infecções causadas por salmonelas, como febre tifoide, infecções graves como meningite, epiglote ou pneumonia causada por *H. influenzae* [1], infecções meningocócicas ou pneumocócicas do sistema nervoso central [11] em pacientes sensíveis aos antibióticos betalactâmicos e infecções anaeróbicas ou mistas do sistema nervoso central [14], infecções por riquétsias [5] e

na brucelose [12]. Por causa dos diversos efeitos colaterais provocados pelo cloranfenicol, entre os quais se incluem distúrbios gastrintestinais, distúrbios da medula óssea e toxicidade em recém-nascidos, o emprego do antibiótico tem sofrido restrições de uso.

A utilização do cloranfenicol durante a gestação é muito controversa, pois atravessa a placenta com grande facilidade [17], chegando ao feto com altos níveis de concentração. No entanto não há relatos na literatura sobre seu potencial teratogênico. Assim, o presente trabalho teve como objetivo investigar o potencial do cloranfenicol em induzir teratogenicamente o desenvolvimento de fenda palatina em ratos Wistar.

### Material e métodos

Para a realização do procedimento experimental foram utilizados 20 ratos do tipo *Rattus norvegicus* (Wistar), obtidos no biotério da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR). O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Tuiuti do Paraná (UTP-PR). Além disso, foram obedecidas as recomendações

éticas e legais especificadas para a experimentação animal.

O peso corporal médio dos ratos foi de 250 g; dez eram do sexo masculino e dez do sexo feminino. As ratas grávidas foram divididas em dois grupos experimentais: grupo 1 (controle) – composto de cinco ratas, que receberam 0,5 mg/kg de cloreto de sódio via intramuscular do 14.<sup>o</sup> ao 17.<sup>o</sup> dia de prenhez; grupo 2 (teste) – formado por cinco ratas, que receberam 0,5 mg/kg de cloranfenicol via intramuscular do 14.<sup>o</sup> ao 17.<sup>o</sup> dia de prenhez.

Os animais foram mantidos em gaiolas específicas para criação de ratos, na proporção de três animais para cada gaiola, evitando-se altas densidades. As gaiolas foram distribuídas em diferentes setores do biotério, de modo que as fêmeas ficassem isentas de contato com os machos, tomando-se o cuidado de manter todas as gaiolas em local de boa circulação de ar e luminosidade.

Ao completar 90 dias de idade, os machos foram colocados em gaiolas suplementares. Dois dias depois retiraram-se os machos, e as fêmeas foram distribuídas nessas mesmas gaiolas, sem que estas fossem limpas, com o intuito de obter o efeito Whitten, proveniente da ação dos feromônios excretados pelos roedores. Dessa forma, foi controlado o início do ciclo estral e pôde-se definir quando ocorreria a ovulação, geralmente entre o quarto e o quinto dia após o começo deste. A confirmação de que as fêmeas se encontravam no estro foi feita pela estimulação digital na região pélvica destas. No 96.<sup>o</sup> dia, os machos foram postos em convívio com as fêmeas, na proporção de um macho para duas fêmeas (acasalamento), permanecendo juntos até a manhã do dia seguinte, quando então os machos foram removidos e doados para realização de outros experimentos.

Para a confirmação de que houve realmente a cópula, foram injetados 20  $\mu$ L de solução de cloreto de sódio a 9% (Darrow) no canal vaginal da fêmea, com uma pipeta de pequeno calibre, e logo em seguida aspirados. Colocou-se o material colhido em lâminas de vidro lapidadas e foi feito um esfregão para verificar, ao microscópio ótico, se havia espermatozoides ou não. Além disso, efetuou-se uma inspeção visual nos genitais externos da fêmea, buscando-se aspectos clínicos indicativos do acasalamento, como sangramento ou vermelhidão na vagina. As fêmeas que apresentassem quaisquer dessas características foram consideradas grávidas e utilizadas no experimento.

Em ambos os grupos o sacrifício dos animais foi feito no 20.<sup>o</sup> dia de gestação. Na sequência, foi realizada a laparotomia em cada uma das gestantes, para a coleta dos fetos. Apenas a porção cefálica de

cada feto foi avaliada macroscopicamente, sob lupa estereoscópica Zeiss modelo citoval (aumento de aproximadamente 20 X).

Foram levados em conta na avaliação clínica dos fetos: fechamento do palato primário e secundário; processo nasal; processo mediano; e processos palatinos laterais.

## Resultados

Nenhum feto do grupo experimental apresentou má-formação palatina. Todos os animais tiveram fechamento completo do palato primário e secundário, com a fusão dos processos nasais e medianos, permitindo a formação do palato primário. Os processos palatinos laterais que a princípio cresciam para baixo, após movimentação da língua no sentido caudal, tornaram-se horizontalizados como duas prateleiras ou cristas, cresceram horizontalmente em sentido de um para o outro, fundiram-se na linha média atrás do forame incisivo do palato primário e, por fim, formaram o palato secundário.

## Discussão

Os resultados indicaram que nos fetos expostos ao cloranfenicol nas doses diárias de 0,5 mg/kg entre o 14.<sup>o</sup> e o 17.<sup>o</sup> dia de prenhez os níveis da droga não foram suficientes para induzir o aparecimento de fenda palatina, consequência da falha das cristas palatinas que não estabelecem contato. Alterações no desenvolvimento do mesênquima e a subsequente interrupção na elevação das cristas palatinas não estão relacionadas à exposição do cloranfenicol nesse estágio de desenvolvimento.

O cloranfenicol é um antibiótico muito utilizado para tratar infecções bacterianas, e as mulheres grávidas também recebem frequentemente tal tratamento. Esse medicamento atravessa a placenta livremente, e o tratamento materno tardio na gravidez pode estar associado com problemas vasculares no feto [7].

Em virtude de o mecanismo de ação do cloranfenicol interferir na síntese proteica, ele poderia alterar a síntese proteica fetal, levando a má-formações [16]. O presente estudo concorda com trabalhos anteriores, em que efeitos teratogênicos não foram observados nos conceptos de ratos [18], coelhos [4] ou macacos [6] após tratamento com cloranfenicol na dose de 2 a 4 vezes a dose usual em humanos. Contudo várias anomalias congênitas foram induzidas em ratos pelo tratamento materno com cloranfenicol na dose de 10 a 40 vezes a dose

terapêutica em humanos [9, 19], mas não em camundongos e coelhos [10].

O rato é o animal de trabalho comumente empregado como modelo experimental para o estudo da biologia e patologia dos tecidos bucais. Na teratologia experimental, o rato apresenta abundantes vantagens, pois tem ciclo reprodutivo curto e baixa incidência de má-formações espontâneas, bem como é relativamente resistente a doenças e a procedimentos operatórios. Por isso sua aplicação na teratologia é fundamental [3, 15].

Nos ratos, o desenvolvimento normal pré-natal do palato ocorre da seguinte maneira: o palato primário é formado entre o 11.º e o 14.º dia de prenhez. No 16.º dia a língua ainda não entrou em contato com as projeções palatais. No 17.º dia as projeções palatinas fusionam-se, separando as cavidades em nasal e oral. No 18.º dia, a região palatina está livre de ninhos epiteliais. No 19.º dia, o centro ósseo nasofaríngeo situado lateralmente à cavidade nasofaríngea e medialmente ao centro ósseo alveolar está fusionado, e a formação óssea progride em direção à linha média do palato. A aproximação do osso palatino ocorre no 21.º dia. A região da linha média tem a aparência de uma sutura, e a malha óssea é separada por acúmulos de células mesenquimais [13]. Por esse motivo, a administração do cloranfenicol foi feita entre o 14.º e o 17.º dia de prenhez, coincidindo com a formação do palato secundário [3, 8].

Em relação à dosagem do cloranfenicol, cabe lembrar que em teratologia a dose empregada da droga deve produzir o máximo de má-formação com o mínimo de perdas. Os tratamentos agudos produzem maior efeito teratogênico que os crônicos [2].

Apesar dos resultados favoráveis ao uso de cloranfenicol em ratas prenhas, as limitações do presente estudo devem ser levadas em consideração. Sugere-se que novas investigações sejam realizadas com maior número amostral e metodologia mais sensível a alterações de desenvolvimento (como cortes histológicos) para avaliar o real efeito do cloranfenicol em induzir fendas palatinas em ratos.

## Conclusão

Considerando-se as limitações da presente pesquisa, conclui-se que a administração de 0,5 mg/kg de cloranfenicol não foi eficaz em induzir teratogenicamente o aparecimento de fendas palatinas em fetos de ratos tipo Wistar.

## Referências

1. Almeida-González L, Franco-Paredes C, Pérez LF, Santos-Preciado JI. Meningococcal disease caused by *Neisseria meningitidis*: epidemiological, clinical, and preventive perspectives. *Salud Pública Mex.* 2004 Oct;46(5):438-50.
2. Beaudoin AR. Embryology and teratology. In: Baker HJ, Lindsey JR. *The laboratory rat: research applications.* Nova York: Academic Press; 1980. p. 75-101.
3. Bittencourt MA, Bolognese AM. Epithelial alterations of secondary palate formation. *Braz Dent J.* 2000 Oct;11(2):117-26.
4. Brown DM, Harper KH, Palmer AK, Tesh SA. Effect of antibiotics upon pregnancy in the rabbit. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1968;12:295.
5. Carrada BT. Fiebre maculosa americana en niños: avances y perspectivas. *Rev Mex Pediatr.* 1986 Aug;53(4):133-44.
6. Courtney KD, Valerio DA. Teratology in the Macaca mulatta. *Teratology.* 1968 May;1(2):163-72.
7. Czeizel AE, Rockenbauer M, Sørensen HT, Olsen J. A population-based case-control teratologic study of oral chloramphenicol treatment during pregnancy. *Eur J Epidemiol.* 2000 Apr;16(4):323-7.
8. De Angelis V, Nalbandian J. Ultrastructure of mouse and rat palatal processes prior to and during secondary palate formation. *Arch Oral Biol.* 1968 Jun;13(6):601-8.
9. Dyban AP, Chebotar NA. Can cleft palate be induced by chloramphenicol? *Arch Anat.* 1971 May;60(5):25-9.
10. Fritz H, Hess R. The effect of chloramphenicol on the prenatal development of rats, mice, and rabbits. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1971 Aug;19(4):667-74.
11. Hernández M, Mejía GI, Trujillo H, Robledo J. Evidencia in vitro de la utilidad de cloranfenicol y rifampicina para el tratamiento de infecciones sistémicas y meningitis causadas por *Streptococcus pneumoniae* aislados de niños menores de 5 años en Colombia. *Biomédica.* 2003 Dec;23(4):456-61.

12. Hirinchsen SL, Freire L, Moura L, Jucá MB, Silva PFS, Pinheiro MR et al. Brucelose: relato de caso. *An Fac Med Univ Fed Pernambuco*. 2002;47(2):148-52.
13. Hughes LV, Furstman L, Bernick S. Prenatal development of the rat palate. *J Dent Res*. 1967 Mar/Apr;46(2):373-9.
14. Katzung BG. *Farmacologia básica e clínica*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998.
15. McCoy SJ, Shirley BA. Effects of prenatal administration of testosterone and cortisone on the reproductive system of the female rat. *Life Sci*. 1992;50(9):621-8.
16. Onur MA, Vural I, Kaş HS, Hincal AA, Coşkun T, Kanra G et al. Decrease in the placental transfer of chloramphenicol when administered in albumin microspheres into rats. *J Microencapsul*. 1993 Jul/Sep;10(3):367-74.
17. Pacifici GM, Nottoli R. Placental transfer of drugs administered to the mother. *Clin Pharmacokinet*. 1995 Mar;28(3):235-69.
18. Prochazka J, Simkova V, Havelka J. Concerning the penetration of the placenta by chloramphenicol. *Pediatrics*. 1964 Apr;19:311-4.
19. Takaya M. Teratogenic effects of antibiotics. *J Osaka City Med Cent*. 1965;14:107-15.

---

**Como citar este artigo:**

Steffens H, Brandão AA, Guariza Filho O, Grégio AMT, Steffens JP. Avaliação do potencial do cloranfenicol para induzir teratogenicamente o aparecimento de fissura palatina em ratos Wistar. *Rev Sul-Bras Odontol*. 2010 Jun;7(2):154-8.

---