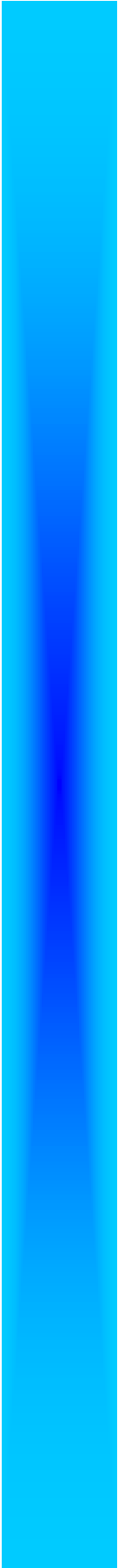


Mariane Lima de Castro Paro

**“ANÁLISE DO PERFIL DE
SUSCEPTIBILIDADE
ANTIMICROBIANA DE
MICRORGANISMOS ISOLADOS DE
PROCESSOS INFECCIOSOS BUCAIS”**

**ARAÇATUBA – SP
- 2003 -**



Mariane Lima de Castro Paro

“ANÁLISE DO PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE MICRORGANISMOS ISOLADOS DE PROCESSOS INFECCIOSOS BUCAIS”

Dissertação apresentada à
Faculdade de Odontologia do
Câmpus de Araçatuba - Unesp,
como parte dos requisitos do
Programa de Pós-Graduação em
Odontologia, Área de
Concentração em Estomatologia,
nível de Mestrado, para a
obtenção do Título de **Mestre em
Odontologia.**

**ARAÇATUBA – SP
- 2003 -**

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca da FOA / UNESP

P257a Paro, Mariane Lima de Castro
Análise do perfil de susceptibilidade antimicrobiana de microrganismos isolados de processos infecciosos bucais. / Mariane Lima de Castro Paro. -- Araçatuba : [s.n.], 2003
170 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia, Araçatuba, 2003
Orientador: Prof. Dr. Elerson Gaetti Jardim Júnior.

1.Infecção. 2.Bactérias. 3.Antimicrobianos.

Black D65
CDD 617.601

Sumário

NOTAS DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO

Data da Defesa:

Prof. Dr. Elerson Gaetti-Jardim Júnior

Avaliação _____

Assinatura _____

Obs: _____

Profa. Dra. Ana Maria Pires Soubhia

Avaliação _____

Assinatura _____

Obs: _____

Prof. Dr. Hélio Massaiosshi Tanimoto

Avaliação _____

Assinatura _____

Obs: _____

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE TABELAS	8
1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DA LITERATURA	21
2.1. Infecções ósseas mais relevantes em Odontologia	23
2.1.1. Osteomielite	23
2.1.2. Actinomicose	28
2.1.3. Infecções endodônticas e periapicais Alveolite	31
2.1.4. Alveolite	35
2.2. Antimicrobianos no tratamento das infecções maxilofaciais	39
2.3. Resistência dos microorganismos aos antimicrobianos	47
2.4. Mecanismos de resistência aos antimicrobianos	52
2.5. Padrões de susceptibilidade a antimicrobianos de microorganismos frequentemente envolvidos em infecções maxilofaciais	60
3. PROPOSIÇÃO	89
4. MATERIAL E MÉTODO	91
4.1. Amostras microbianas	92
4.2. Testes para identificação microbiana	93
4.2.1. Identificação presuntiva	93

Sumário

4.2.1.1. Caracterização fisiológica	93
4.2.1.1.1. Produção de catalase	93
4.2.1.1.2. Motilidade, produção de H ₂ S e indol	93
4.2.1.1.3. Hidrólise de gelatina	94
4.2.1.1.4. Hidrólise de amido	94
4.2.1.1.5. Hidrólise da esculina	94
4.2.1.1.6. Atividade hemolítica	95
4.2.1.1.7. Produção de gás	95
4.2.2. Identificação definitiva	95
4.2.2.1. Fermentação de carboidratos	95
4.3. Avaliação da susceptibilidade a drogas antimicrobianas	96
4.3.1. Método	96
4.3.2. Meio de cultura	96
4.3.3. Antimicrobianos	97
4.3.4. Inóculo	97
4.3.5. Soluções estoques dos agentes antimicrobianos ...	98
4.3.6. Incubação	99
4.3.7. Leitura e interpretação dos resultados	99
4.4. Verificação da produção de β -lactamase	100
4.5. Análise Estatística	101
5. RESULTADO	102
6. DISCUSSÃO	113
7. CONCLUSÃO	132

Sumário

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	135
RESUMO	165
ABSTRACT	168

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Inoculação através do replicador de Steers	98
Figura 2 -	Análise do crescimento microbiano em placas contendo ágar infuso de cérebro coração suplementado com extrato de levedura, acrescido de antimicrobiano	100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Susceptibilidade de 20 isolados do gênero <i>Streptococcus</i> a 12 antimicrobianos ou associações	104
Tabela 2 -	Susceptibilidade de 8 isolados do gênero <i>Peptostreptococcus</i> a 12 antimicrobianos ou associações	105
Tabela 3 -	Susceptibilidade de 11 isolados do gênero <i>Prevotella</i> (n = 22) a 12 antimicrobianos ou associações	106
Tabela 4 -	Susceptibilidade de 38 isolados do gênero <i>Staphylococcus</i> a 12 antimicrobianos ou associações	108
Tabela 5 -	Susceptibilidade de 20 isolados de <i>Fusobacterium nucleatum</i> a 12 antimicrobianos ou associações	109
Tabela 6 -	Susceptibilidade a antimicrobianos de 17 isolados do gênero <i>Actinomyces</i> , 1 isolado de <i>Bacteroides fragilis</i> , 9 de <i>Eubacterium spp.</i> , 2 isolados de <i>Enterococcus faecalis</i> , 2 isolados de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , 7 bastonetes aeróbios Gram positivos a 12 antimicrobianos ou associações	110
Tabela 7 -	Produção de β -lactamases por microrganismos isolados de dentes com polpa necrótica, resistentes aos β -lactâmicos	111
Tabela 8 -	Identificação dos microrganismos utilizados nos testes de susceptibilidade	112

“Talvez não tenhamos conseguido fazer
o melhor.
Mas, lutamos para que o melhor fosse
feito.
Não somos o que deveríamos ser.
Não somos o que iremos ser.
Mas, graças a Deus, não somos o que
éramos.”

Martin Luther King

DEDICATÓRIA

Dedicatória

Aos

meus Pais **Acyr** e
Maria **Sirlei**,
precursores de tudo,
agradeço pela
oportunidade da vida;
pelo amor, carinho,
pela educação,
formação, exemplo e
orientação de vida.

Aos

meus irmãos **Maurício**
e **Vinícius**, pelo
carinho e amizade.

Dedicatória

Ao

meu marido **Gustavo**,
pelo companheirismo,
carinho, paciência e
presença que foram
fundamentais para que
eu alcançasse o meu
objetivo.

Dedicatória

Ao

meu filho **João
Gustavo**, por me
mostrar a felicidade
no simples ato de
viver.

Ao

meu pai e mestre **Acyr**,
em especial, pelo
incentivo sempre

Dedicatória

marcante. Jamais
poderei, com palavras
traduzir, o imenso
orgulho que sinto.
Obrigada pela presença
em todos os momentos de
minha vida acadêmica.

Dedicatória

Ao

meu Orientador Prof. Dr.
**Elerson Gaetti Jardim
Júnior**, pelo relevado
estímulo e ensinamentos
que muito contribuíram
para enriquecer meus
conhecimentos.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Unesp, na pessoa do Senhor Diretor, Prof. Dr. **Francisco Antônio Bertoz**.

Ao Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Unesp, Prof. Dr. **Paulo Sérgio Perri de Carvalho**.

Ao **Corpo Docente** do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Unesp, pelos ensinamentos, orientação e pela dedicação.

Ao Prof. Dr. **Alvimar Lima de Castro**, pela presença constante, sempre me orientando e aconselhando com sua sabedoria.

Aos **Colegas de Mestrado**, em cujo

Agradecimentos

convívio aprendemos a dividir em alguns momentos e somar em outros.

Aos **Funcionários** do Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica da Faculdade de Odontologia do Câmpus de Araçatuba – Unesp, pela simpatia e atenção sempre presentes.

À Profa. Dra. **Ana Maria Pires Soubhia**, cuja dedicação é para nós verdadeira inspiração para o futuro.

Aos **Funcionários** da Seção de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia do Câmpus de Araçatuba – Unesp, pelo imprescindível apoio.

À Funcionária **Marli Barbosa dos Santos**, da Clínica de Estomatologia do Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica da Faculdade de Odontologia do Câmpus de Araçatuba – Unesp, pelo auxílio sempre próximo

Agradecimentos

e dispensado a cada momento.

Às demais **Pessoas** que, direta ou indiretamente, contribuíram para que este trabalho fosse concretizado.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

As doenças infecciosas representam uma das principais causas de perda precoce dos dentes, podendo levar a seqüelas graves, particularmente quando se disseminam do aparelho estomatognático em direção a órgãos e sistemas distantes. Os microrganismos normalmente envolvidos nessas patologias pertencem a microbiana autóctone da cavidade bucal e, quase invariavelmente, são de baixa virulência, destacando-se os microrganismos anaeróbios obrigatórios, os quais constituem o grupo numericamente mais significativo da microbiana bucal humana (Finegold, 1977).⁴⁵

Esses microrganismos bucais ainda têm sido envolvidos em infecções pélvicas, osteomielites, endocardite bacteriana, abscessos cerebrais e pulmonares e nas doenças periodontais e periapicais.^{13,19,45,58,107,141,146}

A despeito da importância desses microrganismos, são escassos os estudos sobre o isolamento de anaeróbios da microbiana autóctone humana em infecções de cabeça e pescoço no Brasil (Gaetti-Jardim Júnior, 1994).⁵⁰ Reveste-se, portanto, de relevância toda informação como contribuição para

o melhor conhecimento ecológico, epidemiológico e da patogênese desses processos.

Além desse aspecto, o uso inadequado de antimicrobianos, no tratamento desses processos infecciosos, pode resultar no desequilíbrio da microbiana indígena bucal e ocorrência de infecções oportunistas, além de induzir a seleção de microrganismos resistentes e mascarar a participação de outros microrganismos (Pallasch, 1993).¹²⁰

Considerando-se que esses processos patológicos são infecções anaeróbias mistas, de caráter sinérgico e que os microrganismos envolvidos podem apresentar diferentes espectros de susceptibilidade aos antimicrobianos, a escolha da terapêutica deverá se basear, principalmente, nas informações disponíveis na literatura, visto que o cultivo de microrganismos anoxibiontes não constitui rotina na grande maioria dos laboratórios clínicos (Lorian, 1996)⁹⁸ torna impraticável a realização de antibiograma para todos os microrganismos isolados dessas infecções polimicrobianas.

Estudos sobre a susceptibilidade a antimicrobianos e anti-sépticos de bactérias anaeróbias obrigatórias provenientes de infecções da região de cabeça e pescoço apresentam-se cada vez mais relevantes devido à importância desses microrganismos na sua patogênese (Flemmig et al., 1998; Kleinfelder et al., 2000; Vigil et al., 1997)^{47,89,181} e a projeção do fenômeno de resistência à drogas (Kuriyama et al., 2000).⁹⁰ Contudo, de acordo com Vigil et al. (1997),¹⁸¹ poucos

estudos sobre a susceptibilidade de microrganismos isolados de infecções endodônticas e periapicais a antimicrobianos estão disponíveis, o que não permite a elaboração de um perfil de susceptibilidade para os diferentes grupos microbianos.

Como agravante, deve ser considerado que a experiência, no Brasil, em relação ao isolamento, caracterização e determinação dos padrões de susceptibilidade a drogas antimicrobianas de bactérias anaeróbias é extremamente escassa (Avila-Campos et al., 1988; Carvalho, 1975).^{10,27} Esse fato adquire novos contornos quando se verifica que o clínico não possui referências sobre o padrão de susceptibilidade a drogas desses anoxibiontes e se vê obrigado a recorrer à literatura internacional, de países onde o fenômeno da automedicação não é freqüente, ao contrário do que observamos em nosso país, o que faz com que os padrões de resistência microbiana não sejam compatíveis com os nossos, o que afeta a eficácia do tratamento instituído.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

A grande maioria das infecções que acometem a cavidade bucal e levam o cirurgião dentista a prescrever drogas antimicrobianas no tratamento dos tecidos ósseos, os quais, como advoga Gaetti-Jardim Júnior et al. (2003),⁵⁶ desempenham papel fundamental no metabolismo de minerais e, como arcabouço do tecido hematopoético, além de sua ímpar participação no movimento e na determinação da conformação espacial do corpo e proteção de estruturas nobres, como o próprio sistema nervoso central, apresentam grande atividade de remodelação, a qual responde aos estímulos ambientais e endócrinos.

Como parte desse grupo de patologias devem se levar em consideração, mais detidamente, as osteomielites, actinomicoses ósseas, infecções alveolares, infecções periapicais e periodontopatias marginais. Dessa forma, mister se faz inicialmente uma breve consideração sobre as referidas patologias e, ato contínuo, uma avaliação do perfil de susceptibilidade a drogas antimicrobianas utilizadas no tratamento das mesmas.

2.1. Infecções ósseas mais relevantes em Odontologia

2.1.1. Osteomielites

O termo refere-se a um processo inflamatório que acomete a medula óssea e o próprio tecido ósseo, geralmente associado com a participação de microrganismos em sua patogênese. A infecção pode ser aguda ou crônica, além de gradações intermediárias, e, dependendo de sua natureza, pode apresentar curso clínico diferente (Araújo & Araújo, 1984; ⁸ Shafer, et al., 1987).¹⁵¹

Embora numerosos acessos possam permitir a penetração de microrganismos no tecido ósseo, duas vias espaciais distintas se destacam: a via hematogênica e a extensão direta de processos infecciosos contíguos. A disseminação de microrganismos por via hematogênica é particularmente relevante nas infecções dos ossos longos, sendo que a implantação direta e a disseminação a partir de tecidos infectados contíguos, se mostra muito relevante na região da cabeça e pescoço, em função da elevada ocorrência de infecções endodônticas ou que acometem o periodonto marginal e apical.

A grande maioria dos microrganismos envolvidos no desenvolvimento das osteomielites, é constituído por bactérias, embora qualquer grupo microbiano possa participar. Nas infecções derivadas de condições bacterêmicas, os isolados do gênero *Staphylococcus* assumem um papel singular, sendo que esses cocos Gram positivos apresentam

notável resistência aos antimicrobianos (Gaetti-Jardim Júnior et al., 2003).⁵⁶

Dentre as osteomielites associadas às infecções odontogênicas, destacam-se as osteomielites aguda supurativa e crônica supurativa.

A forma aguda representa, quando do envolvimento dos maxilares, a disseminação de infecções odontogênicas para o interior dos espaços medulares, acometendo com maior frequência a mandíbula (Shafer et al., 1987).¹⁵¹ Além dessa origem, as osteomielites dos maxilares também podem originar-se de infecções que se originaram a partir de fraturas, sendo que nesses casos existe a agravante de que a contaminação microbiana não se limita a microrganismos autóctones da cavidade bucal, uma vez que as estruturas teciduais lesadas podem ter contato com inúmeras superfícies, além de contaminação ambiental.

Com as tradicionais alterações líticas, difusas no tecido ósseo, as características radiográficas podem demorar a se manifestar, quando então pode-se notar essas áreas, bem como, sequestros ósseos que podem ser vistos também clinicamente. Por vezes a progressão da doença leva à necrose do trabeculado ósseo, o qual pode ser lentamente reabsorvido (Shafer et al., 1987).¹⁵¹

A osteomielite supurativa crônica normalmente representa a cronificação de um processo infeccioso agudo ou de uma infecção destituída de um quadro agudo prévio

(Carvalho & Castro, 1975),²⁶ sendo que a sintomatologia, embora semelhante à osteomielite aguda, evidencia menor hipertermia e sensibilidade dolorosa. E pode ocorrer formação de um trajeto fistuloso até a superfície do tecido, sendo esta uma ocorrência comum. Essa condição, eventualmente, pode sofrer agudização periódica, o que pode explicar as oscilações na resposta do paciente frente a agressão microbiana, bem como a interferência de fatores externos (Araújo & Araújo, 1984;⁸ Shafer et al., 1987).¹⁵¹

As osteomielites esclerosantes representam a reação do tecido ósseo frente a infecções causadas por microrganismos de baixa virulência, como a grande maioria dos microrganismos bucais (Gaetti-Jardim Júnior, 1997;⁵³ Gaetti-Jardim Júnior, 2001)⁵⁴ ocorrendo principalmente em indivíduos adultos jovens, com maior capacidade de responder a estímulos microbianos. Do ponto de vista radiográfico, a lesão geralmente se apresenta como áreas de osso esclerótico próximas ao elemento dental infectado, de onde se originou o processo, podendo ser do tipo focal ou difuso (Carvalho & Castro, 1975).²⁶

Quando associadas a infecções endodônticas, periapicais ou periodontais marginais, as osteomielites evidenciam uma microbiota com absoluto domínio dos microrganismos anaeróbios obrigatórios moderados, embora outros microrganismos sejam observados com frequência, como certas espécies de estafilococos coagulase-negativos e

estreptococos normalmente isolados da microbiota bucal ou cutânea (Shafer et al., 1987).¹⁵¹ Dessa forma, o isolamento microbiano deverá ser realizado em condições de aerobiose e, principalmente, anaerobiose, procurando obter as condições de óxido-redução adequadas para cada grupo microbiano (Holdeman et al., 1977;⁷⁹ Summanen et al., 1993).¹⁶⁴

Em função da natureza mista da microbiota envolvida nessas infecções e o predomínio de bactérias anaeróbias nas osteomielites de mandíbula e maxila, as drogas utilizadas no tratamento devem evidenciar distribuição satisfatória no tecido ósseo, além de amplo espectro de ação, com eficácia reconhecida frente a microrganismos anoxibiontes, como as lincosaminas e, em particular, a clindamicina (Gaetti-Jardim Júnior et al., 2002).⁵⁵

Além desses quadros clássicos de osteomielite, ainda pode se deparar com a osteomielite esclerosante difusa (OED) e com a síndrome acne, pustulose, hiperostose, osteíte (SAPHO), as quais podem ser intimamente relacionadas (Soubrier et al., 2001),¹⁶⁰ embora na OED não se observe envolvimento dermatológico, sendo que essas condições são extremamente raras e de tratamento longo e controverso.

A OED atinge principalmente a mandíbula e pode, progressivamente, envolver o osso temporal e a articulação temporomandibular (Van Merkesteyn et al., 1988),¹⁷⁷ produzindo dor, aumento volumétrico e, mais raramente, trismo e parestesia (Van Merkesteyn et al., 1988).¹⁷⁷ Verifica-se

substituição da medula óssea por tecido fibroso e trabeculado ósseo irregular, sendo que, do ponto de vista radiográfico, pode-se observar áreas radiopacas múltiplas isoladas, além de vários níveis de esclerose óssea, osteólise e formação de osso periosteal (Gaetti-Jardim Júnior et al., 2003).⁵⁶

Embora a etiologia da OED não esteja esclarecida, existem evidências da participação de microrganismos de baixo potencial de virulência, como espécies do gênero *Actinomyces*, *Propionibacterium propionicus*, *P. acnes*, *Eikenella corrodens* e outros anaeróbios obrigatórios bucais, os quais podem formar microcolônias capazes de evadir os mecanismos imunológicos do hospedeiro (Jacobsson et al., 1982;⁸² Marx et al., 1994).¹⁰²

O tratamento da OED com antibioticoterapia de curta duração não traz benefícios, até pela localização do processo infeccioso em profundidade e pela formação de estruturas de biofilme microbiano que limitam a penetração das drogas (Gaetti-Jardim Júnior et al., 2003),⁵⁶ enquanto o uso prolongado dessas drogas reduz a sintomatologia mas não representa a cura para a maioria dos pacientes como descrito por Soubrier et al. (2001).¹⁶⁰ Esses autores relataram que o emprego de azitromicina e tetraciclina, as quais são eficazes no tratamento das manifestações cutâneas e ósseas da SAPHO, não se mostrou satisfatório, sendo que o pamidronato, utilizado na terapia da doença de Paget é capaz de reduzir a reabsorção óssea, levou à remissão da sintomatologia dolorosa após 72 horas.

2.1.2. Actinomicose

Essa patologia constitui uma infecção bacteriana associada, principalmente, a bastonetes Gram positivos microaerófilos como *Actinomyces israelii* e, em menor proporção, *Propionibacterium propionicus*, *A. naeslundii*, *A. meyeri*, *A. viscosus* e *A. odontolyticus* (Happonen, 1986;⁷⁴ Sakellariou, 1996),¹⁴³ embora outros gêneros microbianos, como *Rothia* e *Nocardia*, tenham sido esporadicamente envolvidos. Esses microrganismos são constituintes da microbiota supra e subgengival humana e se comportam como anfibiontes ou oportunistas (Holt et al., 1994;⁸⁰ Moore & Moore, 1994).¹⁰⁷

Aproximadamente 60% dos casos acometem a região cervicofacial, principalmente mandíbula, raramente envolvendo os tecidos periapicais (Barnard et al., 1996;¹² Sakellariou, 1996),¹⁴³ onde pode adquirir as características de um granuloma actinomicótico periapical (Perna et al., 1981).¹²⁷ A maior prevalência dessa patologia se dá entre adultos do sexo masculino, mas a maior predisposição natural dos homens é questionável, uma vez que esse grupo também se mostra mais propenso à ocorrência de traumas envolvendo a região de cabeça e pescoço (Miller & Haddad, 1998).¹⁰⁵

Duas condições predisponentes normalmente estão associadas à ocorrência dessa patologia nos maxilares: a presença de uma via de penetração para os microrganismos envolvidos e condições favoráveis à proliferação dos mesmos

(Nagler et al., 1997).¹⁰⁹ Esses requerimentos podem ser satisfeitos pela presença de infecções endodônticas ou periodontais marginais, bem como pela ocorrência de trauma ou cirurgia, que criariam condições de óxido-redução adequadas à proliferação microbiana.

Essa patologia apresenta características tanto de infecções granulomatosas quanto das infecções piogênicas. Clinicamente, a actinomicose cervicofacial apresenta-se de duas formas distintas: como uma lesão de progressão lenta, dor moderada, podendo tornar-se endurecida como consequência da fibrose, que pode limitar o aporte sangüíneo, com seus mecanismos de defesa e oxigênio molecular, e, por conseguinte, a penetração dos antimicrobianos utilizados no seu tratamento, levando à formação de múltiplos abscessos e fístulas (Nagler et al., 1997)¹⁰⁹ ou um quadro mais agudo e de rápida progressão, levando o paciente a desenvolver febre, edema, dor intensa, se assemelhando a infecções piogênicas típicas (Nielsen & Novak, 1987).¹¹²

As infecções actinomicóticas nos maxilares podem ser centrais, comprometendo o próprio tecido ósseo, ou atingir apenas os tecidos moles adjacentes, neste caso, apresenta-se clinicamente como um nódulo fixo endurecido e arroxeadado, podendo apresentar pontos amarelados na superfície que é lisa. Na primeira condição, a destruição óssea pode se dar por longos períodos de tempo sem que a sintomatologia seja evidenciada, como a presença de dor e radiolucidez, o que se

dá em função da pequena virulência das espécies microbianas envolvidas (Sakellariou, 1996).¹⁴³

Quando o tecido ósseo periapical mostra-se envolvido pelo processo infeccioso, a provável fonte de disseminação do microrganismo é o conteúdo séptico dos sistemas de canais radiculares de dentes com polpa necrótica, o qual pode ser exteriorizado como consequência do próprio preparo biomecânico, sendo que o tratamento endodôntico tradicional falha em eliminar a actinomicose periapical quando essa já está estabelecida (Barnard et al., 1996).¹²

Do ponto de vista microscópico, os grânulos de enxofre freqüentemente observados representam microcolônias dos actinomicetos em arranjos somente observados “in vivo”. As massas granulomatosas actinomicóticas representam a resposta tecidual á agressão microbiana e comumente evidenciam uma área central necrótica com conteúdo purulento, onde se observam os grânulos de enxofre, constituídos por filamentos microbianos, evidenciáveis pela coloração da metanamina prata, circundados por neutrófilos e, mais à distância, por linfócitos e plasmócitos. A periferia da lesão é muito pouco vascularizada e apresenta notável conteúdo fibrótico (Miller & Haddad, 1998).¹⁰⁵

De acordo com Nagler et al. (1997)¹⁰⁹ e Miller & Haddad (1998),¹⁰⁵ o tratamento dessa condição clínica deve ser realizado através da drenagem cirúrgica e remoção dos focos de infecção, acompanhado do uso intensivo de

antimicrobianos por semanas. Esse longo período de tempo decorre das limitações de aporte e difusão dos antibióticos para os sítios acometidos e, como relatado por Barnard et al., (1996),¹² pela elevada tolerância que os actinomicetos possuem aos antimicrobianos.

2.1.3. Infecções Endodônticas e Periapicais

As infecções periapicais representam, quase universalmente, a extensão das infecções endodônticas, sendo impossível abordá-las separadamente. Independentemente da natureza das lesões, granulomas, cistos ou abscessos, o componente microbiano está presente na patogênese das mesmas.

De acordo com Sundqvist (1994)¹⁶⁵ todos os microrganismos que colonizam a cavidade bucal podem, mesmo que teoricamente, invadir a câmara pulpar, o sistema de canais radiculares, durante ou após o processo de necrose pulpar, e, finalmente, ganhar o acesso aos tecidos periapicais. Contudo, a microbiota associada a dentes com necrose pulpar apresenta um número restrito de espécies quando comparada com a microbiota subgengival ou supragengival, o que evidencia as pressões seletivas que operam no interior do sistema de canais e lesões periapicais.

Durante muitos anos, intenso debate sobre a possibilidade de populações microbianas colonizarem o interior de lesões periapicais e a superfície externa da raiz dental foi

travado. Atualmente existe uma certa concordância de que microrganismos de baixa virulência podem vir a sobreviver no interior de lesões granulomatosas periapicais e mesmo formar estruturas elaboradas de biofilme na superfície externa da raiz, o que limitaria a efetividade dos procedimentos biomecânicos e curativos de demora empregados em endodontia (Gaetti-Jardim Júnior, 2001).⁵⁴

A microbiota associada a essas condições evidencia um predomínio de microrganismos anaeróbios (Gatti et al., 2000)⁵⁸ e geralmente se mostra composta de 4 a 6 espécies diferentes (Gaetti-Jardim Júnior, 2001)⁵⁴ e um relativo equilíbrio entre bactérias Gram positivas e Gram negativas, sendo que essas últimas tendem a aumentar durante o curso das infecções endodônticas e periapicais (Tani-Ishii et al., 1994).¹⁷¹ Contudo, não está elucidada a relação desses microrganismos com o desenvolvimento desses processos infecciosos e com sintomatologia apresentada pelos pacientes, embora pareça existir relação entre a ocorrência de alguns gêneros anaeróbios, como *Prevotella* e *Porphyromonas*, com o desenvolvimento de sintomatologia aguda.

Esse aumento progressivo na participação de microrganismos Gram negativos na microbiota de dentes com infecção endodôntica e periapical pode limitar o uso de drogas β -lactâmicas, desde que muitas das espécies desse grupo apresentam mecanismos que limitam a penetração do

antibiótico e produzem, com frequência crescente, enzimas capazes de inativar essas drogas.

Os gêneros *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella*, *Eubacterium* e *Veillonella*, são os microrganismos mais prevalentes nas periapicopatias e infecções endodônticas.

Embora a microbiota associada a esses processos seja composta predominantemente por microrganismos oriundos do biofilme bucal, outras espécies podem ser isoladas com alguma frequência. O gênero *Staphylococcus* tem sido isolado de, aproximadamente, 10% dos dentes com necrose pulpar e lesão periapical (Gaetti-Jardim, 2001; ⁵⁴ Oliveira et al., 1994),¹¹⁶ sendo que esses cocos conferem uma certa refratariedade a essas lesões periapicais (Johnson et al., 1999).⁸⁸ As enterobactérias também têm sido isoladas em associação a esses cocos em abscessos periapicais (Schuman & Turner, 1999).¹⁴⁶

Além desses microrganismos, merece destaque *Enterococcus faecalis*, que é a espécie bacteriana mais frequentemente associada ao desenvolvimento das lesões periapicais refratárias (Peciulienė et al., 2000),¹²⁶ merecendo destaque em função de sua resistência às condições ambientais desfavoráveis e ao uso de antimicrobianos (Dahlén et al., 2000).³⁵ Esses cocos são isolados principalmente de lesões periapicais crônicas (Oliveira et al., 1994)¹¹⁶ e infecções

persistentes no interior dos condutos radiculares (Sundqvist et al., 1998).¹⁶⁶

Necessita ser avaliada, a ocorrência de fungos leveduriformes no interior do sistema de canais radiculares de dentes com polpa necrótica e em lesões periapicais. A maioria dos estudos através de cultura ou microscopia, não relata a presença de leveduras como parte da microbiota associada às infecções endodônticas. Por outro lado Najzar-Fleger et al. (1992)¹¹⁰ e Sen et al. (1995)¹⁴⁸ relataram a presença desses fungos em 52% e 40% dos espécimes analisados, respectivamente.

O caráter misto das infecções de dentes com polpa necrótica sugere que o sinergismo bacteriano é da maior importância na patogênese dessas patologias. Esses aspectos têm sido amplamente discutidos em infecções por anaeróbios e obrigatórios. Estudos em modelos animais mostram que esse grupo de microrganismos apresenta virulência modesta quando inoculado em cultura pura (Nagashima et al., 1999).¹⁰⁸ Entretanto, em culturas mistas nas quais são inoculados conjuntamente com anaeróbios facultativos ou anaeróbios Gram negativos é potencializada.

O tratamento das infecções periapicais baseia-se na drástica redução do conteúdo séptico em contato com o tecido ósseo, o que se daria através do tratamento endodôntico ou cirúrgico. Nos casos em que a microbiota desenvolveu espessos biofilmes na região periapical, os quais se mostram

pouco permeáveis aos antibióticos e onde os microrganismos se mostram até mil vezes mais resistentes a essas drogas do que no ambiente externo, deve-se manter condições desfavoráveis à contínua multiplicação microbiana, particularmente através da troca periódica de curativos de demora capazes de permanecer ativos no interior dos sistemas de canais, como o hidróxido de cálcio, ou realizar a remoção cirúrgica das estruturas mais contaminadas, como a própria lesão e o ápice radicular. Cabe ressaltar que a antibioticoterapia de curta duração tem efeitos transitórios em função da penetração da droga no interior do biofilme.

2.1.4. Alveolite

A alveolite dental foi descrita pela primeira vez no século XIX, verificando-se que dois ou três dias após a exodontia, ocorria desintegração do coágulo sangüíneo normal, deixando o alvéolo vazio, com as paredes completa ou parcialmente desnudas e sensíveis, recoberto por uma camada amarelo-acizentada constituída por detritos e tecido necrótico.

O diagnóstico desse fenômeno é clínico, baseado em sinais e sintomas que começam geralmente de 2 a 4 dias pós-operatórios. A dor é intensa e pulsátil, irradiada dos alvéolos mandibulares para a região do ouvido e temporal, ou dos alvéolos maxilares para os olhos e região frontal, sialorréia, halitose, linfadenopatia, febre, debilidade física, mal estar geral, perda de sono e apetite são freqüentemente observados.

Dois tipos de alveolite podem ser observados: 1) alveolite seca, apresentando quadro infeccioso agudo com desorganização do coágulo sangüíneo, paredes ósseas desnudas com cor branca-marfim e odor fétido e, 2) alveolite úmida, cuja desorganização do coágulo sangüíneo, associada a restos alimentares, proporciona substrato para a instalação de microrganismos anfíbios, o que lhe confere odor fétido bastante intenso.

A incidência da alveolite varia significativamente entre os estudos dependendo dos fatores usados para identificar esta condição, e métodos usados para prevenção, mas tem sido descrita como sendo tão alta quanto 68% e tão baixa quanto 0,5%. A incidência de alveolite é alta quando está limitada a terceiros molares inferiores, principalmente.

A etiologia da alveolite ainda não está totalmente esclarecida. Uma das teorias mais aceitas é a infecção do alvéolo iniciada por bactérias presentes na microbiota bucal. Esse argumento é suportado convincentemente pela frequência da ocorrência de alveolite em associação com infecções pré-existentes, principalmente doença periodontal e pericoronarite e por uma diminuição na incidência dessa desordem após tratamento local ou sistêmico com antibióticos.

Birn (1972)¹⁸ relatou como possível fator na etiologia da alveolite, a fibrinólise ou outra atividade proteolítica capaz de destruir o coágulo sangüíneo. Ele percebeu que a lise e a destruição do coágulo sangüíneo eram causadas por enzimas produzidas por bactérias que invadiam a ferida da

extração, ou quinases teciduais liberadas durante a inflamação por ativação direta ou indireta do plasminogênio no sangue.

Dentre os fatores predisponentes para ocorrência de alveolite estão idade, gênero, extensão da infecção preexistente, higiene bucal deficiente, suprimento sangüíneo insuficiente no local cirúrgico, enzimas proteolíticas, trauma mecânico e dificuldade de extração, experiência do operador, uso de contraceptivos orais, ação de anestésicos locais, fumo, radioterapia, presença de herpes simples, os quais provavelmente facilitam a implantação da microbiota associada a essa condição ou modificam a resposta do hospedeiro frente à agressão microbiana.

Acredita-se que na alveolite exista uma população mista de bactérias típicas da microbiota autóctone da cavidade bucal. Organismos anaeróbios obrigatórios são predominantes na pericoronarite, uma condição conhecida por predispor uma alta incidência de alveolite, e quase invariavelmente predominam nas alveolites, particularmente os microrganismos anaeróbios Gram negativos, o que faz com que essa condição clínica seja sensível ao emprego de antimicrobianos como os nitroimidazóis e a lincosaminas.

O principal meio para se prevenir a alveolite é a manutenção do coágulo, o qual forma uma rede que permite uma invasão progressiva de três populações diferentes de células: fibroblastos, células endoteliais e macrófagos. A clorexidina tem sido a terapia mais extensivamente utilizada na

prevenção da alveolite pelo seu amplo espectro de ação, tolerância tecidual e efetividade frente à grande maioria dos anaeróbios bucais. No estudo de Hermesh et al. (1998),⁷⁶ usou-se a solução de digluconato de clorexidina a 0,12% por 7 dias pré-operatórios, reduzindo o desenvolvimento de alveolite após a extração, com incidência de 29,6% para 18,4%.

Vários medicamentos têm sido empregados para a estabilização do coágulo. As vantagens de substâncias aplicadas topicamente incluem o alcance local em concentrações ótimas, diferentes das encontradas em aplicações sistêmicas, além de minimizar efeitos colaterais. Nessa categoria de agentes tópicos podem ser incluídos antimicrobianos, anti-fibrinolíticos e antiinflamatórios.

Há um consenso de que para o tratamento da alveolite, a limpeza cirúrgica do alvéolo deverá anteceder à introdução de curativos medicamentosos tópicos. Para o tratamento recomenda-se a remoção de restos necróticos, e irrigação com soro fisiológico. O posterior preenchimento da cavidade alveolar com medicamentos pastosos, tais como Alveosan ou Alveolisten, pode ser realizado.

Drogas como o metronidazol e a tetraciclina vêm sendo utilizadas na prevenção e tratamento da alveolite, porém o emprego de drogas como a rifampicina (rifocina M) deve ser evitado, visto que essas drogas são úteis no tratamento de infecções de importância médica e seu emprego abusivo pode

facilitar a seleção de microrganismos resistentes, como ocorre com as micobactérias.

2.2. Antimicrobianos no tratamento das infecções maxilofaciais

A despeito da necessidade de se direcionar a terapia antimicrobiana para a microbiota específica envolvida nas diferentes entidades das doenças maxilofaciais, analisando-se cada paciente individualmente, esse procedimento não leva em consideração o tempo necessário e os custos de exames laboratoriais para se chegar às informações desejadas (Rahal et al., 2002).¹²⁹

Além desse aspecto, os microrganismos envolvidos nesses processos fazem parte da estrutura do biofilme microbiano bucal, acrescidos de espécies oriundas da pele e mesmo do ambiente externo e, nessas condições, microrganismos podem se apresentar mais de 1000 vezes mais resistentes a antimicrobianos do que aqueles que se multiplicam planctonicamente (Gilbert et al., 1997;⁶² Socransky & Haffajee, 2002).¹⁵⁹

Os biofilmes são constituídos por microrganismos (15 a 20% do volume) e uma espessa matriz (glicocalix) que ocupa 20% do volume dos mesmos. No interior dos biofilmes podem existir canais que se assemelham a protótipos de sistemas circulatórios que banham, com água e nutrientes, as microcolônias microbianas constituintes desses biofilmes, sendo que, geralmente, cada microcolônia é constituída por

várias espécies (Gaetti-Jardim Júnior et al., 2002).⁵⁵ A matriz do biofilme é constituída de proteínas, exopolissacarídeos, sais e material celular, sendo que esses sacarídeos representam de 50 a 95% do material seco, (onde a composição desses últimos depende da composição microbiana do biofilme, bem como do estado fisiológico desses microrganismos).

De acordo com Socransky & Haffajee (2002),¹⁵⁹ os biofilmes apresentam notável heterogeneidade fisiológica, mesmo entre microrganismos situados a penas 10 µm uns dos outros. No interior dessas estruturas, impera um ambiente de profunda anaerobiose, mesmo quando formadas apenas por bactérias anaeróbias facultativas expostas ao ar atmosférico (de Beer et al., 1994),³⁸ e elevada tensão de CO₂ e metano.

Além desse aspecto, a elevada densidade celular encontrada nessas estruturas cria condições favoráveis à troca de material genético entre as células bacterianas, tendo sido demonstrada a ocorrência de transferência de plasmídeos (Angles et al., 1993),⁴ de transposons (Roberts et al., 1999),¹³⁸ também denominados de elementos genéticos móveis, e conjugação (Hausner & Wuertz, 1999)⁷⁵ em biofilmes constituídos de várias espécies microbianas, o que poderia facilitar a disseminação de genes de resistência a antimicrobianos.

As principais drogas antimicrobianas utilizadas em odontologia para o tratamento das infecções de cabeça e

pescoço pertencem às categorias abaixo relacionadas (Gaetti-Jardim Júnior et al., 2002).⁵⁵

1. Tetraciclinas e derivados

As tetraciclinas são antimicrobianos com amplo espectro de ação, atuando sobre algumas bactérias Gram positivas, muitas Gram negativas, anaeróbios obrigatórios, rickettsias, micoplasmas, clamídias e até protozoários, mas em função da seleção de microrganismos resistentes, seu emprego em medicina está declinando (Greenstein, 1995).⁷¹

A atividade antimicrobiana das tetraciclinas deriva do bloqueio da ligação do amino-acil-tRNA ao seu receptor, na subunidade 30S do ribossomo bacteriano, prevenindo a adição de novos aminoácidos à cadeia polipeptídica em formação. Nas células bacterianas, essas drogas se acumulam no citoplasma através de transporte ativo e difusão, o que não ocorre com as células de mamíferos, tornando a ação dessas drogas mais restrita às bactérias.

A doxiciclina e minociclina são derivadas da oxitetraciclina e apresentam níveis mais satisfatórios de absorção via oral e maior vida média plasmática. Ao contrário da tetraciclina, a absorção de seus derivados não é afetada pela ingestão de alimento (Seymour & Hearman, 1995).¹⁵⁰ Todas essas drogas, em função de sua solubilidade em lipídios, atravessa com facilidade a parede e/ou membrana citoplasmática bacterianas, o que colabora com sua atividade

sobre bactérias Gram-negativas, que possuem uma membrana externa lipoprotéica (Greenstein, 1995).⁷¹

Além de sua atividade inibitória sobre a síntese protéica bacteriana, as tetraciclina e seus derivados são capazes de inibir collagenases neutrofílicas e bacterianas (Golub et al., 1993),⁶⁷ sendo que o mecanismo de ação não se mostra dependente de sua atividade antimicrobiana. As tetraciclina e seus derivados também são capazes de inibir a atividade osteoclástica por um mecanismo independente da inibição das collagenases.

Cabe salientar que essa atividade anticolagenolítica é muito maior para a doxiciclina e, em menor extensão, para a minociclina do que para a droga parental, tetraciclina (a doxiciclina é 10x mais eficaz que a minociclina e 20x mais eficaz que a tetraciclina em inibir as collagenases presentes nos tecidos infectados). Isto provavelmente se dá em função da maior afinidade desses derivados pelo zinco dessas metaloproteases (Golub et al., 1991).⁶⁶

As tetraciclina apresentam atividade antiinflamatória não apenas devido à sua capacidade de inibir a atividade proteolítica microbiana, mas também por suprimir a atividade dos neutrófilos (Gabler & Creamer, 1991),⁴⁹ além de inibir a atividade da enzima fosfolipase A₂ (Vadas et al., 1991),¹⁷⁵ a qual atua sobre fosfolipídeos de membrana e leva à liberação de ácido aracdônico, que sofrendo a ação das lipoxigenases e cicloxigenases e leva à liberação de

mediadores da inflamação, como prostaglandinas (particularmente PGE₂), leucotrienos e tromboxanas.

2. Macrolídeos

Os macrolídeos e, em particular a eritromicina, foram utilizados por muitos anos como drogas de segunda escolha em odontologia, em substituição aos β -lactâmicos. Entretanto, em função da pequena atividade que essas drogas possuem sobre diferentes microrganismos anaeróbios Gram negativos bucais, especialmente membros da espécie *Fusobacterium nucleatum* (Gaetti-Jardim Júnior et al., 1996a),⁵¹ seu emprego declinou.

Entretanto, novos fármacos pertencentes a esse grupo vêm sendo testados nas infecções orofaciais, como a azitromicina. Essa droga vem mostrando uma maior atividade antimicrobiana sobre os anaeróbios Gram negativos e sobre anaeróbios facultativos (de 2x a 4x mais eficaz que a eritromicina), como relatado por Goldstein et al. (1995),⁶⁴ além de se concentrar no interior de fibroblastos, macrófagos e polimorfonucleares neutrófilos, no interior dos tecidos infectados, acelerando a morte intracelular dos patógenos (Ramadan et al., 1995).¹³⁰ De acordo com Lode (1991),⁹⁷ esse fenômeno de acúmulo da azitromicina no interior dos tecidos faz com que a concentração da droga seja de 20 a 100 vezes maior nesses últimos do que no soro, o que é extremamente desejável.

3. Metronidazol

Essa droga atua somente sobre microrganismos anaeróbios obrigatórios possuidores das enzimas nitrato redutase e, principalmente, piruvato ferredoxina óxido-redutase capazes de concentrar a droga no interior do microrganismo e reduzir o grupo nitro da droga, convertendo-a em sua forma ativa (Narikawa, 1986),¹¹¹ o que faz com que a droga venha a se inserir no cromossomo microbiano, bloqueando a duplicação do DNA e produzindo, pela ativação do sistema de endonucleases bacterianas, fragmentação dos cromossomos (Gaetti-Jardim Júnior et al., 2002).⁵⁵

Entre os anaeróbios obrigatórios Gram negativo, a resistência a essa droga é bastante reduzida (Abu-Fanas et al., 1991;¹ Eik et al., 1999;⁴² Gaetti-Jardim Júnior et al., 1996a;⁵¹ Gaetti-Jardim Júnior, 2001)⁵⁴ por vezes, confinada ao gênero *Bacteroides*. Contudo, para os gêneros Gram positivos, a resistência é consideravelmente mais elevada, podendo atingir de 43% a 82% dos isolados como descrito na literatura.^{29,42,54,90}

A eficácia dessa droga sobre os microrganismos anaeróbios produtores de β -lactamases faz com que seja considerada como uma alternativa às penicilinas e outros fármacos desse grupo nas infecções causadas por esses microrganismos, a despeito de sua ineficácia frente aos anaeróbios facultativos.^{36,63}

A despeito de sua segurança para uso em humanos, uma vez que nossas células não convertem o metronidazol em sua forma ativa, não deve-se empregar os nitroimidazóis como primeira escolha em pacientes grávidas, visto que possuem algum potencial teratogênico, carcinogênico e mutagênico (Greenstein, 1993).⁷⁰

4. Clindamicina

Essa lincosamina atua bloqueando a síntese protéica microbiana por se ligar à subunidade 50S do ribossomo bacteriano, em um sítio de ligação próximo daquele utilizado pela eritromicina, de forma que essas duas drogas se antagonizam quando administradas concomitantemente.

A clindamicina apresenta elevada atividade frente a microrganismos anaeróbios (Kuriyama et al., 2000;⁹⁰ Kuriyama et al., 2001),⁹¹ vindo a constituir excelente substituto das penicilinas, particularmente em infecções refratárias (Magundadjaja & Hardjawinata, 1990).¹⁰¹

Em função de sua distribuição satisfatória em tecido ósseo com suprimento sanguíneo comprometido, tem sido escolhida como droga ideal no tratamento da osteomielite mandibular (von Konow et al., 1992).¹⁸³ Contudo, em função de seu elevado espectro de ação, o qual pode levar à supressão de parcela significativa da microbiota intestinal e a superinfecções, como candidoses bucais e colite pseudomembranosa, não deve ser empregada como droga de

primeira escolha em odontologia em infecções bucais menos relevantes.

5. Penicilinas

Essas drogas pertencem ao grupo dos β -lactâmicos e atuam ao se ligarem às proteínas denominadas PLPs (proteínas de ligação das penicilinas), as quais se situam na membrana citoplasmática bacteriana e são responsáveis pela transpeptidação do peptidoglicano. Ao se ligarem a essas proteínas, as penicilinas e demais drogas do grupo acabam por bloquear essa reação, impedindo a continuidade da síntese da parede celular. Assim essas drogas somente atuam em microrganismos que estão se multiplicando, o que limita sua associação com drogas com ação eminentemente bacteriostática.

A despeito de serem consideradas as drogas de primeira escolha em odontologia, em função de sua relativa segurança, seu uso como coadjuvantes do tratamento periodontal é modesto, visto que muitos gêneros microbianos envolvidos nessas patologias se mostram aptos a produzir enzimas capazes de degradar essas drogas (β -lactamases), como evidenciado por Appelbaum et al. (1990;⁵ 1991),⁶ Gaetti-Jardim Júnior et al. (1996b,⁵² 2001)⁵⁴ e Eik et al. (1999).⁴² Nessas doenças, é preferível associar as penicilinas ao ácido clavulânico, que inibe as β -lactamases bacterianas, ou ao metronidazol, desde que a maioria das bactérias bucais

resistentes aos β -lactâmicos é constituída por anaeróbios gram negativos, os quais são muito sensíveis aos nitroimidazóis.

Para as infecções causadas por microrganismos capazes de produzir β -lactamases, também deve se empregar a associação amoxicilina/ácido clavulânico, embora em periodontia os resultados clínicos com essa combinação são muito controversos e parecem inferiores aos obtidos com a associação amoxicilina/metronidazol.

6. Fluoroquinolonas (ciprofloxacina e norfloxacina)

A despeito da eficácia desses inibidores das DNAGirases sobre enterobactérias e pseudomonados (Slots et al., 1990;¹⁵⁷ Van Winkelhoff et al., 1996)¹⁷⁸ sua atividade sobre anaeróbios obrigatórios é modesta, o que limita seu uso no tratamento das infecções anaeróbias mistas de cabeça e pescoço.

2.3. Resistência dos microrganismos aos antimicrobianos

Provavelmente a resistência aos antimicrobianos é tão antiga quanto a existência dessas mesmas drogas, mas foi com o uso generalizado desses fármacos que o fenômeno ganhou notoriedade.

Existe íntima associação entre o uso de um antimicrobiano por uma população e a disseminação da resistência microbiana a essa droga. Esses aspectos se tornam

mais relevantes quando se verifica que 10% das crianças com idade de até 200 dias de vida extra-uterina já receberam antimicrobianos (Guillemot & Courvalin, 2001),⁷² sendo que quanto maior for o contato com os antimicrobianos maior será a proeminência das cepas resistentes na microbiota envolvida nas infecções e mesmo na microbiota residente do paciente.^{28,41}

O estudo da distribuição de genes de resistência a antimicrobianos não deve ser conduzido apenas entre microrganismos isolados de processos infecciosos, mas também entre os numerosos membros, virulentos ou não, da microbiota residente (Guillemot & Courvalin, 2001),⁷² visto que os mesmos podem albergar diferentes classes de genes de resistência, lembrando que a resistência aumenta a morbidade, mortalidade e o custo financeiro do tratamento (Holmberg et al., 1987).⁷⁸

A evolução da resistência a drogas é fruto da interação entre a exposição a antimicrobianos e a transmissão de genes de resistência entre os microrganismos, bem como transmissão direta ou indireta de microrganismos resistentes entre indivíduos (Guillemot & Courvalin, 2001).⁷² Para se compreender a disseminação de bactérias e genes de resistência, deve-se enfocar diferentes elos dessa cadeia:

- os reservatórios humanos, animais, vegetais e o ambiente físico que albergam bactérias e genes de resistência;

- fatores que facilitam a transmissão de bactérias resistentes, como a virulência do microrganismo e condições ambientais (como em hospitais);
- relações ecológicas entre o microrganismo resistente e os demais;
- vantagens ecológicas, em termos de disseminação, conferida pelo determinante de resistência.

Vários mecanismos podem levar ao desenvolvimento de resistência aos antibióticos. Nesse sentido, as mutações ao acaso podem afetar o produto gênico, modificando os sítios de ação das drogas (Lorian, 1996;⁹⁸ Roberts, 1997;¹³⁵ Roberts, 1998),¹³⁶ resultando em aumentos baixos ou moderados dos níveis de resistência aos antimicrobianos (Lorian, 1996)⁹⁸ e podem ser implementados por mutações seqüenciais.

A modificação das proteínas de ligação das penicilinas representa um adequado exemplo de diminuição da afinidade do alvo da droga (Roberts, 2002),¹⁴⁰ sendo que essa modificação pode ser transmitida por transformação e posterior substituição dos genes originais da bactéria transformada pelos adquiridos que codificam maior resistência aos β -lactâmicos (Dowson et al., 1994).⁴⁰

Os genes de resistência podem, por vezes, ser encontrados em plasmídeos, integrons e transposons, os quais podem ou não ser transmitidos para outros microrganismos

através de conjugação. Desde que para que esse fenômeno aconteça não é necessário que os microrganismos apresentem grande relação filogenética, quando comparado com a transformação, acredita-se que esse seja o mecanismo mais comum de disseminação de genes de resistência entre diferentes cepas e espécies (Roberts, 2002).¹⁴⁰

Nos biofilmes microbianos bucais, como aqueles que se formam nas lesões periapicais, osteomielites e outros processos infecciosos, apresentam-se muito mais resistentes a essas drogas do que quando esses microrganismos estão se multiplicando em estado planctônico, sendo que diferentes fatores podem estar implicados no fenômeno, como a velocidade de crescimento da população microbiana no biofilme (Ashby et al., 1994;⁹ Costerton et al. 1999;³² Xu et al., 2000),¹⁸⁴ impermeabilidade da matriz do biofilme (Socransky & Haffajee, 2002),¹⁵⁹ acúmulo, na matriz do biofilme, de enzimas como as β -lactamases, formaldeído liase e formaldeído desidrogenase, que inativam drogas, presença de microrganismos multi e superesistentes no biofilme. Esses microrganismos exibiriam essas características apenas no interior do biofilme, onde representariam 0,001% da microbiota presente (Brooun et al., 2000),²⁴ apresentando comportamento convencional em estado planctônico.

Grande atenção está sendo dada aos efeitos que uma comunidade mista de microrganismos produzem sobre a estrutura de drogas antimicrobianas. Nessa linha, Lacroix &

Mayrand (1989)⁹² demonstraram que uma cultura mista de microrganismos, mesmo em estado planctônico, poderia modificar a estrutura do metronidazol, com a liberação de acetamidas, impedindo que a droga viesse a exercer plenamente sua atividade sobre *Porphyromonas endodontalis*, um microrganismo bastante sensível a esse quimioterápico com atividade antimicrobiana. Esse efeito deve ser centenas de vezes mais dinâmico e intenso no interior das estruturas altamente organizadas dos biofilmes bucais.

Provavelmente os genes expressos por microrganismos planctônicos não correspondam aos expressos por essas mesmas espécies no biofilme, como evidenciado por Becker et al.(2001)¹⁴ para *Staphylococcus aureus*. Desta forma, estudos sobre a sensibilidade de microrganismos a antimicrobianos e sobre a virulência bacteriana “in vitro” necessitam ser melhor avaliados.

Os padrões de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias orais no Brasil parecem ser muito diferentes aos observado em outros países, como relatado por Gaetti-Jardim Júnior et al. (1996b)⁵² e esse fenômeno representa um fenômeno que se repete em outros locais do mundo (Van Winkelhoff et al., 2000),¹⁸⁰ o que merece ser considerado quando da escolha do esquema terapêutico.

2.4. Mecanismos de Resistência aos Antimicrobianos

1. Resistência às tetraciclinas e seus derivados

Geralmente essas drogas apresentam maior atividade inibitória sobre microrganismos anaeróbios Gram negativos, enquanto sua atividade sobre bactérias Gram negativas é pobre (Eik et al., 1999).⁴² Existem, porém relatos de anaeróbios resistentes a drogas desse grupo (Eik et al., 1999;⁴² Gaetti-Jardim Júnior, 2001).⁵⁴

Segundo Roberts (2002),¹⁴⁰ o desenvolvimento de resistência às tetraciclinas depende da aquisição de genes de resistência. Embora mutações que modificam o alvo de ação dessa drogas existam, elas não parecem ser responsáveis pelos elevados níveis de resistência por vezes observado. Os genes de resistência já descritos induzem a produção de proteínas de efluxo da droga, que exportam o antimicrobiano, proteínas que protegem os ribossomos, impedindo a ação das tetraciclina e seus derivados (minociclina e doxiciclina) e proteínas que modificam a estrutura das drogas (Gaetti-Jardim Júnior et al., 2002).⁵⁵

Dentre os marcadores de resistência para tetraciclina, o gene *tet* (M) é o mais disseminado e codifica para uma proteína que protege o ribossomo da ação da droga e quase sempre está associado a plasmídios ou outros elementos conjugativos. Pode ser encontrado em bactérias Gram positivas e Gram negativas, anaeróbios e aeróbios na

cavidade bucal. Esse gene, em *Fusobacterium nucleatum*, pode ser transferido com facilidade para outras cepas dessa espécie, para *Peptostreptococcus anaerobius* e *Enterococcus faecalis* (Roberts & Lansciardi, 1990).¹³⁴

O uso prolongado de tetraciclinas, sistemicamente, pode elevar os níveis de resistência a essas drogas, destacando-se, entre os resistentes, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella oralis* e *Capnocytophaga* spp. (Williams et al., 1979).¹⁸⁹ Porém, o uso por períodos mais curtos de tempo (15 dias ou menos) modifica apenas transitoriamente os níveis de resistência, como sugerido por Abu-Fanas et al. (1991).¹

Múltiplas exposições às tetraciclinas também colaboram para aumentar os níveis de resistência, como evidenciado por Magnusson et al. (1991),⁹⁹ que observaram bactérias resistentes em 12,9% dos sítios periodontais refratários com contato prévio com a droga, e em 4,6% dos sítios periodontais crônicos sem contato prévio com a droga. Isso limitaria a efetividade da droga em pacientes com histórico de uso freqüente de tetraciclina e recomendaria a realização de cultura e antibiograma previamente ao uso desse fármaco.

A despeito da elevação dos níveis de resistência após o emprego de tetraciclinas (doxiciclina) ser notável, elevando-se de 10 a 20 vezes os valores iniciais na população, os níveis de resistência tendem a retornar aos valores iniciais dentro de 6 meses, provavelmente em função da competição

com os microrganismos sensíveis que, na ausência da droga, levam vantagem metabólica (Fiehn & Westergaard, 1990).⁴⁴

O uso tópico de tetraciclina e seus derivados também aumentam significativamente a resistência da microbiota local a essas drogas, como evidenciado por Larsen (1991).⁹³ Nessas condições, como também observado por esses autores, os cocos Gram positivos são os principais favorecidos.

De acordo com Olsvik et al. (1995),¹¹⁸ a seleção de microrganismos resistentes a tetraciclina é bastante rápida durante o transcurso do emprego dessas drogas no tratamento periodontal, uma vez que 22,9% das bactérias isoladas de sítios periodontais que haviam recebido tetraciclina eram resistentes a essa droga, o mesmo ocorrendo com 7,2% dos microrganismos oriundos de sítios periodontais que não receberam antimicrobianos.

2. Macrolídeos e lincosaminas (lincomicina e clindamicina)

Essas drogas atuam bloqueando a síntese protéica ligando-se à subunidade 50S do ribossomo bacteriano, sendo que existe uma sobreposição de receptores entre as duas classes de drogas, de forma que quando as mesmas são administradas concomitantemente elas competem pela ligação ao alvo (Roberts, 2002).¹⁴⁰

A resistência a essas drogas pode se dar por mutações que substituem um resíduo de adenina na posição

(ou área próxima) 2058 do 23SrRNA em *E. coli* (ou outras bactérias), inativação da droga e efluxo da mesma, sendo que o mecanismo mais freqüente é a aquisição de uma rRNA metilase (genes *erm*), como relataram Roberts et al. (1999).¹³⁹ Essa enzima modifica uma adenina no RNA ribossômico 23S bacteriano, produzindo resistência cruzada a essas drogas, sendo que a mesma já foi observada em microrganismos bucais (Roberts, 1998b).¹³⁷

Outro mecanismo de resistência é a inativação da droga, conferindo resistência apenas a um único grupo dessas drogas, e o efluxo desses fármacos, ditado pela produção de enzimas transportadoras, o que constitui evento comum em microrganismos bucais (Roberts, 1997).¹³⁵

O valor da eritromicina e outros macrolídeos clássicos no tratamento de infecções bucais é modesto em função da elevada resistência dos anaeróbios obrigatórios a esses fármacos, sendo que, entre as espécies de *Prevotella* produtoras de pigmento negro, 13% apresentam resistência a essa droga, o mesmo ocorrendo com 47% das espécies não pigmentadas e 91% das fusobactérias (Kuriyama et al., 2001).⁹¹ Mesmo outros microrganismos bucais, como os estreptococos β -hemolíticos, respondem pobremente ao emprego dessas drogas (Herrera et al., 2000).⁷⁷

3. Metronidazol

A despeito de sua elevada efetividade frente a microrganismos anaeróbios, particularmente bactérias Gram negativas envolvidas nas infecções periodontais marginais e apicais, Wright et al. (1997)¹⁹¹ evidenciaram a existência de amostras de *Phorphyromonas gingivalis* que, crescendo no interior do biofilme, se mostram resistentes a concentrações dessa droga atingíveis quando a mesma é empregada sistemicamente.

Os genes que codificam a resistência ao metronidazol recebem o nome de genes *nim* (*nim A*, *nim B*, *nim C*, *nim D*) e foram detectados originalmente em anaeróbios do gênero *Bacteroides* (Reysset et al., 1996;¹³¹ Trinh et al., 1996).¹⁷³

Os genes *nim* parecem codificar uma 5-nitroimidazol redutase que reduz essas drogas a seus 5-amino derivados (Reysset et al., 1996).¹³¹ Outras bactérias resistentes modificam as drogas por mecanismos ainda não descritos e não relacionados aos genes *nim* (Trinh et al., 1996).¹⁷³

Parece existir uma grande diversidade de mecanismos de resistência aos nitroimidazóis em protozoários e é possível que o mesmo já ocorra em bactérias anaeróbias. Nesses eucariotos, a resistência pode se dar pela mutação do gene que codifica para a enzima que reduz o nitroimidazol até sua configuração ativa, mutações que reduzem a entrada da droga na célula ou nas moléculas transportadoras, que

poderiam aumentar a exportação da droga (Samuelson, 1999).¹⁴⁴

4. Penicilinas e outros β -lactâmicos

Os β -lactâmicos ainda são as drogas mais utilizadas na área de saúde, sem que os níveis de resistência entre os microrganismos bucais se mostrasse preocupante, o que sofreu alterações marcantes em anos recentes, obrigando a revisão de hábitos arraigados de prescrição entre os cirurgiões-dentistas.

A literatura evidencia que drogas β -lactâmicas como penicilina G, penicilina V e amoxicilina ainda possuem efeito sobre parcela significativa dos microrganismos envolvidos nas infecções de cabeça e pescoço (Jasir et al., 2000;⁸⁵ Pacini et al., 1997;¹¹⁹ Sutter & Finegold, 1976;¹⁶⁷ Vigil et al., 1997).¹⁸¹ Contudo, diversos estudos relatam um aumento significativo na resistência a essas drogas em microrganismos isolados de infecções periodontais marginais (Gaetti-Jardim Júnior et al., 1996a),⁵¹ periodontais apicais (Gaetti-Jardim Júnior et al., 1996b),⁵² endodônticas (Gaetti-Jardim Júnior, 2001)⁵⁴ e de outros sítios anatômicos (Bernal et al., 1998;¹⁷ Clark et al., 1992),³⁰ possivelmente em função de particularidades da população estudada, no que diz respeito a fenômenos de uso abusivo de antimicrobianos e automedicação.

O principal mecanismo de resistência a esses fármacos se dá pela produção de enzimas (β -lactamases) microbianas capazes de hidrolisar o anel β -lactâmico da droga, convertendo-a em um composto destituído de qualquer atividade inibitória, uma vez que o mesmo não se mostra apto a se ligar nas PLPs (proteínas de ligação à penicilina).

As β -lactamases da grande maioria das espécies bucais ainda não foram adequadamente estudadas e caracterizadas. No entanto, já foram descritas em estafilococos coagulase negativos, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus milleri* (grupo), *Peptostreptococcus* sp., *Bacteroides forsythus*, *Capnocytophaga* spp., *Fusobacterium nucleatum* (onde essas enzimas parecem ser constitutivas e ligadas à superfície bacteriana), *Mitsuokella multiacida*, *Porphyromonas asaccharolytica*, *Prevotella buccae*, *Prevotella oralis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella pallens* e *Veillonella* sp. (Roberts, 2002).¹⁴⁰

Mutações também podem afetar a afinidade das β -lactamases pelos seus substratos, as proteínas de ligação à penicilina (PLP). A modificação de um único tipo de PLP pode afetar a sensibilidade a um determinado tipo de β -lactâmico, enquanto que mutações nos genes que codificam para vários tipos dessas proteínas podem afetar a resistência a todo esse grupo de antimicrobianos. Em alguns casos, os dois tipos de PLPs, as originais e as modificadas, coexistem na célula microbiana, sendo que as mutantes somente são expressas

quando os antibióticos estão presentes no ambiente em concentrações elevadas (Tomasz, 1994).¹⁷²

Outros mecanismos envolvem a modificação das porinas das bactérias Gram negativas, diminuindo a permeabilidade das membranas externas da parede desses microrganismos a esses fármacos (Roberts, 2002).¹⁴⁰

A magnitude da resistência aos β -lactâmicos pode ser observada nos estudos de Eik et al. (1999)⁴² e Kuriyama et al. (2000),⁹⁰ onde de 63 % a 82% dos isolados do gênero *Prevotella*, 61% a 89 % do gênero *Fusobacterium* e de 83 % a 100 % dos isolados do gênero *Porphyromonas* eram resistentes a penicilina, sendo que 22,5% das cepas de *Prevotella intermedia*, 71,4% de *Prevotella melaninogenica*, 40,7 % de *Prevotella oralis* e 23,5% de *Prevotella buccae* produziam β -lactamases (Kuriyama et al., 2001).⁹¹

A produção dessas enzimas hidrolíticas também é característica freqüente entre isolados do gênero *Fusobacterium* (Appelbaum et al., 1990;⁵ Appelbaum et al., 1991;⁶ Gaetti-Jardim Júnior, 1994),⁵⁰ sendo que entre esses microrganismos as β -lactamases permanecem restritas ao espaço periplásmico e possuem maior afinidade por degradar penicilinas e não cefalosporinas.

Os inibidores de β -lactamases geralmente são eficazes em impedir a ação da maioria dessas enzimas (Abu-Fanas et al., 1991;¹ Appelbaum et al., 1990;⁵ Appelbaum et al., 1991;⁶ Gaetti-Jardim Júnior, 2001;⁵⁴ Wexler et al., 1991),¹⁸⁷

porém até 10% das cepas bacterianas produtoras dessas enzimas são resistentes à associação de amoxicilina e ácido clavulânico (Appelbaum et al., 1990;⁵ Appelbaum et al., 1991).⁶

2.5. Padrões de susceptibilidade a antimicrobianos de microrganismos frequentemente envolvidos em infecções maxilofaciais

Em Odontologia, as drogas mais amplamente utilizadas para o tratamento de processos infecciosos são os β -lactâmicos, ainda constituindo drogas de escolha para a terapêutica das infecções odontogênicas.

A sensibilidade da microbiota à penicilina G, a droga desse grupo utilizada por mais tempo, tem variado significativamente. Sutter & Finegold (1976)¹⁶⁷ relataram que os cocos Gram negativos anaeróbios e os isolados dos gêneros *Fusobacterium*, *Eubacterium*, *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Peptococcus* e *Peptostreptococcus* eram sensíveis, enquanto 58% dos isolados de *Bacteroides fragilis* e 25% dos isolados das demais espécies dos gêneros *Bacteroides* e *Selenomonas*, bem como 3% dos bastonetes anaeróbios Gram negativos produtores de pigmento negro eram resistentes.

Stern et al (1990)¹⁶² avaliaram o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas de sistemas de canais de dentes com polpa necrótica e concluíram que as espécies do gênero *Streptococcus* mostraram-se sensíveis à penicilina G (93,7%), ampicilina

(97,9%) e eritromicina (85%), enquanto à sensibilidade de *Enterococcus* spp. a essas drogas foi de 36,1%, 92,8% e 61,9% respectivamente.

Isolados de *Fusobacterium necrophorum* (Piriz-Duran et al., 1990),¹²⁸ bastonetes Gram positivos anaeróbios (Finegold, 1990),⁴⁶ *Porphyromonas* spp. (Appelbaum et al., 1990;⁵ Appelbaum et al., 1992;⁷ Finegold, 1990;⁴⁶ Fosse et al., 1999;⁴⁸ Van Winkelhoff et al., 2000),¹⁸⁰ *Prevotella* spp. (Appelbaum et al., 1990;⁵ Fosse et al., 1999;⁴⁸ Gaetti-Jardim Júnior et al., 1996a;⁵¹ Panichi et al., 1990;¹²² Van Winkelhoff et al., 2000),¹⁸⁰ vêm se tornando cada vez mais resistentes a esse β -lactâmico.

Alguns estudos, como o de Sbordone et al. (1995),¹⁴⁵ envolvendo isolados de *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Fusobacterium nucleatum* obtidos de implantes dentários, o estudo de Woods (1988),¹⁹⁰ que avaliou o perfil de sensibilidade a antimicrobianos para *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus* spp., no período de 1966-1986, e Van Winkelhoff et al. (2000),¹⁸⁰ sugerem que a resistência a essa droga varia significativamente de acordo com o grupo bacteriano, região geográfica e os hábitos de prescrição dos profissionais de saúde envolvidos.

Sbordone et al. (1995)¹⁴⁵ relataram que a maioria dos isolados de *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Fusobacterium nucleatum* eram sensíveis à penicilina G, o mesmo ocorrendo com a maioria dos isolados

de *Streptococcus* spp. descritos por Woods (1988).¹⁹⁰ Por outro lado, esses últimos autores relataram que 81% das cepas de *Enterococcus faecalis* eram resistentes à essa droga.

A resistência de bactérias isoladas de sistemas de canais radiculares de dentes com polpa necrótica a antimicrobianos foi avaliada por Gaetti-Jardim Júnior et al. (1996b),⁵² revelando que 20% dos isolados de *Prevotella intermedia*, 5,55% dos isolados de *Fusobacterium nucleatum* e 10% dos isolados do gênero *Petostreptococcus* foram resistentes a esse β -lactâmico. Por outro lado, Pacini et al. (1997)¹¹⁹ demonstraram que isolados de *Actinomyces israelii*, *A. viscosus*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella oralis*, *Fusobacterium* sp. e *Streptococcus* spp. eram sensíveis à penicilina G.

O padrão de susceptibilidade a antimicrobianos da microbiota de lesões periapicais refratárias foi estudada por Vigil et al. (1997),¹⁸¹ revelando que os isolados do gênero *Enterococcus*, além de *Peptostreptococcus micros*, *Propionibacterium acnes*, *Clostridium butyricum* e estreptococos do grupo viridans eram sensíveis à penicilina G, enquanto *Staphylococcus epidermidis*, *Fusobacterium* spp., *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae* eram altamente resistentes a essa droga.

Le Goff et al. (1997)⁹⁵ demonstraram que os anaeróbios obrigatórios das espécies *Bacteroides gracilis*, *Propionibacterium acnes*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella*

buccae e *Eubacterium lentum* foram sensíveis à amoxicilina e associação desta droga com ácido clavulânico, quando avaliaram a susceptibilidade de microrganismos isolados de dentes com polpa necrótica e lesão periapical crônica. A produção de β -lactamases não foi detectada nos microrganismos isolados.

Van Winkelhoff et al. (2000)¹⁸⁰ compararam a resistência de microrganismos bucais, isolados na Espanha ou Holanda, a diferentes drogas antimicrobianas, demonstrando que no país ibérico, onde o emprego de penicilina G é elevado, a resistência a essa droga e amoxicilina atinge quase 50% dos isolados de *Prevotella intermedia* e *Fusobacterium nucleatum*, contrastando com os países do centro e norte da Europa.

Para Jasir et al. (2000),⁸⁵ a sensibilidade de isolados do gênero *Streptococcus* à penicilina G ainda é significativa para *S. pyogenes*, uma vez que em 1.335 isolados, não se observou resistência a esse β -lactâmico. O mesmo não ocorre com *Staphylococcus* spp., sendo que Sechi et al. (1999)¹⁴⁷ relataram que 81% dos isolados de *S. epidermidis* foram resistentes à penicilina G e 21% também o foram para meticilina.

Von Eiff et al. (2000)¹⁸² demonstraram que de 1448 isolados de *Staphylococcus* spp. obtidos da corrente sanguínea de pacientes, 73,5% mostravam-se resistentes à penicilina G, enquanto a resistência à oxacilina foi de 13,5%. Para isolados de *S. epidermidis* a resistência à penicilina G e oxacilina foi de

89,9% e 69,3% respectivamente, e para *S. haemolyticus* foi de 98% e 90%, evidenciando a elevada resistência que essas espécies possuem a drogas normalmente empregadas em âmbito hospitalar.

Para a ampicilina e amoxicilina, que são penicilinas de espectro de ação aumentado, o fenômeno de elevação dos níveis de resistência bacteriana também vem sendo verificado.

A resistência à ampicilina foi observada em 44% dos isolados de *Bacteroides fragilis*, 8% dos isolados de *Selenomonas* spp. e 10% das cepas de *Fusobacterium nucleatum* testadas por Sutter & Finegold (1976),¹⁶⁷ enquanto a resistência à amoxicilina foi observada em 48% dos isolados de *Bacteroides fragilis*, 14% dos isolados de outras espécies do gênero *Bacteroides* e *Selenomonas*, 25% das fusobactérias não pertencentes à espécie *Fusobacterium nucleatum*. Os gêneros *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Gaffkya*, *Prevotella* e *Porphyromonas* foram sensíveis a essas duas drogas.

De acordo com Finegold (1990),⁴⁶ os isolados de *Eubacterium lentum*, *Propionibacterium acnes* e cocos Gram positivos anaeróbios mostraram-se sensíveis à ampicilina, o mesmo ocorrendo com *Veillonella parvula*, como relatado por Aldridge et al. (1994).²

Em 1991, Wexler et al.¹⁸⁷ relataram que 9% das fusobactérias e de 3 a 6% dos isolados de *Peptostreptococcus* spp. eram resistentes à ampicilina, enquanto os bastonetes Gram positivos mostravam-se muito sensíveis. Nessa linha,

Clark et al. (1992)³⁰ relataram que 68% dos isolados de *Bacteroides fragilis*, *Prevotella melaninogenica*, 40% dos isolados de *P. loescheii* e *P. oralis*, 25% dos isolados de *Peptostreptococcus* spp. eram resistentes a essa droga.

A existência de vários isolados de *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., e *Porphyromonas* spp. cuja resistência à amoxicilina não era inibida pela adição de ácido clavulânico, segundo relatos de Appelbaum et al. (1992),⁷ o mesmo ocorrendo com isolados de *Peptococcus* sp., *Bacteroides gracilis* e *Bacteroides* spp. pertencentes ao grupo do *B. fragilis* estudados por Wexler et al. (1992).¹⁸⁸

Por vezes os isolados de *Prevotella intermedia* e *Fusobacterium nucleatum* resistentes à penicilina G também o são à ampicilina, como evidenciado por Gaetti-Jardim Júnior et al. (1996a)⁵¹ e Gaetti-Jardim Júnior et al. (1996b).⁵²

Barnard et al. (1996)¹² avaliaram a susceptibilidade de 2 isolados de *Actinomyces israelii* a antimicrobianos, relatando que as bactérias foram sensíveis a ampicilina (CIM $\leq$ 0,1 μ g/ml), amoxicilina e cefalexina (CIM de 0,1 μ g/ml). As concentrações bactericidas mínimas foram 1000 vezes mais elevadas do que as concentrações inibitórias mínimas para as mesmas drogas, sugerindo tolerância às mesmas.

Alguns grupos microbianos têm evidenciado uma resistência crescente às cefalosporinas, embora a maioria dos microrganismos bucais sejam sensíveis à elas (Sutter & Finegold, 1976).¹⁶⁷

Sutter & Finegold (1976)¹⁶⁷ evidenciaram que 14% dos isolados de *Bacteroides* spp. e *Selenomonas* spp., além de 15% de *Bacteroides fragilis* eram resistentes à cefoxitina, enquanto os gêneros *Veillonella* e *Fusobacterium*, cocos e bacilos Gram positivos anaeróbios foram sensíveis.

Apesar de Rolfe & Finegold (1981)¹⁴² e Eley & Greenwood (1986),⁴³ terem evidenciado que *Bacteroides distasonis* e outros isolados desse gênero se mostravam resistentes à cefoxitina, Brook (1987a)²³ relatou que essa droga é a cefalosporina mais eficaz frente a *Bacteroides* spp. produtores de β -lactamases.

Eley & Greenwood (1986)⁴³ observaram resistência à cefoxitina e imipenem em *Bacteroides* do grupo do *Bacteroides fragilis*, sendo que as β -lactamases responsáveis pelo fenômeno se mostraram pouco sensíveis ao ácido clavulânico e foram capazes de degradar imipenem. Entre os microrganismos produtores de β -lactamases, os β -lactâmicos mais eficazes foram, em ordem decrescente, imipenem, associação amoxicilina /ácido clavulânico e cefoxitina.

Entre os isolados do gênero *Staphylococcus* (Woods, 1988),¹⁹⁰ a resistência a todos os grupos de drogas é generalizada, sendo que apenas as cefalosporinas, eritromicina, doxiciclina e lincomicina atuaram em pouco mais que 50% dos isolados ao nível do ponto crítico para as drogas.

Cepas de *S. aureus* resistentes à meticilina são resistentes à maioria das drogas, incluindo imipenem,

penicilina, eritromicina, clindamicina, e os isolados sensíveis à meticilina são, de modo geral, resistentes à penicilina G (Malanoski et al., 1993).¹⁰⁰ O mesmo acontece com *S. epidermidis*.

O fenômeno da multirresistência a antimicrobianos parece ser amplamente distribuído entre isolados do gênero *Staphylococcus*, mesmo em espécies pouco estudadas. Nesse particular, You et al. (1999)¹⁹² mostraram que os isolados de *S. lugdunensis* obtidos de pacientes com abscessos dentais e osteomielites mostraram resistência a penicilina G, ampicilina, meticilina, cefalotina.

A resistência de *Enterococcus faecalis* aos β -lactâmicos é considerável e, de acordo com Woods (1988),¹⁹⁰ 81% das cepas são resistentes à penicilina G, 66% o são para amoxicilina, 50% dos isolados são resistentes à ampicilina e 16% são resistentes às cefalosporinas. Para os isolados do gênero *Streptococcus*, a penicilina G e os demais fármacos do grupo permanecem eficazes, com uma efetividade significativa para mais de 90% das cepas testadas. Em 2000, Garcia-Garrote et al.⁵⁷ evidenciaram que a resistência de isolados clínicos de *Enterococcus* spp. à ampicilina foi de 23%.

Os resultados de Finegold (1990)⁴⁶ evidenciaram que *Eubacterium lentum*, *Propionibacterium acnes* e *Fusobacterium necrophorum* eram sensíveis à cefoxitina, porém os cocos e bacilos Gram positivos anaeróbios mostravam pequena resistência.

Além da resistência à cefoxitina entre isolados do gênero *Bacteroides*, que se caracterizam pela produção de cefalosporinases, Wexler et al. (1991)¹⁸⁷ relataram que fusobactérias do grupo *Fusobacterium varium*-*F. mortiferum* também mostraram notável resistência à essa droga.

De acordo com Panichi et al. (1990),¹²² cepas de *Bacteroides fragilis* resistentes a outros β -lactâmicos, como aztreonam e penicilina G, ainda se apresentam sensíveis à cefoxitina, sendo notável a sensibilidade de *Prevotella melaninogenica* e de cocos Gram positivos anaeróbios, mesmo quando esses últimos eram resistentes a outras cefalosporinas.

Em 1992, Wexler et al.¹⁸⁸ demonstraram que a maioria dos isolados de *Bacteroides fragilis*, *Prevotella* spp., *Fusobacterium nucleatum* e outras fusobactérias, além dos bastonetes Gram positivos anaeróbios eram sensíveis à associação amoxicilina/ácido clavulânico, mesmo quando se mostravam produtores de β -lactamases.

A sensibilidade a antimicrobianos de microrganismos do gênero *Streptococcus* foi abordada por Malanoski et al. (1993),¹⁰⁰ que evidenciaram que tanto os estreptococos α -hemolíticos, quanto os β -hemolíticos apresentavam sensibilidade à maioria das drogas utilizadas em Odontologia e Medicina. Esses cocos, mesmo quando se apresentam resistentes à penicilina G, são sensíveis aos carbapenêmicos e, com frequência, resistentes à eritromicina.

De acordo com esses autores, *Enterococcus faecalis* são altamente resistentes à eritromicina e clindamicina, mas sensíveis à penicilina G e imipenem.

Em 1993, Pankuch et al.¹²⁴ relataram que 16% dos isolados de *Bacteroides fragilis*, 10% de *Prevotella buccae*, 8% de *P. melaninogenica*, 9% de *Fusobacterium nucleatum*, 8% de *F. necrophorum* e 15% de bastonetes Gram positivos foram resistentes à cefoxitina.

Aldridge et al. (1994)² relataram que *Veillonella parvula* mostrava-se sensível às penicilinas, associadas ou não a inibidores de β -lactamases (ácido clavulânico), metronidazol, clindamicina, imipenem e cefoxitina, o mesmo ocorrendo com o gênero *Eubacterium*. Contudo, nesse último grupo, verificou-se a existência de cepas resistentes a outras cefalosporinas. Os autores ainda relataram que os isolados de *Peptostreptococcus* spp. eram resistentes à associação ticarcilina-ácido clavulânico e isolados de *Bacteroides fragilis* e *Bacteroides* spp. mostravam resistência à cefoxitina e à associação ticarcilina-ácido clavulânico.

A resistência à cefalotina entre isolados de *Prevotella intermedia* obtidos de dentes com polpa necrótica foi de 10%, conforme evidenciado por Gaetti-Jardim Júnior et al. (1996b),⁵² sendo que os isolados de *Fusobacterium nucleatum* e do gênero *Peptostreptococcus* foram sensíveis a essa droga. Todos os microrganismos testados foram sensíveis à cefoxitina. Nessa linha, Vigil et al. (1997)¹⁸¹ verificaram que

isolados do gênero *Enterococcus* e de *Staphylococcus epidermidis* de dentes com lesão periapical refratária eram resistentes à cefoxitina, sendo que *S. epidermidis* também o foi para cefotaxime.

Em 1996a, Gaetti-Jardim Júnior et al.⁵¹ relataram que 4,9% dos isolados de *Fusobacterium* spp. de pacientes com doença periodontal eram resistentes à cefoxitina, sendo que esses isolados não foram capazes de produzir β -lactamases capazes de degradar cefalosporinas. Outras fusobactérias envolvidas em processos infecciosos na região de cabeça e pescoço também são sensíveis à cefoxitina, como demonstrado por Piriz-Duran et al. (1990)¹²⁸ para *F. necrophorum*.

A susceptibilidade aos β -lactâmicos reflete o efeito combinado da ligação desses fármacos às proteínas de ligação da penicilina, estabilidade a β -lactamases e, no caso de bactérias Gram negativas, permeabilidade da membrana externa. Da mesma forma, a resistência a essas drogas pode refletir uma alteração nesses três componentes (Georgopapadakou, 1993),⁶⁰ sendo que Jenkins (1992)⁸⁶ relata que a produção de β -lactamases constitui o principal mecanismo de resistência a essas drogas.

De acordo com Nord & Hedberg (1990)¹¹⁴ a resistência a drogas β -lactâmicas em anaeróbios obrigatórios depende da produção de β -lactamases, alteração do número ou tipo das proteínas de ligação a penicilina, o que afetaria a

afinidade das drogas, e diminuição da permeabilidade bacteriana, sendo que o primeiro mecanismo se mostra mais relevante.

Segundo Olsson et al. (1977),¹¹⁷ 87% das cepas de *Bacteroides fragilis* produz pequenas quantidades de uma β -lactamase constitutiva, enquanto 6% produz grande quantidade dessas enzimas, sendo que os níveis de produção estão relacionados ao nível elevado de resistência a essas drogas. As β -lactamases desses anaeróbios eram, de maneira geral, mais ativas sobre as cefalosporinas do que sobre as penicilinas.

As β -lactamases de *Porphyromonas assaccharolytica* e *Prevotella melaninogenica* (Nord & Olsson-Liljeqvist, 1981)¹¹³ e *F. nucleatum* (Tunèr et al., 1985)¹⁷⁴ se comportam como penicilinases, sendo pouco ativas sobre cefalosporinas e são raramente induzíveis.

A produção de β -lactamases é uma característica freqüente na microbiota bucal, predominando entre os anaeróbios obrigatórios, como demonstrado por Legg & Wilson (1990),⁹⁴ sendo que a associação amoxicilina/ácido clavulânico foi eficaz frente a esses microrganismos.

Nesse sentido, Wexler et al. (1991)¹⁸⁷ relataram que o uso de inibidores de β -lactamases (sulbactam, tazobactam e ácido clavulânico) aumentava significativamente a atividade dos β -lactâmicos a eles associados, evidenciando o papel desempenhado por essas enzimas para esse grupo de drogas.

Entretanto, os autores observaram níveis baixos de resistência à associação β -lactâmico/inibidor de lactamase em *Bacteroides fragilis* e outras espécies relacionadas, *B. gracilis*, *Fusobacterium* spp., exceção feita a *F. nucleatum*, e *Clostridium* spp.

Finegold (1990),⁴⁶ evidenciou que a produção de cefalosporinases e penicilinases era freqüente entre isolados de *Prevotella intrermedia*, *Eubacterium lentum* e *Fusobacterium* spp. (20%), não incluindo *F. nucleatum*, *F. necrophorum* e *F. mortiferum*, o mesmo ocorrendo com 36% dos isolados do gênero *Porphyromonas*.

A existência de microrganismos bucais, como *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia*, e do gênero *Bacteroides* (*B. eggerthii*) resistentes à associação amoxicilina/ácido clavulânico também foi observada por Appelbaum et al. (1990).⁵ Além desse aspecto, os autores mostraram que 41% das 129 fusobactérias testadas produziram β -lactamases, o mesmo ocorrendo com 64,7% das bactérias dos gêneros *Prevotella*, *Porphyromonas* e *Bacteroides* não pertencentes ao grupo *B. fragilis*.

Nesse sentido, Appelbaum et al. (1992)⁷ relataram a existência de vários isolados de *Bacteroides* grupo *fragilis*, *Bacteroides* não *fragilis* (incluindo *Prevotella* e *Porphyromonas*), *Fusobacterium* resistentes à amoxicilina e à associação amoxicilina /ácido clavulânico.

Entretanto, para a maioria das bactérias bucais, a associação amoxicilina/ácido clavulânico mostra-se efetiva, como observado por Sbordone et al. (1995).¹⁴⁵ Esses autores evidenciaram esse fenômeno para todos os isolados de *Porphyromonas gingivalis* e a grande maioria das cepas de *Prevotella intermedia* e *Fusobacterium nucleatum* testadas. Alguns isolados dessas últimas espécies não foram inibidos por essa associação “in vitro”. Essas bactérias resistentes foram inibidas pela associação amoxicilina/metronidazol.

Appelbaum et al. (1991),⁶ revelaram que *Prevotella bivia*, *P. disiens*, *P. melaninogenica*, *P. intermedia*, *P. oralis*, *P. buccae*, *P. loescheii*, *Porphyromonas gingivalis*, e fusobactérias produziam, com frequência, β -lactamases, mas estas enzimas não foram aptas a degradar carbapenêmicos e foram passíveis de inibição pela adição de inibidores de β -lactamases.

As bactérias produtoras de β -lactamases tendem a ser menos sensíveis a outras drogas não relacionadas, sugerindo que além da produção dessas enzimas hidrolíticas essas bactérias podem possuir alguma barreira de permeabilidade na membrana externa (nos microrganismos Gram negativos) e/ou membrana citoplasmática, como também observado por Johnson et al. (1990),⁸⁷ Appelbaum et al. (1991)⁶ e Appelbaum et al. (1992).⁷

A produção de β -lactamases pode ser detectada em mais de 90% dos isolados de *Bacteroides fragilis* e espécies relacionadas em 100% dos isolados de *P.*

melaninogenica, *P. loescheii* e *P. oralis*, como observado por Clark et al. (1992),³⁰ mas a produção dessas enzimas não significa necessariamente resistência a essas drogas.

A ocorrência de bactérias produtoras de β -lactamases na cavidade bucal vem sendo estudada, sendo que Van Winkelhoff et al. (1997)¹⁷⁹ verificaram que 74% dos 23 pacientes com periodontite do adulto mostravam-se colonizados por uma ou mais cepas bacterianas produtoras dessas enzimas. Entre os isolados de *Prevotella intermedia* essa característica esteve presente em 26%, enquanto 13% dos isolados de *Fusobacterium nucleatum*, 11% dos isolados de *Bacteroides fosythus*, 22% de *Prevotella buccae*, 9% de *Prevotella bucalis*, 17% dos isolados de *Prevotella loescheii* e 9% de *Actinomyces* sp. foram produtores dessas enzimas. Nenhum dos isolados de *Porphyromonas gingivalis* apresentou essa característica. A maioria dos isolados produtores de β -lactamase foram sensíveis à amoxicilina na concentração de 3 μ g/ml e à associação amoxicilina/ácido clavulânico.

Bernal et al. (1998)¹⁷ demonstraram que, de 96 isolados de *Prevotella intermedia* e *P. nigrescens*, 25 mostraram-se resistentes a amoxicilina, mas sensíveis à associação dessa droga com ácido clavulânico. As cepas resistentes a amoxicilina mostraram-se produtoras de β -lactamases e 72% pertenciam a espécie *P. nigrescens* e 20% a *P. intermedia*, enquanto 2 isolados não puderam ser identificados, com segurança, como membros de um das duas

espécies, mesmo com o uso de PCR, foram denominados “*Prevotella intermedia* sensu lato”.

Fosse et al. (1999)⁴⁸ determinaram que 42% dos isolados periodontais de *Prevotella buccae*, 35% de *P. intermedia*, 17% de *P. bivia*, 10% de *P. disiens*, 10% de *P. denticola* e 8 % de *Fusobacterium nucleatum* produziam β -lactamases passíveis de inibição pelo ácido clavulânico. Todos os isolados dos gêneros *Prevotella* mostraram-se sensíveis ao imipenem, cefoxitina, cefotaxime e associação amoxicilina / ácido clavulânico. Os microrganismos resistentes à tetraciclina mostraram forte tendência à resistência múltipla, particularmente à penicilina G e amoxicilina, e produção de β -lactamases.

Messini et al (1999)¹⁰⁴ relataram que bactérias dos gêneros *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Aerococcus*, *Gemella* e *Staphylococcus*, isoladas através de hemocultura em pacientes com problemas mentais submetidos a tratamento odontológico, apresentavam 48% de resistência a penicilina G. e oxacilina, além de 5% de resistência a cefalotina. De 3 isolados testados frente a associação amoxicilina/ ácido clavulânico, 1 foi resistente e os 3 o foram para amoxicilina, isoladamente.

Herrera et al (2000)⁷⁷ relataram de nenhum dos isolados de *Prevotella melaninogenica*, *P. intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus* e *Peptostreptococcus micros* obtidos de

abscessos periodontais agudos se mostrou resistente à associação amoxicilina/ácido clavulânico.

Kleinfelder et al. (2000)⁸⁹ relataram que *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella oralis* obtidas de pacientes com periodontite refratária foram altamente sensíveis à associação amoxicilina/ ácido clavulânico, com valores de concentração inibitória mínima menores que 0.016µg/ml. Isolados de *Fusobacterium nucleatum* e *Peptostreptococcus micros*, embora sensíveis a essa associação “in vitro”, não foram eliminados do periodonto com o uso sistêmico das drogas.

Embora a resistência aos carbapenêmicos e a produção de β -lactamases capazes de hidrolisar imipenem e meropenem tenham sido descritas (Payne et al., 1994),¹²⁵ esta não parece ser a condição predominante entre microrganismos isolados de infecções humanas (Finegold, 1990).⁴⁶

Imipenem geralmente apresenta atividade antimicrobiana frente a *Enterococcus* spp., exceto *E. faecium*, *Staphylococcus* spp., incluindo *S. aureus* resistentes à meticilina, *Pseudomonas*, exceto *P. cepacia*, e virtualmente todos os anaeróbios obrigatórios isolados de processos infecciosos.^{122,152}

A resistência a esse grupo de β -lactâmicos tem sido descrita desde a década de 1980, quando essas drogas passaram a ser utilizadas. Rolfe & Finegold (1981)¹⁴² e Eley & Greenwood (1986)⁴³ descreveram a existência de isolados de

Bacteroides spp. para os quais a concentração inibitória mínima para o imipenem era superior a 256 µg/ml, enquanto o ponto crítico para essa droga é de 16 µg/ml. Em 1990, Finegold⁴⁶ evidenciou a presença de cocos Gram positivos anaeróbios resistentes a esse fármaco, embora a totalidade dos isolados dos gêneros *Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Fusobacterium* e *Porphyromonas* tenha se mostrado sensível ao imipenem.

A sensibilidade de *Prevotella melaninogenica*, *Bacteroides fragilis* e cocos anaeróbios Gram positivos ao imipenem foi bastante elevada, mesmo para os isolados resistentes a outras drogas, como demonstrado por Panichi et al. (1990).¹²² Resultados semelhantes foram reportados por Gaetti-Jardim Júnior et al (1996b)⁵² para isolados de *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* e *Peptostreptococcus* sp. isolados de dentes com necrose pulpar, e por Gaetti-Jardim Júnior et al. (1996a),⁵¹ para isolados de *Fusobacterium nucleatum* obtidos de pacientes com doença periodontal e indivíduos saudáveis. Esses últimos autores demonstraram que as β-lactamases das fusobactérias não são aptas a degradar carbapenêmicos.

A resistência microbiana aos carbopenêmicos pode ser mediada por 4 classes de β-lactamases e pela perda de proteínas associadas ao transporte dessas drogas através da membrana externa, comportando-se como porinas, como demonstrado por Bou et al. (2000),²² para *Acinetobacter*

bammannii. Quando a resistência ao imipenem é mediada pelo desaparecimento de porinas na superfície bacteriana, como em *Enterobacter aerogenes*, a mesma pode ser reversível. O bloqueio no uso desse carbapenêmico, por vezes, resultou no reaparecimento das porinas em alguns dos isolados dessa espécie, como relatado por Bornet et al. (2000).²¹

Com o conhecimento da participação de microrganismos anaeróbios obrigatórios na etiologia das infecções de cabeça e pescoço, o uso do metronidazol e da clindamicina, drogas mais ativas sobre anoxibiontes, vem crescendo na odontologia.

O mecanismo de ação do metronidazol foi melhor esclarecido por Narikawa (1986),¹¹¹ que demonstrou que a enzima nitrato redutase é responsável pelo acúmulo de metronidazol dentro da célula bacteriana, enquanto a enzima piruvato ferredoxina óxido-redutase reduz o grupo nitro da droga, convertendo-o na forma quimicamente ativa, capaz de atuar no DNA bacteriano.

Esse quimioterápico se mostra extremamente eficaz sobre anaeróbios obrigatórios Gram negativos, particularmente sobre os gêneros *Bacteroides* (Appelbaum et al., 1990;⁵ Panichi et al., 1990;¹²² Pankuch et al., 1993;¹²³ Rolfe & Finegold, 1981),¹⁴² *Prevotella* (Appelbaum et al., 1990;⁵ Finegold, 1990;⁴⁶ Gaetti-Jardim Júnior et al., 1996;⁵¹ Panichi et al., 1990;¹²² Pankuch et al., 1993;¹²³ Rolfe & Finegold, 1981),¹⁴² Sbordone et al., 1995;¹⁴⁵ Van Winkelhoff et al., 2000),¹⁸⁰

Porphyromonas (Appelbaum et al., 1990;⁵ Finegold, 1990;⁴⁶ Pankuch et al., 1993;¹²³ Sbordone et al., 1995;¹⁴⁵ Van Winkelhoff et al., 2000),¹⁸⁰ *Fusobacterium* (Appelbaum et al., 1990;⁵ Finegold, 1990;⁴⁶ Gaetti-Jardim Júnior et al., 1996ab;^{51,52} Panichi et al., 1990;¹²² Sbordone et al., 1995;¹⁴⁵ Van Winkelhoff et al., 2000),¹⁸⁰ e *Veillonella* (Aldridge et al., 1994).²

A resistência de bastonetes anaeróbios Gram negativos ao metronidazol ainda se encontra limitada a um número pequeno de isolados. Nesse sentido, Sutter & Finegold (1976)¹⁶⁷ relataram que 3% dos isolados de *Bacteroides* spp., muitos dos quais reclassificados nos gêneros *Prevotella* e *Porphyromonas*, e *Selenomonas* spp. eram resistentes a esse nitroimidazol.

Como ocorre com outras drogas antimicrobianas, mesmo entre as espécies mais sensíveis ao metronidazol, cepas resistentes têm emergido. Em 1993, Listgarten et al.⁹⁶ relataram que 2,22% dos isolados de *Prevotella intermedia* e 1,49% dos isolados de *Fusobacterium nucleatum* foram resistentes, o mesmo tendo sido descrito por Sbordone et al. (1995),¹⁴⁵ sendo que esses autores também observaram a existência de *Porphyromonas gingivalis* resistentes a essa droga. A ocorrência de *Fusobacterium nucleatum* resistentes ao metronidazol também foi confirmada por Van Winkelhoff et al. (2000).¹⁸⁰

A sensibilidade dos anaeróbios obrigatórios Gram positivos e dos microaerófilos ao metronidazol tem se mostrado bastante variável. Em 1976, Sutter & Finegold¹⁶⁷ demonstraram que 3% dos isolados do gênero *Peptostreptococcus*, 60% dos isolados microaerófilos e anaeróbios do gênero *Streptococcus*, 8% de *Actinomyces* spp., 21% de *Lactobacillus* spp. e 60% dos isolados do gênero *Bifidobacterium* eram resistentes ao metronidazol.

Rolfe & Finegold (1981)¹⁴² relataram que os isolados de *Eubacterium* spp. e *Peptostreptococcus asaccharolyticus* eram sensíveis a esse nitroimidazol, com o que concorda Finegold (1990),⁴⁶ que verificou que os isolados de *Eubacterium lentum*, *Propionibacterium acnes* e *Peptococcus* sp. eram, em geral, sensíveis a essa droga, a despeito da resistência de 37% observada entre os outros gêneros de bactérias Gram positivas anaeróbias. Essa resistência entre bastonetes Gram positivos anaeróbios (55 a 70% dos isolados) também foi observada por Wexler et al. (1991).¹⁸⁷

Pankuch et al. (1993)¹²³ relataram que 7% dos isolados de *Peptostreptococcus* spp. eram resistentes a esse nitroimidazol, o mesmo ocorrendo com 76% dos bastonetes gram positivos anaeróbios (*Actinomyces* spp., *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp. e *Eubacterium* spp.) e todos os isolados de *Propionibacterium acnes* testados. Em 1996b, Gaetti-Jardim Júnior et al.⁵² relataram que *Peptostreptococcus*

sp., embora tenha se mostrado sensível ao metronidazol, a concentração inibitória mínima dessa droga para alguns isolados se aproximou do ponto crítico da mesma (16µg/mL). Nesse mesmo ano (1996), Barnard et al.¹² mostraram que *Actinomyces israelii* é altamente resistente ao metronidazol (CIM > 100µg/ml).

Vigil et al. (1997)¹⁸¹ relataram que isolados de *Peptostreptococcus micros* obtidos de dentes com lesão periapical refratária foram resistentes ao metronidazol, o mesmo ocorrendo com *Propionibacterium acnes* e *Campylobacter rectus*.

A resistência de *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp. e bastonetes entéricos a essa droga é quase universal, como relatado por Listgarten et al. (1993),⁹⁶ sendo que a resistência de *E. faecalis* e *E. faecium* foi posteriormente confirmada por Dahlén et al. (2000),³⁵ que estudaram isolados obtidos de dentes com polpa necrótica.

Stubbs et al (2000)¹⁶³ descreveram um quinto tipo de gene em *Bacteroides* spp. responsáveis pela resistência ao metronidazol. Das 28 cepas desses bastonetes que apresentavam reduzida sensibilidade ao nitroimidazole, 25 apresentavam um dos 5 variantes do gene nim (nim A, nim B, nim C, nim D, nim E). Essas enzimas atuam convertendo os nitroimidazóis em aminoimidazóis, impedindo a formação de radicais contendo o grupo nitro da droga, imprescindível para

sua atividade antimicrobiana frente a microrganismos anaeróbios obrigatórios.^{25,111}

A eritromicina, lincomicina e clindamicina são drogas utilizadas com frequência na clínica odontológica, sendo esta última mais ativa frente a anaeróbios do que as demais.

Sutter & Finegold (1976)¹⁶⁷ verificaram que a resistência à clindamicina entre os isolados de *B. fragilis* foi de 4% e de 6% entre *Bacteroides* spp. e *Selenomonas* spp., além de atingir 7% dos isolados dos gêneros *Peptococcus* e *Gaffkya*, 10% de estreptococos microaerófilos ou anaeróbios. Segundo Finegold (1990)⁴⁶ os bastonetes Gram positivos anaeróbios não esporulados apresentam 14% de resistência à clindamicina, enquanto os cocos anaeróbios Gram positivos mostram 3% de resistência a esse fármaco.

A sensibilidade de isolados do gênero *Streptococcus* à eritromicina permanece elevada, a despeito do uso. Nesse aspecto, Jasir et al. (2000)⁸⁵ relataram que, de 1.335 isolados de *S. pyogenes*, apenas 3 cepas foram resistentes a esse macrolídeo. A eritromicina não é particularmente efetiva sobre microrganismos anaeróbios, em particular os Gram negativos, sendo que Sbordone et al. (1995)¹⁴⁵ evidenciaram que *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Fusobacterium nucleatum* eram pouco sensíveis a essa droga e alguns isolados também apresentaram resistência à clindamicina.

Segundo Woods (1988),¹⁹⁰ dos isolados de *Enterococcus faecalis*, 16% foram resistentes à eritromicina, e 44% à lincomicina. Para essa espécie, Malanoski et al. (1993)¹⁰⁰ relataram a existência de níveis elevados de resistência à eritromicina e clindamicina para esses cocos.

Entre os isolados do gênero *Staphylococcus*, a resistência a quase todos os grupos de drogas foi generalizada, sendo que a eritromicina e lincomicina atuaram em pouco mais que 50% dos isolados ao nível do ponto crítico para as drogas (Woods, 1988).¹⁹⁰ Outras espécies desse gênero, como os isolados de *S. lugdunensis* obtidos de pacientes com abscessos dentais e osteomielites, mostraram resistência à clindamicina (You et al., 1999).¹⁹²

A pequena sensibilidade das fusobactérias à eritromicina é descrita na literatura, sendo que Sutter & Finegold (1976)¹⁶⁷ verificaram que 10% dos isolados *Fusobacterium nucleatum* eram resistentes a essa droga. Em 1979, Walker et al.,¹⁸⁵ aproveitando-se dessa resistência, sugerem a utilização desse macrolídeo no meio seletivo para o isolamento de fusobactérias de boca. Gaetti-Jardim Júnior et al. (1996b)⁵² relataram que 33,33% dos isolados de *Fusobacterium nucleatum* isolados de dentes com polpa necrótica eram resistentes à eritromicina, o mesmo ocorrendo com os isolados obtidos de placa bacteriana subgengival (Gaetti-Jardim Júnior et al., 1996a),⁵¹ mas todos foram sensíveis à clindamicina e lincomicina.

A despeito dessa resistência, Matusow & Goodall (1983)¹⁰³ revelaram que, nos casos de celulite pulpo alveolar em que anaeróbios obrigatórios foram isolados, estes microrganismos estavam associados a anaeróbios facultativos e o uso de eritromicina mostrou-se adequado para a resolução da infecção.

As lincosaminas (clindamicina e lincomicina) são muito ativas frente a anaeróbios, como *Propionibacterium acnes* (Brook, 1987a),²³ *Prevotella melaninogenica*, bastonetes (Panichi et al., 1990;¹²² Wexler et al., 1991)¹⁹⁰ e cocos Gram positivos anaeróbios (Gaetti-Jardim Júnior et al., 1996b;⁵² Panichi et al., 1990;¹²² Woods, 1988),¹⁹⁰ *Prevotella intermedia* e *Fusobacterium nucleatum* (Gaetti-Jardim Júnior et al., 1996a).⁵¹ Entretanto, cepas resistentes à clindamicina têm sido observadas em *B. fragilis* (Panichi et al., 1990),¹²² *Peptostreptococcus* spp. (Wexler et al., 1991),¹⁹⁰ *Veillonella parvula* e *Eubacterium* (Aldridge et al., 1994)² entre outros grupos microbianos.

O perfil de susceptibilidade de microrganismos anaeróbios a antimicrobianos está sofrendo profundas alterações, com a elevação do percentual de cepas do gênero *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas* e *Fusobacterium* a drogas β -lactâmicas, disseminação de resistência à clindamicina e outras drogas freqüentemente utilizadas no tratamento de infecções graves por esses microrganismos como evidenciado por Pankuch et al. (1993).¹²³ Assim, desde

que esses microrganismos representam parcela significativa da microbiota de dentes com polpa necrótica e antimicrobianos são utilizados com grande frequência no tratamento de infecções odontogênicas, é de grande utilidade a realização de testes de susceptibilidade a drogas para esses microrganismos. Nesse estudo, 9% dos isolados de *B. fragilis*, 8% de *Bacteroides* spp. do grupo *B. fragilis*, 6% de *Prevotella bivia*, 20% de *Prevotella buccae*, 18% de *F. nucleatum*, 90% dos *F. varium*, 9% dos *Peptostreptococcus* foram resistentes à clindamicina.

Os isolados de *Actinomyces israelii* se mostraram muito sensíveis à clindamicina e eritromicina (CIM de 0,1 – 1,0µg/ml), no estudo de Barnard et al. (1996).¹² Contudo, da mesma forma que para as drogas β-lactâmicas, observou-se grande diferença entre a concentração bactericida mínima e a concentração inibitória mínima para essas drogas, sugerindo tolerância. Por outro lado, os isolados do gênero *Enterococcus* obtidos de dentes com lesão periapical refratária foram resistentes à clindamicina, enquanto *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae* também foram resistentes à eritromicina, como evidenciado por Vigil et al. (1997).¹⁸¹

Messini et al (1999)¹⁰⁴ relataram que isolados dos gêneros *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Aerococcus*, *Gemella* e *Staphylococcus*, obtidos através de hemocultura em pacientes com problemas mentais submetidos a tratamento odontológico, apresentavam 19% de resistência à eritromicina.

Fosse et al. (1999)⁴⁸ determinaram que todos os isolados periodontais de *Prevotella buccae*, *P. intermedia*, *P. bivia*, *P. disiens*, *P. denticola* mostraram-se sensíveis à clindamicina, metronidazol, imipenem, eritromicina, cefoxitina, cefotaxime e associação amoxicilina/ácido clavulânico.

A resistência de *Staphylococcus epidermidis* a antimicrobianos foi estudada por Sechi et al (1999),¹⁴⁷ revelando 89% de resistência à penicilina G, 21% à meticilina, 32% de resistência a gentamicina, 37% de cepas resistentes à eritromicina e 56% dos microrganismos testados foram resistentes à tetraciclina. Dos isolados testados, 36% foram resistentes a 3 ou mais drogas.

Nessa linha, Von Eiff et al (2000)¹⁸² demonstraram que de 1448 isolados de *Staphylococcus* spp., 16% e 7,7% foram resistentes à eritromicina e clindamicina, respectivamente. Para isolados de *S. epidermidis* a resistência a essas drogas foi de 62,3% e 39,7%, respectivamente, e para *S. haemolyticus* foi de 84% e 40%, limitando sobremaneira a utilização clínica das mesmas.

Dahlén et al. (2000)³⁵ verificaram os isolados de *Enterococcus faecalis* e *E. faecium* obtidos de dentes com polpa necrótica mostravam-se altamente resistentes ao metronidazol, tetraciclina, penicilina G, ampicilina e clindamicina e sensíveis apenas à eritromicina e vancomicina. Esses autores sugerem que a presença de *Enterococcus faecalis* e *E. faecium* resistentes às drogas mais empregadas

em endodontia reforça a necessidade de realização de antibiograma em casos de infecção persistente.

Van Winkelhoff et al. (2000)¹⁸⁰ relataram que a maioria dos gêneros anaeróbios obrigatórios apresentavam poucos isolados resistentes à clindamicina, exceção feita a *Prevotella intermedia*, onde se verificou a ocorrência desse fenômeno em 17,4% dos isolados. Quanto à eritromicina, 20% dos isolados de *B. forsythus* e 77,4% dos isolados de *F. nucleatum* foram resistentes.

As tetraciclinas e derivados constituem um grupo de drogas de amplo espectro de ação largamente utilizadas no passado e para as quais emergiu elevada resistência microbiana.

De acordo com Roberts & Hillier (1990),¹³³ a tetraciclina é o segundo antimicrobiano mais utilizado no mundo, o que tem levado a uma severa e intensa seleção de microrganismos resistentes. Esses autores demonstraram que 79% das cepas do gênero *Peptostreptococcus* apresentavam genes que hibridizavam com algum determinante de resistência a tetraciclina (Tet K, Tet L, Tet M, Tet O), o mesmo ocorrendo com 82% das cepas pertencentes aos estreptococos do grupo viridans, 29% de *Enterococcus faecalis*, 46% dos *Streptococcus* do grupo B, 29% dos isolados de *Fusobacterium nucleatum*, 26% de *Veillonella parvula* e 43 % de *Lactobacillus* spp. isolados de infecções do trato urogenital.

Como verificado por Sutter & Finegold (1976),¹⁶⁷ a resistência à tetraciclina esteve presente em 54% dos isolados de *B. fragilis*, 40% de *Bacteroides* spp. e *Selenomonas* spp., 6% dos bastonetes Gram negativos aneróbios produtores de pigmento negro, 63% dos isolados dos gêneros *Peptococcus* e *Gaffkya*, 28% dos isolados do gênero *Peptostreptococcus*, 10% das cepas de *Streptococcus* spp. microaerófilos e anaeróbios, 27% dos cocos Gram negativos, 23% dos isolados de *Eubacterium* spp., 7% das cepas de *Propionibacterium* spp., 6% dos isolados do gênero *Actinomyces* e 23% dos isolados do gênero *Lactobacillus*.

Segundo Woods (1988),¹⁹⁰ *Enterococcus faecalis* tem se mostrado pouco sensível à maioria dos antimicrobianos utilizados e 59% dos isolados foram resistentes à tetraciclina. Entre *Streptococcus* spp. a tetraciclina mostrou-se pouco eficaz.

Os resultados de Listgarten et al. (1993)⁹⁶ evidenciaram que a resistência de *Prevotella intermedia* à tetraciclina era de 8,89% e em *Fusobacterium* spp. foi de 22,39%. *Enterococcus* sp. e bastonetes entéricos quase sempre se mostraram resistentes à essa droga, sendo que em *S. aureus* essa resistência foi observada em 75% dos isolados, enquanto outras espécies desse gênero mostraram resistência de 81,82%.

Barnard et al. (1996),¹² avaliaram a susceptibilidade de 2 isolados de *Actinomyces israelii* a antimicrobianos,

relatando que as bactérias foram sensíveis à essa droga (CIM de 0,1–1,0µg/ml), embora a concentração bactericida mínima tenha sido muito superior à inibitória mínima, sugerindo tolerância às mesmas.

Dos isolados de *Prevotella intermedia* e de *Peptostreptococcus* sp. obtidos de dentes com polpa necrótica, 5% e 10% foram resistentes à tetraciclina. Todos os isolados de *Fusobacterium nucleatum* foram sensíveis a essa droga, como relatado por Gaetti-Jardim Júnior et al. (1996a).⁵¹ Em 1997, Vigil et al.¹⁸¹ demonstraram a existência de elevada resistência à tetraciclina em estreptococos do grupo viridans e *Clostridium butyricum*.

3 PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

Avaliar o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias anaeróbias obrigatórias e anaeróbias facultativas previamente isoladas de processos infecciosos da cavidade bucal entre 1994 e 2002, procurando verificar a existência de padrões de susceptibilidade a esses fármacos nas diferentes espécies e gêneros microbianos.

4 MATERIAL E MÉTODO

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1. MICRORGANISMOS

Os microrganismos testados foram obtidos de 4 casos de osteomielite crônica da mandíbula, 3 lesões periapicais refratárias ao tratamento endodôntico, 30 infecções endodônticas, 7 casos de periodontite agressiva localizada e 2 casos de periodontite agressiva generalizada.

Os espécimes clínicos envolvendo infecções piogênicas foram coletados através da aspiração do conteúdo séptico com auxílio de seringa Luer esterilizada. As infecções endodônticas e periodontais marginais tiveram seus espécimes clínicos coletados a partir do uso de cone de papel absorvente esterilizado, como descrito por Slots (1982;¹⁵³ 1982)¹⁵⁴ e Gaetti-Jardim Júnior (2001).⁵⁴

Nas osteomielites crônicas supurativas, além do cultivo do conteúdo purulento, procurou-se recuperar o microrganismo das amostras de sequestros ósseos.

O isolamento dos diferentes grupos microbianos e sua identificação foram realizados de acordo com metodologia empregada por Holdeman et al. (1977)⁷⁹ e Holt et al. (1994).⁸⁰ Os isolados, uma vez identificados, foram mantidos em nitrogênio líquido (- 196°C).

4.2. TESTES PARA IDENTIFICAÇÃO MICROBIANA

4.2.1. IDENTIFICAÇÃO PRESUNTIVA

Após o tempo de incubação, foi procedida a observação das colônias características com auxílio do microscópio estereoscópico.

A partir dessas colônias características, foi realizada uma avaliação morfocolonial, morfotintorial (coloração de Gram) e teste da catalase.

Após o desenvolvimento das colônias, foi realizada novamente a coloração de Gram e o teste da catalase, além do teste respiratório para caracterizar estes microrganismos segundo a sensibilidade ao oxigênio atmosférico.

4.2.1.1. CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA

4.2.1.1.1. PRODUÇÃO DA CATALASE (Benett & Duerden, 1985)¹⁶

O teste foi realizado gotejando-se peróxido de hidrogênio a 3% sobre fragmentos de colônias depositados em lâminas de vidro, observando-se a formação de bolhas de gás, indicativas do desdobramento do peróxido em água e oxigênio liberado pela ação da catalase.

4.2.1.1.2. MOTILIDADE, PRODUÇÃO DE H₂S E INDOL (Moore et al., 1984,¹⁶ Bennett & Duerden, 1985)¹⁰⁶

Foram utilizados os meios SULFIDE INDOLE MOTILITY (SIM, Difco) e SIM acrescido de 0,05% de L-

cisteína. Esses foram inoculados e incubados em dissecadores de vidro, em condições de anaerobiose, a 37°C, por 72 horas. O repique foi feito em picada, a fim de permitir a observação da motilidade.

4.2.1.1.3. HIDRÓLISE DA GELATINA (Holdeman et al., 1977;⁷⁹ Sutter et al., 1980;¹⁰⁶ Moore et al., 1984)¹⁶⁹

Foi realizada em meio gelatina nutriente. A leitura foi realizada após 5 dias de incubação em condições de anaerobiose, a 37°C, colocando-se os tubos na temperatura de geladeira (4°C), por um período suficiente para que o controle tomasse a consistência de gel.

4.2.1.1.4. HIDRÓLISE DO AMIDO (Moore et al., 1984)¹⁰⁶

Foi determinada em meio ágar amido. A leitura foi realizada após 72 horas de incubação em condições de anaerobiose a 37°C, gotejando-se solução de lugol sobre o meio, a fim de verificar o aparecimento de um halo transparente ao redor das colônias, indicativo da hidrólise do substrato.

4.2.1.1.5. HIDRÓLISE DA ESCULINA (Holdeman et al., 1977;⁷⁹ Moore et al., 1984)¹⁰⁶

As cepas foram testadas em caldo esculina e incubadas em condições de anaerobiose, a 37°C, por 7 dias. A hidrólise da esculina foi observada pelo desenvolvimento de cor negra no meio.

4.2.1.1.6. ATIVIDADE HEMOLÍTICA (Moore et al., 1984)¹⁰⁶

Foi testada em meio base ágar de soja-tripticaseína (Difco), suplementado com 0,5% de extrato de levedura e enriquecido com 5% de sangue desfibrinado de carneiro. A leitura foi realizada após 72 horas de cultivo, para observação ou não da produção de zonas de hemólise.

4.2.1.1.7. PRODUÇÃO DE GÁS (Moore et al., 1984)¹⁰⁶

Foi empregado o meio básico peptona-extrato de levedura (PY) acrescido de 1% de glicose, com tubos de Durham. Os tubos foram incubados em condições de anaerobiose, a 37°C por 72 horas. A leitura foi realizada a fim de observar bolhas de gás nos tubos de Durham.

4.2.2. IDENTIFICAÇÃO DEFINITIVA**4.2.2.1. FERMENTAÇÃO DE CARBOIDRATOS (Holdeman et al., 1977;⁷⁹ Slots, 1982;¹⁵³ 1982;¹⁵⁴ Slots & Potts, 1982;¹⁵⁵ Slots et al., 1983;¹⁵⁶ Moore et al., 1984)¹⁰⁶**

Foi utilizado o meio básico peptona-extrato de levedura (PY), segundo Holdeman et al. (1977).⁷⁹ O preparo do inóculo foi realizado de acordo com Socransky et al. (1979).¹⁵⁸

As soluções de carboidratos (amido, esculina, frutose, galactose, glicose, lactose, maltose, manose, sacarose e xilose) foram preparadas em água destilada, na concentração de 10%, e esterilizadas em autoclave, a 115°C, por 10 minutos.

Os tubos-teste, juntamente com o controle (sem solução de carboidrato e inoculado), foram incubados em

condições de anaerobiose pela mistura gasosa, a 37°C, por 72 horas. O pH final foi determinado em potenciômetro, comparando-se os índices de acidificação nos meios com carboidratos e inoculados com aqueles controles.

Uma diferença de pH $\geq 0,7$ U no meio com carboidrato e inoculado, foi considerada uma fermentação forte; uma alteração maior do que 0,3 U e menor do que 0,7 U foi considerada uma fermentação fraca; e uma diferença de pH $\leq 0,3$ U indicou ausência de fermentação (Slots, 1982).¹⁵³

Os isolados foram então recuperados dos meios de preservação em nitrogênio e submetidos aos testes de susceptibilidade. Desta forma, o presente estudo configurou-se como uma pesquisa realizada unicamente “in vitro”, com material e cepas de estoque do laboratório.

4.3. AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE A DROGAS ANTIMICROBIANAS

4.3.1. MÉTODO

Empregando-se o método de diluição em ágar, descrito por Suter et al. (1979),¹⁶⁸ foi determinada a concentração inibitória mínima (CIM).

4.3.2. MEIO DE CULTURA

Foi utilizado o ágar infuso cérebro-coração-BHI (Difco) suplementado com 0,5% de extrato de levedura e sangue desfibrinado de cavalo (5%), o qual é mantido no

estoque de biomateriais da disciplina e fornecido, gentilmente, pela Faculdade de Medicina Veterinária do Câmpus de Araçatuba – UNESP.

4.3.3. ANTIMICROBIANOS

Foram empregados os seguintes antimicrobianos: ampicilina, amoxicilina, cefoxitina, imipenem, amoxicilina/ácido clavulânico, eritromicina, lincomicina, clindamicina, metronidazol, penicilina G, penicilina V e tetraciclina.

4.3.4. INÓCULO

A partir de uma cultura de 72 horas em meio ágar sangue, uma colônia foi repicada para um tubo contendo 5 ml de caldo BHI suplementado com extrato de levedura (0,5%), incubado em dessecadores de vidro, em condições de anaerobiose, a 37° C, por 48 horas.

Após esse tempo de incubação, os tubos com crescimento bacteriano foram submetidos à agitação em Vortex (Fanen Ltda) por 30 segundos, para dispersão das células.

Assim, pela escala de MacFarland foram comparadas a turbidez desses tubos, atingindo-se o grau 0.5 da escala, com aproximadamente 5×10^8 células/ml. Padronizado o inóculo bacteriano, alíquotas foram transferidas para os meios de cultura, em duplicata, com o auxílio do replicador de Steers (Cefar Ltda., SP, Brasil), depositando-se aproximadamente 10^5 células/ “spot” (Fig. 1).

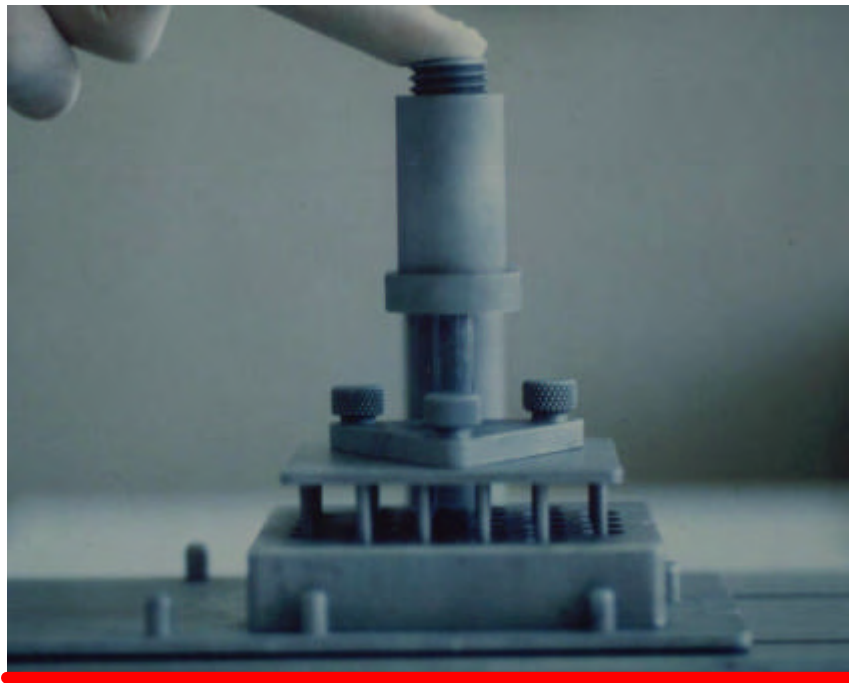


Figura 1	Inoculação através do replicador de Steers.
----------	---

4.3.5. SOLUÇÕES ESTOQUES DOS AGENTES ANTIMICROBIANOS

No mesmo dia do teste, as soluções-estoques de cada antimicrobiano (10 mg/ml) foram preparadas em água destilada esterilizada e, esterilizadas por filtração (filtros Millipore 0,25 μm). Alíquotas foram transferidas para os meios de cultivo para se atingir as concentrações desejadas (0,125 $\mu\text{g/ml}$ até 256 $\mu\text{g/ml}$). Os meios de cultura foram preparados no dia da realização dos testes.

4.3.6. INCUBAÇÃO

Em condições de anaerobiose, a 37°C, as placas inoculadas em duplicatas foram incubadas em dissecadores de vidro do tipo “Pirex”, por 48 horas.

Foram empregadas as cepas de referência *Fusobacterium nucleatum* ATCC 10953, *Bacteroides fragilis* ATCC 23745 e *Eubacterium lentum* ATCC 25559, incubadas nas mesmas condições das cepas-teste, como controle dos testes de susceptibilidade aos antimicrobianos.

Para verificação da viabilidade celular bacteriana e de contaminação, foram inoculados meios de cultura sem droga no início e no final do processo de inoculação, em todos os testes.

4.3.7. LEITURA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

A leitura foi realizada 48 horas após a incubação, para se verificar a inibição ou não do crescimento microbiano nas placas com antimicrobianos (controle), capaz de inibir, completamente, o crescimento macroscópico bacteriano (Fig. 2).

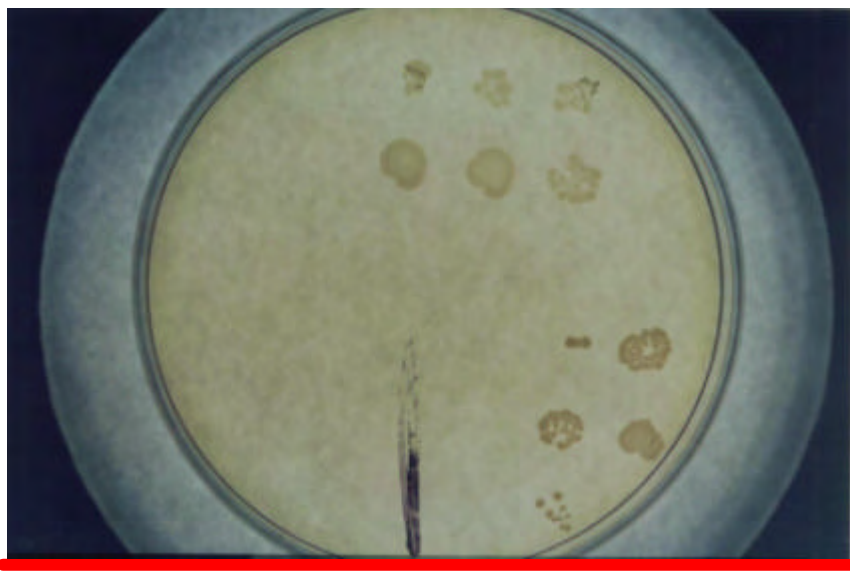


Figura 2	Análise do crescimento microbiano em placas contendo ágar infuso de cérebro coração suplementado com extrato de levedura, acrescido de antimicrobiano.
----------	--

4.4. VERIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO DE BETA-LACTAMASES

As cepas que se mostraram resistentes a pelo menos um dos antimicrobianos beta-lactâmicos utilizados (ampicilina, amoxicilina, eritromocina, amoxicilina/ácido clavulânico, cefoxitina, imipenem, penicilina G e penicilina V) foram submetidas a testes para verificar a produção de enzimas capazes de inativar essas drogas (beta-lactamases).

O método de revelação foi o utilizado. Foi empregada a cepa *S. aureus* 1060-1/93, como controle positivo, isolada e caracterizada no Instituto Dante Pazzanesi (SP, Brasil), e reconhecida como produtora de beta-lactamase. E como controle negativo foi utilizado o *S. aureus* ATCC 25923.

Como reveladora foi utilizada a cepa *Streptococcus pyogenes* que é sensível a todos os beta-lactâmicos testados.

4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados numéricos foram analisados estatisticamente utilizando-se o teste de Fisher.

5 RESULTADO

5 RESULTADO

Os resultados apresentados na Tabela 1 evidenciam que os isolados do gênero *Streptococcus* possuem níveis variados de resistência às penicilinas, clindamicina, eritromicina e tetraciclina, e elevado ao metronidazol. Somente a cefoxitina, imipenem, lincomicina e a associação amoxicilina/ácido clavulânico foram eficazes frente a todos os isolados.

Quanto aos isolados do gênero *Peptostreptococcus* (Tabela 2), apenas observou-se resistência às penicilinas e tetraciclina. Entretanto, um isolado somente foi inibido pelo metronidazol, eritromicina e pela clindamicina na concentração equivalente ao ponto crítico (“break-point”) para essas drogas.

Os anaeróbios Gram negativos do gênero *Prevotella* (Tabela 3) evidenciaram notável resistência à eritromicina, tetraciclina e aos β -lactâmicos, à exceção da cefoxitina, imipenem e associação amoxicilina/ácido clavulânico, e grande sensibilidade ao metronidazol.

Tabela 1 – Susceptibilidade de 20 isolados do gênero *Streptococcus* a 12 antimicrobianos ou associações.

DROGA	CIM ¹ (µg/ml)			
	Variação	CIM ² ₅₀	CIM ³ ₉₀	R ⁴ (%)
Ampicilina	≤ 0,125 – 128	2	4	10,0
Amoxicilina	≤ 0,125 – 128	2	8,0	10,0
Cefoxitina	≤ 0,125 – 16	0,25	4	0,0
Clindamicina	≤ 0,125 – 32	0,5	2,0	5,0
Eritromicina	≤ 0,125 – 32	0,50	32	15,0
Imipenem	≤ 0,125 – 4	≤ 0,125	0,25	0,0
Lincomicina	≤ 0,125 – 16	0,25	8,0	0,0
Metronidazol	4 – 512	64	256	70,0
Penicilina G	≤ 0,125 – 512	8	64	10,0
Penicilina V	≤ 0,125 – 512	4	32	10,0
Tetraciclina	≤ 0,125 – 256	1	2	5,0
Amoxicilina/ Ac. Clavulânico	≤ 0,125 – 4	≤ 0,125	0,5	0,0

¹Concentração inibitória mínima

²CIM₅₀: concentração do antimicrobiano capaz de inibir 50% dos microrganismos testados.

³CIM₉₀: concentração capaz de inibir 90% dos microrganismos testados.

⁴Resistência à droga.

Pontos críticos adotados (µg/ml): Ampicilina, 16, Amoxicilina, 16, Cefoxitina, 32, Clindamicina, 4, Eritromicina, 16, Imipenem, 8, Lincomicina, 16, Metronidazol, 16, Penicilina G, 16, Penicilina V, 16, Tetraciclina, 8, Ácido Clavulânico/Amoxilina, 16.

Tabela 2 – Susceptibilidade de 8 isolados do gênero *Peptostreptococcus* a 12 antimicrobianos ou associações.

DROGA	CIM ¹ (µg/ml)			
	Variação	CIM ² ₅₀	CIM ³ ₉₀	R ⁴ (%)
Ampicilina	≤ 0,125 – 128	≤ 0,125	128	12,5
Amoxicilina	≤ 0,125 – 64	≤ 0,125	64	12,5
Cefoxitina	≤ 0,125 – 4	≤ 0,125	4	0,0
Clindamicina	≤ 0,125 – 4	≤ 0,125	4	0,0
Eritromicina	≤ 0,125 – 16	0,5	16	0,0
Imipenem	≤ 0,125 – 1	≤ 0,125	1	0,0
Lincomicina	≤ 0,125 – 4	≤ 0,125	4	0,0
Metronidazol	≤ 0,125 – 16	0,5	16	0,0
Penicilina G	≤ 0,125 – 64	≤ 0,125	64	12,5
Penicilina V	≤ 0,125 – 128	≤ 0,125	128	12,5
Tetraciclina	≤ 0,125 – 64	0,5	64	12,5
Amoxicilina/ Ac. Clavulânico	≤ 0,125 – 1	≤ 0,125	1	0,0

¹Concentração inibitória mínima

²CIM₅₀: concentração do antimicrobiano capaz de inibir 50% dos microrganismos testados.

³CIM₉₀: concentração capaz de inibir 90% dos microrganismos testados.

⁴Resistência à droga.

Pontos críticos adotados (µg/ml): Ampicilina, 16, Amoxicilina, 16, Cefoxitina, 32, Clindamicina, 4, Eritromicina, 16, Imipenem, 8, Lincomicina, 16, Metronidazol, 16, Penicilina G, 16, Penicilina V, 16, Tetraciclina, 8, Ácido Clavulânico/Amoxicilina, 16.

Tabela 3 – Susceptibilidade de 11 isolados do gênero *Prevotella* a 12 antimicrobianos ou associações.

DROGA	CIM ¹ (µg/ml)			
	Variação	CIM ² ₅₀	CIM ³ ₉₀	R ⁴ (%)
Ampicilina	≤ 0,125 – 256	1	32	27,27
Amoxicilina	≤ 0,125 – 128	2	32	27,27
Cefoxitina	≤ 0,125 – 16	0,5	4	0,0
Clindamicina	≤ 0,125 – 1	≤ 0,125	1	0,0
Eritromicina	≤ 0,125 – 64	1	32	27,27
Imipenem	≤ 0,125 – 2	≤ 0,125	1	0,0
Lincomicina	≤ 0,125 – 8	≤ 0,125	4	0,0
Metronidazol	≤ 0,125 – 4	≤ 0,125	0,5	0,0
Penicilina G	≤ 0,125 – 256	2	128	27,27
Penicilina V	≤ 0,125 – 256	4	128	27,27
Tetraciclina	≤ 0,125 – 64	≤ 0,125		0,0
Amoxicilina/ Ac. Clavulânico	≤ 0,125 – 8	≤ 0,125	8	9,09

¹Concentração inibitória mínima

²CIM₅₀: concentração do antimicrobiano capaz de inibir 50% dos microrganismos testados.

³CIM₉₀: concentração capaz de inibir 90% dos microrganismos testados.

⁴Resistência à droga.

Pontos críticos adotados (µg/ml): Ampicilina, 16, Amoxicilina, 16, Cefoxitina, 32, Clindamicina, 4, Eritromicina, 16, Imipenem, 8, Lincomicina, 16, Metronidazol, 16, Penicilina G, 16, Penicilina V, 16, Tetraciclina, 8, Ácido Clavulânico/Amoxicilina, 16.

Para o gênero *Staphylococcus* (Tabela 4) não foi possível estabelecer um perfil de susceptibilidade, com exceção da resistência natural frente ao metronidazol. Nesse gênero, cada isolado testado possui um padrão de susceptibilidade. Resistência foi observada até para a associação amoxilina/ácido clavulânico. A única droga para a qual todos os isolados foram sensíveis foi o imipenem.

Os anaeróbios da espécie *Fusobacterium nucleatum* (Tabela 5) mostraram resistência principalmente as penicilinas G e V e eritromicina. Um único isolado foi resistente a tetraciclina e outro a ampicilina. Entre as demais drogas, a cefoxitina, lincomicina e metronidazol foram mais eficazes.

A Tabela 6 apresenta os resultados referentes a *Bacteroides fragilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, isolados dos gêneros *Eubacterium* e *Actinomyces* e dos Bastonetes Gram positivos anaeróbios. Pela heterogeneidade dos microrganismos não pode-se detalhar a existência de um padrão de susceptibilidade desses isolados, com exceção da resistência elevada ao metronidazol entre todos os grupos microbianos listado, excetuando-se *Bacteroides fragilis* e *Eubacterium* spp.

A produção de β -lactamase (Tabela 7) mostrou ser o principal mecanismo de resistência aos β -lactâmicos, sendo que as β -lactamases foram passíveis de inibição pelo ácido clavulânico.

Tabela 4 – Susceptibilidade de 38 isolados do gênero *Staphylococcus* a 12 antimicrobianos ou associações.

DROGA	CIM ¹ (µg/ml)			
	Variação	CIM ² ₅₀	CIM ³ ₉₀	R ⁴ (%)
Ampicilina	≤ 0,125 – >512	2	256	34,21
Amoxicilina	≤ 0,125 – >512	2	512	34,21
Cefoxitina	≤ 0,125 – 256	4	128	15,79
Clindamicina	≤ 0,125 – 32	2	16	28,95
Eritromicina	0,25 – >512	4	32	10,53
Imipenem	≤ 0,125 – 8	1	4	0,0
Lincomicina	0,25 – 128	1	32	10,56
Metronidazol	128 – >512	252	> 512	100,0
Penicilina G	≤ 0,125 – >512	4	256	34,21
Penicilina V	≤ 0,125 – >512	4	256	34,21
Tetraciclina	0,5 – 128	2	16	7,89
Amoxicilina/ Ac. Clavulânico	≤ 0,125 – 128	0,5	1,0	5,26

¹Concentração inibitória mínima

²CIM₅₀: concentração do antimicrobiano capaz de inibir 50% dos microrganismos testados.

³CIM₉₀: concentração capaz de inibir 90% dos microrganismos testados.

⁴Resistência à droga.

Pontos críticos adotados (µg/ml): Ampicilina, 16, Amoxicilina, 16, Cefoxitina, 32, Clindamicina, 4, Eritromicina, 16, Imipenem, 8, Lincomicina, 16, Metronidazol, 16, Penicilina G, 16, Penicilina V, 16, Tetraciclina, 8, Ácido Clavulânico/Amoxilina, 16.

Tabela 5 – Susceptibilidade de 20 isolados de *Fusobacterium nucleatum* a 12 antimicrobianos ou associações.

DROGA	CIM ¹ (µg/ml)			
	Variação	CIM ² ₅₀	CIM ³ ₉₀	R ⁴ (%)
Ampicilina	≤ 0,125 – 32	0,25	8	5,0
Amoxicilina	≤ 0,125 – 16	≤ 0,125	8	0,0
Cefoxitina	≤ 0,125 – 16	0,25	2	0,0
Clindamicina	≤ 0,125 – 1	≤ 0,125	1	0,0
Eritromicina	1 – 256	8	128	35
Imipenem	≤ 0,125 – 8	≤ 0,125	2	0,0
Lincomicina	≤ 0,125 – 4	≤ 0,125	0,5	0,0
Metronidazol	≤ 0,125 – 2	≤ 0,125	0,5	0,0
Penicilina G	≤ 0,125 – 64	0,25	32	15
Penicilina V	≤ 0,125 – 32	0,25	32	15
Tetraciclina	≤ 0,125 – 32	0,25	8	5,0
Amoxicilina/ Ac. Clavulânico	≤ 0,125 – 2	≤ 0,125	0,5	0,0

¹Concentração inibitória mínima

²CIM₅₀: concentração do antimicrobiano capaz de inibir 50% dos microrganismos testados.

³CIM₉₀: concentração capaz de inibir 90% dos microrganismos testados.

⁴Resistência à droga.

Pontos críticos adotados (µg/ml): Ampicilina, 16, Amoxicilina, 16, Cefoxitina, 32, Clindamicina, 4, Eritromicina, 16, Imipenem, 8, Lincomicina, 16, Metronidazol, 16, Penicilina G, 16, Penicilina V, 16, Tetraciclina, 8, Ácido Clavulânico/Amoxilina, 16.

Tabela 6 – Susceptibilidade de 17 isolados do gênero *Actinomyces*, 1 isolado de *Bacteroides fragilis*, 9 de *Eubacterium* spp., 2 isolados de *Enterococcus faecalis*, 2 isolados de *Pseudomonas aeruginosa*, 7 bastonetes anaeróbios Gram positivos a 12 antimicrobianos ou associações.

DROGA	CIM ¹ (µg/ml)			
	Variação	CIM ² ₅₀	CIM ³ ₉₀	R ⁴ (%)
Ampicilina	≤ 0,125 – >512	4	128	15,79 (6)
Amoxicilina	≤ 0,125 – >512	4	64	15,79 (6)
Cefoxitina	≤ 0,125 – 32	1	16	7,89 (3)
Clindamicina	≤ 0,125 – 128	1	8	13,16 (3)
Eritromicina	≤ 0,125 – 256	2	256	13,16 (3)
Imipenem	≤ 0,125 – 32	0,5	4	5,26 (2)
Lincomicina	≤ 0,125 – 256	1	256	13,16 (3)
Metronidazol	64 – >512	64	> 512	52,63
Penicilina G	≤ 0,125 – >512	4	128	15,79
Penicilina V	≤ 0,125 – >512	4	128	15,79
Tetraciclina	≤ 0,125 – 256	1	128	21,05
Amoxicilina/ Ac. Clavulânico	≤ 0,125 – >512	0,5	4	10,56 (4)

¹Concentração inibitória mínima

²CIM₅₀: concentração do antimicrobiano capaz de inibir 50% dos microrganismos testados.

³CIM₉₀: concentração capaz de inibir 90% dos microrganismos testados.

⁴Resistência à droga.

Pontos críticos adotados (µg/ml): Ampicilina, 16, Amoxicilina, 16, Cefoxitina, 32, Clindamicina, 4, Eritromicina, 16, Imipenem, 8, Lincomicina, 16, Metronidazol, 16, Penicilina G, 16, Penicilina V, 16, Tetraciclina, 8, Ácido Clavulânico/Amoxicilina, 16.

Tabela 7 – Produção de β -lactamases por microrganismos isolados de dentes com polpa necrótica, resistentes aos β -lactâmicos.

Microrganismos resistentes (Nº)	Atividade de β-lactamases Nº (%)
Streptococcus spp. (3)	3 (100,0)
Peptostreptococcus spp. (1)	1 (100,0)
Prevotella intermedia nigrescens (3)	3 (100,0)
Staphylococcus spp. (17)	12 (70,59)
Fusobacterium nucleatum (4)	4 (100,0)
Actinomyces spp. (2)	2 (100,0)
E. faecalis (2)	1 (50,0)
P. aeruginosa (2)	0 (00,0)
BGPA ¹ (1)	1 (100,0)
TOTAL (35)	26 (74,29)

¹Bastonetes Gram positivos anaeróbios.

Tabela 8 – Identificação dos microrganismos utilizados nos testes de susceptibilidade.

Microrganismos	Número de isolados testados
<i>Streptococcus milleri</i>	5
<i>Streptococcus sanguis</i>	5
<i>Streptococcus pyogenes</i>	4
<i>Streptococcus salivarius</i>	6
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	20
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	3
<i>Peptostreptococcus micros</i>	2
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	5
<i>Prevotella intermedia-nigrescens</i>	9
<i>Prevotella</i> sp.	2
<i>Eubacterium lentum</i>	2
<i>Eubacterium nodatum</i>	2
<i>Eubacterium</i> sp.	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	24
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	13
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	2
<i>Bacteroides fragilis</i>	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2
<i>Actinomyces israelii</i>	7
<i>Actinomyces viscosus</i>	3
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	5
<i>Actinomyces meyeri</i>	5
B.G.P.A.	7

¹Bastonetes Gram positivos anaeróbios.

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Em Odontologia, o emprego de antimicrobianos está associado à prevenção da endocardite séptica, ou disseminação do processo infeccioso, particularmente em pacientes imunocomprometidos ou debilitados, e como coadjuvantes do tratamento.

As drogas antimicrobianas utilizadas nos testes de susceptibilidade foram selecionadas por serem amplamente empregadas em Medicina, Odontologia ou para o tratamento de infecções por anaeróbios. Segundo Finegold (1990),⁴⁶ nos testes de susceptibilidade de microrganismos isolados de infecções anaeróbias mistas, deve-se empregar penicilina G, cefoxitina e clindamicina, metronidazol, imipenem e uma associação entre droga β -lactâmica e um inibidor de β -lactamases.

Na determinação da concentração inibitória mínima dos antibióticos e quimioterápicos com atividade antimicrobiana, foram selecionados os principais microrganismos isolados, desde que é problemática a realização desses testes para todas as bactérias, particularmente para as espécies raramente envolvidas em processos infecciosos.

Dentre as drogas mais empregadas em Odontologia, merece destaque o grupo dos β -lactâmicos. Entretanto, a resistência bacteriana pode vir a reduzir a utilidade dessas drogas, em especial os fármacos mais empregados, como amoxicilina e penicilina V.

O método da dupla camada empregado para se verificar a produção de β -lactamases é de fácil execução e pode detectar os variados tipos exportáveis dessas enzimas, dependendo do substrato do teste (penicilina, cefalosporina, monobactâmico ou carbapenêmico) e da cepa resistente a ser testada.

Entre os estreptococos a maioria dos isolados resistentes a uma penicilina também o é para as demais penicilinas. Não se observou resistência à cefalosporina e ao imipenem. A resistência elevada observada nesses cocos à amoxilina, ampicilina e à penicilina G e V contrasta com os resultados de Sutter & Finegold (1976),¹⁶⁷ Pacini et al. (1997),¹¹⁹ Vigil et al. (1997)¹⁸¹ e Jasir et al. (2000),⁸⁵ que observaram grande sensibilidade a essas drogas.

A resistência à amoxicilina, ampicilina e penicilina G e V também mostrou-se proeminente entre isolados dos gêneros *Peptostreptococcus*, *Prevotella*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus* e *Actinomyces* e a espécie *Fusobacterium nucleatum* pode limitar o emprego dessas drogas em função da importância que esses microrganismos possuem nas infecções bucais. A sensibilidade dos anaeróbios

às penicilinas mostrou-se similar aos resultados de Sutter & Finegold (1976),¹⁶⁷ Gaetti-Jardim Júnior et al. (1996a)⁵¹ e Gaetti-Jardim Júnior et al. (1996b),⁵² evidenciando menor resistência do que relatado por Clark et al. (1992)³⁰ e Bernal et al. (1998),¹⁷ porém maior do que a observada por Goldstein et al. (2002).⁶⁵

Com exceção de 2 isolados de *Enterococcus faecalis* e 1 isolado de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a todos os β -lactâmicos testados, incluindo-se o imipenem e a associação amoxicilina/ácido clavulânico, e 2 isolados de *S. aureus*, resistentes à associação β -lactâmico/inibidor de β -lactamase, todos os microrganismos resistentes às penicilina e cefoxitina foram sensíveis à essa associação de drogas e ao carbapenêmico testado. Deve-se frisar, que, pelo menos para alguns desses microrganismos, como *Pseudomonas aeruginosa*, a despeito da elevada resistência aos β -lactâmicos (Di Martino et al., 2002;³⁹ Gaetti-Jardim Júnior, 2001),⁵⁴ parece existir uma nítida correlação entre a população dessas enzimas e um fenótipo menos virulento “in vitro” (Di Martino et al., 2002),³⁹ sugerindo que esse mecanismo de proteção somente constitui vantagem ecológica na presença de pressões seletivas representadas pela presença da droga (Gaetti-Jardim Júnior et al., 2002).⁵⁵

A sensibilidade de isolados do gênero *Enterococcus* às penicilinas, como relatado na literatura, é controversa. Os resultados do presente estudo, bem como os relatados por

Woods (1988)¹⁹⁰ e Garcia-Garrote et al. (2000),⁵⁷ revelaram elevada resistência desses cocos a todas as penicilinas testadas e, em menor extensão, cefoxitina, enquanto Vigil et al. (1997)¹⁸¹ relataram que esses cocos eram sensíveis à penicilina G.

O aumento da resistência do gênero *Prevotella* e *Fusobacterium nucleatum* às penicilinas está de acordo com a literatura (Fosse et al., 1999;⁴⁸ Gaetti-Jardim Júnior et al., 1996^a;⁵¹ Piriz-Duran et al., 1990;¹²⁸ Van Winkelhoff et al., 2000),¹⁸⁰ sendo que esses isolados não mostraram resistência à cefoxitina. Desta forma, por vezes as infecções orofaciais têm se mostrado difíceis de tratar com as penicilinas, levando o clínico, em caso de falhas com essas drogas, a utilizar outros fármacos, particularmente cefoxitina e clindamicina.⁶⁹

A elevada resistência às cefalosporinas, como evidenciado por Sutter & Finegold (1976),¹⁶⁷ não foi observada no presente estudo. Nesse sentido, a efetividade da cefoxitina sobre a maioria dos microrganismos resistentes às penicilinas está de acordo com Woods (1988),¹⁹⁰ Finegold (1990),⁴⁶ Panichi et al. (1990)¹²² e Gaetti-Jardim Júnior et al. (1996b).⁵² Entretanto, alguns isolados de *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* foram resistentes a essa droga.

A produção de cefalosporinases, característica freqüente em *Bacteroides fragilis* e outros anaeróbios Gram negativos, não constituiu fenômeno comum entre os isolados do presente estudo, sendo que a grande maioria das β -

lactamases se mostraram mais ativas sobre as penicilinas, mesmo entre os anaeróbios Gram negativos, como outrora demonstrado por Tunér et al. (1985),¹⁷⁴ Appelbaum et al. (1990)⁵ e Gaetti-Jardim Júnior et al. (1996b).⁵²

Em isolados de *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus* ficou evidente a existência de cepas produtoras de β -lactamases não passíveis de inibição pelo ácido clavulânico como também observado para enterobactérias (Vakulenko & Golemi, 2002)¹⁷⁶ e, entre os enterococos, a produção de β -lactamases capazes de degradar imipenem, o que não foi demonstrado nos outros microrganismos testados. Esses últimos β -lactâmicos possuem o maior espectro de ação entre as drogas desse grupo e normalmente são ativos mesmo frente a microrganismos produtores de β -lactamases não passíveis de inibição pelo ácido clavulânico (Bellais et al., 2002).¹⁵

Segundo Cornaglia et al. (1995),³¹ os elevados níveis de atividade dos carbapenêmicos, como o imipenem, sobre bactérias Gram negativas reside na grande afinidade que essas drogas possuem pelas proteínas de ligação à penicilina (PLPs), na resistência à hidrólise por β -lactamases e pela permeabilidade que as membranas externas dessas bactérias têm a esse grupo de drogas.

Embora existam estudos sobre a atividade de enzimas bacterianas capazes de degradar carbapenêmicos (Nordman et al., 1993),¹¹⁵ a ocorrência desse fenômeno na

microbiota isolada de infecções de cabeça e pescoço não parece ser elevada, o que concorda com os resultados apresentados.

Bou et al. (2000)²² relataram que a resistência ao imipenem pode estar relacionada à produção de 4 classes de β -lactamases e pela perda ou diminuição do número de porinas na membrana externa, sendo possível que esse último mecanismo seja responsável pela resistência de um isolado de *Pseudomonas aeruginosa* que não se mostrou produtor de β -lactamases e também foi resistente aos demais β -lactâmicos, tetraciclina, lincomicina e eritromicina. A resistência aos carbapenêmicos pode se apresentar com resultado de alterações no sítio de ação dessas drogas, ou seja, na afinidade das PLPs³.

Pelo resultado do presente estudo, como também observado por Gaetti-Jardim Júnior et al. (1996a;⁵¹ 1996b),⁵² é pouco freqüente o isolamento de microrganismos resistentes aos carbapenêmicos, como o imipenem. Nesse sentido, essa droga normalmente se mostra eficaz frente aos microrganismos resistentes às penicilinas e cefalosporinas (Critchley et al., 2002;³³ Pankuch et al., 2002),¹²⁴ o que os torna boa indicação para o tratamento de infecções odontogênicas em ambiente hospitalar, já que existe consenso de que esses fármacos devem ser de uso restrito para limitar a seleção de microrganismos resistentes.

Como relatou Brook (1987),²³ a ocorrência de bactérias produtoras de β -lactamases ou outras enzimas inativadoras de antimicrobianos pode, em comunidades fechadas, como as observadas na região periapical, proteger microrganismos sensíveis, à semelhança do que ocorre no método da revelação para detecção de β -lactamases.

Os resultados do presente estudo confirmam que a produção dessas enzimas é o principal mecanismo de resistência aos β -lactâmicos, visto que os níveis de resistência à associação amoxicilina/ácido clavulânico foram nitidamente inferiores ao observado para a penicilina G, penicilina V, ampicilina e amoxicilina, como também observado por Van Winkelhoff et al. (2000)¹⁸⁰ e Gaetti-Jardim Júnior (2001),⁵⁴ de forma que essa associação (β -lactâmico/inibidor de β -lactamase) vem ganhando notoriedade e vem se mostrando uma alternativa viável no tratamento de microrganismos multiresistentes (Spanu et al., 2002).¹⁶¹

De acordo com Pankuch et al. (1993),¹²⁴ a produção de β -lactamases por anaeróbios Gram negativos parece ser um fenômeno mais freqüente do que a produção dessas enzimas por bactérias anaeróbias Gram positivas, uma vez que esses autores verificaram a produção dessas enzimas em 97% das cepas de *Bacteroides fragilis*, 90% de cepas de *Bacteroides* não pertencentes ao grupo de *Bacteroides fragilis*, *Prevotella* spp. e *Porphyromonas* spp., e 52% das fusobactérias, mas não entre os isolados dos gêneros *Actinomyces*, *Lactobacillus*,

Clostridium, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium* e *Bifidobacterium*. Os resultados da tabela 7 não confirmam essa observação, sendo que os isolados Gram positivos e Gram negativos não mostraram diferenças significativas quanto à presença dessas enzimas e fica claro que a produção dessas enzimas não parece estar associada ao tipo respiratório do microorganismo, embora tenha ocorrido com maior frequência entre os anaeróbios facultativos, notadamente do gênero *Staphylococcus*.

Alguns isolados resistentes aos β -lactâmicos não se mostraram produtores de β -lactamases e, possivelmente, essa resistência está associada a alterações de permeabilidade da membrana externa de bactérias Gram negativas e/ou diminuição de afinidade das proteínas de ligação da penicilina (PLPs) a essas drogas. Entretanto, pode-se ter, também, uma associação desses mecanismos com pequenos níveis de produção de β -lactamases, indetectáveis pelo método empregado.⁶⁰

A produção de cefalosporinases e penicilinases não significa, necessariamente, que o microorganismo é resistente a essas drogas, uma vez que também deve-se levar em consideração a afinidade dessas enzimas pelo seu substrato e os níveis de produção das mesmas. Como a produção ou atividade de β -lactamases somente foi avaliada em isolados que se mostraram resistentes a esses fármacos, é provável que alguns resultados subestimem a real ocorrência dessas

enzimas na microbiota, uma vez que Finegold (1990),⁴⁶ Legg & Wilson (1990),⁹⁴ Appelbaum et al. (1990),⁵ Clark et al. (1992),³⁰ Van Winkelhoff et al. (1997)¹⁷⁹ e Fosse et al. (1999),⁴⁸ demonstraram que essa característica é freqüente em microrganismos bucais ou associados a infecções oportunistas, mesmo que não resistentes a essas drogas.

A existência de microrganismos resistentes à associação amoxicilina/ácido clavulânico, entre *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Pseudomonas aeruginosa*, também foi descrita para membros da microbiota autóctone da cavidade bucal, como os gêneros *Prevotella*, *Porphyromonas* (Appelbaum et al., 1992;⁷ Finegold, 1977)⁴⁵ e *Fusobacterium nucleatum* (Sbordone et al., 1995).¹⁴⁵ No presente estudo, todos os anaeróbios obrigatórios das espécies mais freqüentemente isoladas de processos infecciosos de cabeça e pescoço foram sensíveis a essa associação, como também relatado por Legg & Wilson (1990),⁹⁴ Herrera et al. (2000),⁷⁷ Kleinfelder et al. (2000)⁸⁹ e Gaetti-Jardim Júnior (2001).⁵⁴

Esses níveis de resistência aos β -lactâmicos, particularmente as penicilinas, limita o seu emprego como única droga em infecções em que o tratamento se apoia, quase exclusivamente, no uso de fármacos. Como alternativa, pode-se propor associação desses antimicrobianos como inibidores de β -lactamases ou o próprio metronidazol, o qual apresenta notável ação sinérgica (Brook, 1987),²³ ou a sua substituição

por outras drogas como a clindamicina e os novos macrolídeos, embora esses últimos não tenham sido testados no presente estudo.

A resistência ao metronidazol somente foi observada em anaeróbios facultativos, como também relatado por Narikawa (1986).¹¹¹ Contudo, Sutter & Finegold (1976),¹⁶⁷ Listgarten et al. (1993),⁹⁶ Sbordone et al. (1995)¹⁴⁵ e Van Winkelhoff et al. (2000)¹⁸⁰ demonstraram a existência de cepas resistentes a esse quimioterápico nos gêneros *Selenomonas*, *Bacteroides*, particularmente *Bacteroides fragilis*, *Prevotella* e *Porphyromonas*, os quais, geralmente, são extremamente sensíveis (Gaetti-Jardim Júnior et al., 1996ab;^{51,52} Panichi et al., 1990;¹²² Pankuch et al 1993).¹²³ No presente estudo (Tabela 2), o único isolado de *Peptostreptococcus micros* somente foi sensível a esse fármaco na concentração referente ao ponto crítico para a droga (16 µg/ml).

Entre os anaeróbios facultativos a resistência a esse nitroimidazol é quase universal (Dahlén et al., 2000;³⁵ Listgarten et al., 1993).⁹⁶ Como o metronidazol, para ser convertido em sua forma ativa, precisa sofrer a redução de seu grupo nitro, o que se dá pela transferência de elétrons pela ação da enzima piruvato ferredoxina óxido-redutase, que não é encontrada em anaeróbios facultativos (Narikawa, 1986),¹¹¹ sua atividade sobre esses microrganismos é pouco significativa. Assim, nos anaeróbios facultativos a resistência a esse

fármaco é constitutiva e reflete uma característica do metabolismo primário.

Entre os anaeróbios obrigatórios, a resistência a esse quimioterápico está associada à diminuição da capacidade microbiana de reduzir a droga até sua forma ativa e à redução de sua absorção pela célula bacteriana (Tally et al., 1984)¹⁷⁰. A esses mecanismos, pode-se acrescentar a produção de enzimas, codificadas pelo gene *nim* ou semelhantes, capazes de transformar os nitroimidazóis em aminoimidazóis, o que impede a geração de radicais tóxicos (Stubbs et al., 2000).¹⁶³ Outras bactérias resistentes modificam as drogas por mecanismos ainda não descritos e não relacionados aos genes *nim* (Trinh et al., 1996).¹⁷³

Parece existir uma grande diversidade de mecanismos de resistência aos nitroimidazóis em protozoários e é possível que o mesmo já ocorra em bactérias anaeróbias. Nesses eucariotos, a resistência pode se dar pela mutação do gene que codifica para a enzima que reduz o nitroimidazol até sua configuração ativa, mutações que reduzem a entrada da droga na célula ou nas moléculas transportadoras, que poderiam aumentar a exportação da droga (Samuelson, 1999).¹⁴⁴

A sensibilidade dos anaeróbios obrigatórios e aerotolerantes Gram positivos a essa droga é extremamente variável. Rolfe & Finegold (1981)¹⁴² e Finegold (1990)⁴⁶ relataram que espécies dos gêneros *Eubacterium*,

Peptostreptococcus e *Peptococcus* eram, em geral, sensíveis a esse fármaco, embora resistência entre os demais bastonetes Gram positivos tenha sido pronunciada. No presente estudo, 76,47% dos isolados do gênero *Actinomyces* e 28,57% dos bastonetes anaeróbios Gram positivos não identificados ao nível de gênero foram resistentes a essa nitroimidazol. Entretanto, *Eubacterium* spp. e *Peptostreptococcus* spp. mostraram-se sensíveis.

Os anaeróbios facultativos testados (*Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*) foram, quase que invariavelmente, resistentes, o que limita o emprego dessa droga como monoterapia medicamentosa sistêmica em situações que necessitem de tratamento com antimicrobianos em Odontologia.

Entre as demais drogas testadas, observou-se maior resistência à eritromicina, sendo que 15% dos isolados de *Streptococcus* spp., 27,27% dos isolados do gênero *Prevotella*, 10,53% do gênero *Staphylococcus* e, principalmente, 35% das fusobactérias e 13,16% dos demais microrganismos testados foram resistentes. Os resultados do presente estudo indicam a resistência à eritromicina em *Streptococcus* spp. muito maior do que a relatada por Jasir et al. (2000),⁸⁵ mas semelhantes aos valores obtidos por Woods (1988),¹⁹⁰ Messini et al. (1999)¹⁰⁴ e Gaetti-Jardim Júnior (2001).⁵⁴

Esse antibiótico mostra-se muito pouco efetivo sobre anaeróbios obrigatórios, particularmente, sobre as fusobactérias (Abu-Fanas et al., 1991;¹ Gaetti-Jardim Júnior et al., 1996ab;^{51,52} Sutter & Finegold, 1976;¹⁶⁷ Van Winkelhoff et al., 2000).¹⁸⁰ Desta forma, o emprego dessa droga para o tratamento de infecções de cabeça e de pescoço é de valia questionável, visto que esses microrganismos são parte significativa da microbiota isolada dessas condições clínicas.^{68,84}

Os resultados confirmam que as lincosaminas (lincomicina e clindamicina) são mais ativas do que a eritromicina frente a anaeróbios obrigatórios, como também evidenciado pela literatura (Barnard et al., 1996;¹² Brook, 1987;²³ Gaetti-Jardim júnior et al., 1996ab;^{51,52} Van Winkelhoff et al., 2000),¹⁸⁰ o que pode sugerir a sua definitiva substituição para o tratamento das infecções de cabeça e pescoço em pacientes adultos.

Os resultados evidenciaram que a grande maioria dos isolados resistentes às lincosaminas era constituída de microrganismos anaeróbios facultativos, com destaque para *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus* spp. Entre os anaeróbios obrigatórios, todos os isolados foram sensíveis à clindamicina e lincomicina, o que contrasta com o estudo de Van Winkelhoff et al. (2000),¹⁸⁰ que observou 17,4% de resistência à clindamicina nesses anaeróbios.

A resistência bacteriana à clindamicina e lincomicina geralmente se manifesta pela produção de RNA-metilases que modificam resíduos de adenina em ribonucleoproteínas junto ao sitio de ligação dessas drogas, impedindo a ligação desses fármacos e de macrolídeos ao seus sítios de ação ribossomiais (Halula & Macrina, 1990).⁷³

Essas drogas atuam bloqueando a síntese protéica ligando-se à subunidade 50S do ribossomo bacteriano, sendo que existe uma sobreposição de receptores entre as duas classes de drogas, de forma que quando as mesmas são administradas concomitantemente elas competem pela ligação ao alvo (Roberts, 2002).¹⁴⁰

O valor dessas drogas no tratamento de infecções bucais é modesto em função da elevada resistência dos anaeróbios obrigatórios a esses fármacos, sendo que, entre as espécies de *Prevotella* produtoras de pigmento negro, 13% apresentam resistência a essa droga, o mesmo ocorrendo com 47% das espécies não pigmentadas e 91% das fusobactérias (Kuriyama et al., 2001).⁹¹ Mesmo outros microrganismos bucais, como os estreptococos β -hemolíticos, respondem pobremente ao emprego dessas drogas (Herrera et al., 2000).⁷⁷

Os testes de susceptibilidade realizados mostraram níveis menores de resistência à tetraciclina do que os relatados na literatura (Dahlén et al., 2000;³⁵ Sechi et al., 1999;¹⁴⁷ Sutter & Finegold, 1976).¹⁶⁷ Nesse sentido, Roberts & Moncla (1988)¹³² observaram que, enquanto a resistência a essa droga

era elevada entre microrganismos presentes em infecções urogenitais, a mesma era consideravelmente menor entre os isolados bucais dessas mesmas espécies (*Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus anaerobius* e *Veillonella parvula*).

A resistência à tetraciclina foi observada entre os gêneros *Peptostreptococcus*, *Streptococcus*, *Prevotella*, *Staphylococcus*, *Actinomyces*, *Enterococcus*, *Eubacterium* e *Pseudomonas*. Este fenômeno provavelmente está associado com o emprego generalizado desta droga (Roberts & Hillier, 1990).¹³³

Segundo Roberts (2002),¹⁴⁰ o desenvolvimento de resistência às tetraciclinas depende da aquisição de genes de resistência. Embora mutações que modificam o alvo de ação dessa drogas existam, elas não parecem ser responsáveis pelos elevados níveis de resistência por vezes observado. Os genes de resistência já descritos induzem a produção de proteínas de efluxo da droga, que exportam o antimicrobiano, proteínas que protegem os ribossomos, impedindo a ação das tetraciclina e seus derivados (minociclina e doxiciclina) e proteínas que modificam a estrutura das drogas (Gaetti-Jardim Júnior et al., 2002).⁵⁵

Dentre os marcadores de resistência para tetraciclina, o gene tet (M) é o mais disseminado e codifica para uma proteína que protege o ribossomo da ação da droga e quase sempre está associado a plasmídios ou outros

elementos conjugativos. Pode ser encontrado em bactérias Gram positivas e Gram negativas, anaeróbios e aeróbios na cavidade bucal.

A seleção de microrganismos multirresistentes aos antimicrobianos é facilitada pelo uso abusivo e inadequado dessas drogas (Baquero, 1996),¹¹ como acontece na Odontologia. Em Endodontia, por exemplo, de acordo com Walton & Peterson (1997),¹⁸⁶ a prática de prescrever antibióticos e quimioterápicos com atividade antimicrobiana é maior quando o paciente apresenta dor e edema, o que é incoerente já que a redução dessa sintomatologia é extremamente lenta e a mesma quase sempre apresenta variações de intensidade cuja flutuação raramente é produzida pela droga.

De acordo com Dailley & Martin (2001),³⁷ a grande maioria dos pacientes atendidos em serviços de urgência ou emergência odontológica possui infecções localizadas na região de cabeça e pescoço, sendo que o tratamento local raramente é realizado, o que quase sempre constitui erro grosseiro, e as prescrições de antimicrobianos raramente é realizada de forma adequada. Nesse sentido, além de valorizar o tratamento local como guia mestre da terapêutica, Palmer et al. (2001)¹²¹ sugerem que a melhor forma de evitar erros dessa natureza seria realçar a necessidade de um diagnóstico correto seguido pelo estabelecimento de protocolos para o uso de antimicrobianos.

Além da resistência microbiana, a falta de efetividade de antibióticos como coadjuvantes do tratamento das infecções da região de cabeça e pescoço deriva do fato de que, no interior dos tecidos necróticos ou pouco vascularizados, pela falta de aporte sangüíneo, o antimicrobiano não atinge concentrações inibitórias para a microbiota associada a esses quadros infecciosos (Gaetti-Jardim Júnior et al., 2003;⁵⁶ Walton & Peterson, 1997).¹⁸⁶

A formação de biofilmes também reduz a efetividade dessas drogas, uma vez que dificulta a penetração das mesmas (Gaylarde & Gaylarde, 1996),⁵⁹ induz alterações na sensibilidade celular bacteriana (Gilbert et al., 1990)⁶¹ e cria a possibilidade de uma copa microbiana resistente vir a proteger as demais ao seu redor, como demonstrado “in vitro” por Lacroix & Mayrand (1989).⁹² A pequena velocidade de multiplicação das bactérias presentes no biofilme também contribui para aumentar essa resistência.

A presença desses consórcios microbianos no interior de biofilmes, com atividade enzimática, trocas metabólicas peculiares, envoltos em uma matriz orgânica, a qual atua como barreira que isola as bactérias e outros microrganismos em seu interior, impede flutuações muito significativas no ambiente e cria condições fisiológicas distintas das bactérias planctônicas, colaborando para perpetuar a infecção no hospedeiro (Gilbert et al., 1990)⁶¹ e permitir a transmissão horizontal de determinantes de virulência entre os

patógenos (Curtis et al., 1999).³⁴ Elementos como plasmídios, bacteriófagos e transposons poderiam estar implicados na transferência (Severino & Magalhães, 2002).¹⁴⁹

A possibilidade de transmissão de genes associados a resistência a drogas entre microrganismos que coabitam ambientes altamente povoados, como o interior do sistema de canais radiculares como polpa necrótica, lesões periapicais, espaços medulares, merece ser melhor avaliada, uma vez que isso pode ocorrer “in vitro” entre microrganismos comumente isolados de infecções, como demonstrado por Roberts & Lansciardi (1990).¹³⁴ Esses autores demonstraram que cepas de *Fusobacterium nucleatum* resistentes à tetraciclina podiam, por conjugação, transferir a resistência a *Peptostreptococcus anaerobius*, *Enterococcus faecalis* e cepas de *Fusobacterium nucleatum* sensíveis em uma frequência que variou de 10^{-1} e 10^{-8} . Essa resistência aos antimicrobianos depende sobremaneira das condições fisiológicas da microbiota em contato com a droga e essas estão extremamente relacionadas com as condições ambientais presentes.

Os resultados do presente estudo sugerem a necessidade do cirurgião dentista em dominar os métodos para coleta de espécimes clínicos de infecções de cabeça e pescoço, visto ser problemático o estabelecimento de protocolos de uso de antimicrobianos em função dos diferentes padrões de resistência a drogas entre os isolados. Esse

aspecto merece maior atenção em infecções mais graves, com possibilidade de seqüelas, como as osteomielites e em infecções de longa duração, as quais, em função de automedicação e inúmeros regimes terapêuticos, tendem a responder pobremente ao emprego empírico de drogas.

7 CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo permitiram as seguintes conclusões:

- a resistência às penicilinas é generalizada na maioria dos microrganismos testados, enquanto a cefalosporina testada mostrou-se mais eficaz;
- o imipenem foi muito eficaz frente a quase totalidade dos isolados testados;
- o ácido clavulânico reduz, significativamente, a resistência à amoxicilina entre os isolados testados;
- o metronidazol mostrou-se extremamente eficaz frente aos microrganismos anaeróbios Gram negativos, mas não deve ser empregado como monoterapia medicamentosa em função da elevada resistência dos anaeróbios facultativos e sensibilidade intermediária dos anaeróbios Gram positivos;

- a eritromicina e tetraciclina não devem ser empregadas sistemicamente em função da elevada resistência observada;
- a lincomicina e clindamicina são alternativas viáveis para o tratamento de infecções de cabeça e pescoço particularmente as anaeróbias mistas;

O principal mecanismo de resistência aos β -lactâmicos parece ser a produção de compostos capazes de degradar essas drogas.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS★

- 1 ABU-FANAS, S. H., DRUCKER, D. B., HULL, P. S. Amoxycillin with clavulanic acid and tetracycline in periodontal therapy. *J. Dent.*, v.19, p.97-9, 1991.
- 2 ALDRIDGE, K. E., MORICE, N., SCHIRO, D. D. In vitro activity of biapenem (L-627), a new carbapenem against anaerobes. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.38, p.889-93, 1994.
- 3 AMYES, S. G. B., GEMMELL, C. G. Antibiotic resistance. *J. Med. Microbiol.*, v.46, p.436-70, 1997.
- 4 ANGLES, M. L., MARSHALL, K. C., BOOLMAN, A. E. Plasmid transfer between marine bacteria in the aqueous phase and biofilms in reactor microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.59, p.843-50, 1993.
- 5 APPELBAUM, P. C., SPANGLER, S. K., JACOBS, M. R. β -lactamase production and susceptibilities to amoxicillin, amoxicillin-clavulanate, ticarcillin, ticarcillin-clavulanate, ceftiofur, imipenem, and metronidazole of 320 non-Bacteroides fragilis Bacteroides isolates and 129 fusobacteria from 28 U.S. centers. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.34, p.1546-50, 1990.

* Baseado:

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Coordenadoria Geral de Bibliotecas, Editora UNESP. *Normas para publicações da UNESP*. São Paulo: Editora UNESP, 1994. v.2: Referências Bibliográficas.

- 6 APPELBAUM, P. C., SPANGLER, S. K., SHIMAN, R., JACOBS, M. R. Suscetibilities of 394 *Bacteroides fragilis*, non – *B. fragilis* group *Bacteroides* species, and *Fusobacterium* species to newer antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.35, p.1214-8, 1991.
- 7 APPELBAUM, P. C., SPANGLER, S. K., SHIMAN, R., JACOBS, M. R. Suscetibilities of 540 anaerobic Gram-negative bacilli to amoxicillin, amoxicillin–BRL 42715, amoxicillin–clavulanate, temafloxacin and clindamycin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.36, p.1140-3, 1992.
- 8 ARAÚJO, N. S., ARAÚJO, V. C. *Patologia bucal*. São Paulo: Ed. Artes Médicas, 1984. 239p.
- 9 ASHBY, M. J., NEALE, F. E., KNOTT, S. J., CRITCHLEY, I. A. Effect of antibiotics on non-growing cells of biofilms of *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.33, p.443-52, 1994.
- 10 AVILA-CAMPOS, M. J., FARIAS, L. M., CARVALHO, M. A. R., DAMASCENO, C. A. V., CISALPINO, E. O., COSTA, J. Aspectos ecológicos de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: aislamiento Y caracterización de cepas. *Rev. Lat. Microbiol.*, v.30, p.301-5, 1988.
- 11 BAQUERO, F. Antibiotic resistance in Spain: what can be done? *Clin. Infect. Dis.*, v.23, p.819-23, 1996.
- 12 BARNARD, D., DAVIES, J., FIGDOR, D. Susceptibility of *Actinomyces israelii* to antibiotics, sodium hypochlorite and

- calcium hydroxide. *Int. Endod. J.*, v.29, p.320-6, 1996.
- 13 BATE, A. L., MA, K. C., PITT FORD, T. R. Detection of bacterial virulence genes associated with infective endocarditis in infected root canals. *Int. Endod. J.*, v.33, p.194-203, 2000.
- 14 BECKER, K., KELLER, B., VON EIFF, C., BRUCK, M., LUBRITZ, G., ETIENNE, J., PETERS, G. Enterotoxigenic potential of *Staphylococcus intermedius*. *Appl. Environ Microbiol.*, v.67, n.12, p.5551-7, 2001.
- 15 BELLAIS, S., MIMOZ, O., LÉOTARD, S., JACOLOT, A., PETITJEAN, O., NORDMANN, P. Efficacy of beta-lactams for treating experimentally induced pneumonia due to a Carbapenem - Hydrolyzing metallo-beta-lactamase - producing strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.46, n.6, p.2032-4, 2002.
- 16 BENNETT, K. W., DUERDEN, B. I. Identification of fusobacteria in a Routine diagnostic laboratory. *J. Appl. Bacteriol.*, v.59, p.171-81, 1985.
- 17 BERNAL, L. A., GUILLOT, E., PAQUET, C., MOUTON, C. β -lactamase-producing strains in the species *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens*. *Oral Microbiol. Immunol.*, v.13, p.36-40, 1998.
- 18 BIRN, H. Fibrinolytic activity of alveolar bone in "dry socket". *Acta Odont Scand*, v.28, p.773, 1972.

- 19 BOGEN, G., SLOTS, J. Black-pigmented anaerobic rods in closed periapical lesions. *Int. Endod. J.*, v.32, p.204-10, 1999.
- 20 BOMBASSARO, A. M., WETMORE, S. J., JOHN, M. A. *Clostridium difficile* colitis Following antibiotic prophylaxis for dental procedures. *J. Can. Dent. Assoc.*, v.67, n.1, p.20-2, 2001.
- 21 BORNET, C., DAVIN-REGLI, A., BOSI, C., PAGES, J.-P., BOLLET, C. Imipenem resistance of *Enterobacter aerogenes* mediated by outer membrane permeability. *J. Clin. Microbiol.*, v.38, p.1048-52, 2000.
- 22 BOU, G., CERVERÓ, G., DOMINGUEZ, A. D., QUEREDA, C., MARTÍNEZ-BELTRAN, J. Characterization of nosocomial outbreak caused by a multiresistant *Acinetobacter baumannii* strain with a carbapenem-hydrolyzing enzyme: high-level carbapenem resistance in *A. baumannii* is not due solely to the presence of β -lactamases. *J. Clin. Microbiol.*, v.38, p.3299-305, 2000.
- 23 BROOK, I. Pathogenicity and therapy of anaerobic bacteria in upper respiratory tract infections. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, v.6, p.131-6, 1987a.
- 24 BROOUN, A., LIU, S., LEWIS, K. A dose-response study of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.44, p.640-6, 1994.
- 25 CARLIER, J. P., SELLIER, N., RAGER, M. N., REYSSET, G. Metabolism of a 5-nitroimidazole in susceptible and resistant isogenic strains of *Bacteroides fragilis*. *Antimicrob. Agents*

Chemother., v.41, p.1495-9, 1997.

- 26 CARVALHO, A. C. P., CASTRO A. L. Osteomielite crônica supurativa. *Rev. Bras. Odontol.*, v.32, p.265-8, 1975.
- 27 CARVALHO, M. A. R. *Isolamento, caracterização, e conservação de Bacteroides melaninogenicus da cavidade oral humana*. Belo Horizonte, 1975. 89p. (Dissertação de Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Minas Gerais.
- 28 CHEN, C., SLOTS, J. The current status and future prozsects of altering the pathogenic microflora of periodontol disease. *Curr. Opin. Periodontol.*, p.71-7, 1993.
- 29 CITRON, D. M., GOLDSTEIN, E. F. C., KENNER, M. A., BURNHAN, L. B., INDERLEID, C. B. Activity of ampicillin/sulbactam ficarcillin/clavulanate, clarithromycin, and eleven other antimicrobial agents against anaerobic bacteriaisolated from infections in children. *Clin. Infect. Dis.*, v.20, p.5356-60, 1995.
- 30 CLARK, R. B., BARTLET, M. A., CHAN, E. L., DALTON, H. P. Multicentre study on antibiotic susceptibilities of anaerobic bacteria to cefaperazone–sulbactam and other antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.29, p.57-67, 1992.
- 31 CORNAGLIA, G., RUSSEL, K., SATTA, G., FONTANA, R. Relative importances of outer membrane permeability and group 1 β -lactamase as determinants of meropenem and imipenem activities against *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob. Agents*

Chemother., v.34, p.350-5, 1995.

- 32 COSTERTON, F. W., STEWART, P. S., GREENBERG, E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, v.284, p.1318-22, 1999.
- 33 CRITCHLEY, I. A., KARLOWSKY, J. A., DRAGHI, D. C., JONES, M. E., THORNSBERRY, C., MURFITT, K., SAHM, D. F. Activities of Faropenem, na oral β -lactam, against recent U.S. isolates of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moxarella catarrhalis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.46, n.2, p.550-5, 2002.
- 34 CURTIS, M. A., HANLEY, S. A., ADUSE-OPOKU, J. The rag lows of *Phorphyromonas gingivalis*: a novel pathogenicity island. *J. Periodont. Res.*, v.34, p.400-5, 1999.
- 35 DAHLÉN, G., SAMUELSON, W., MOLANDER, A., REIT, C. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. *Oral Microbiol. Immunol.*, v.15, p.309-12, 2000.
- 36 DAHLÉN, G. Microbiology and treatment of dental abscesses and periodontal-endodontic lesions. *Periodontology 2000*, v.28, p.206-39, 2002.
- 37 DAILEY. Y. M., MARTIN, M. V. Are antibiotics being used appropriately for emergency dental treatment? *Br. Dent. J.*, v.191, n.7, p.391-3, 2001.

- 38 DE BEER, O., STOODLY, P., ROE, F. L., LEWANDOWSKI, I. Effects of biofilm structures on oxygen distribution and mass transport. *Biotech Bioeng.*, v.43, p.1131-8, 1994.
- 39 DI MARTINO, P., GAGNIÉRE, H., BERRY, H., BRET, L. Antibiotic resistance and virulence properties of *Pseudomonas aeruginosa* strains from mechanically ventilated patients with pneumonia in intensive care units: comparison with imipenem-resistant extra-respiratory tract isolates from uninfected patients. *Microbes Infection.*, v.4, p.613-20, 2002.
- 40 DOWSON, C. G., COFFEY, T. F., SPRATT, B. G. Origin and molecular epidemiology of penicillin-binding protein-mediated resistance to β -lactam antibiotics. *Trends Microbiol.*, v.2, p.361-5, 1994.
- 41 EADY, E. A. Bacterial resistance in acne. *Dermatology*, v.196, n.1, p.59-66, 1998.
- 42 EIK, S., PFISTER, W., STRAUBE, E. Antimicrobial susceptibility of anaerobic and capnophilic bacteria isolated from odontogenic abscess and rapidly progressive periodontitis. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, v.12, p.41-6, 1999.
- 43 ELEY, A., GREENWOOD, D. Beta-lactamases of type culture strains of the *Bacteroides fragilis* group and of strains that hydrolyse cefoxitin, latamoxef and imipenem. *J. Med. Microbiol.*, v.21, p.49-57, 1986.
- 44 FIEHN, N. E., WESTERGAARD, J. Doxycycline-resistant bacteria in periodontally diseased individuals after systemic doxycycline

- theraphy and in healthy individuals. *Oral Microbiol. Immunol.*, v.5, p.219-22, 1990.
- 45 FINEGOLD, S. M. *Anaerobic bacteria in human disease*. New York: Academic Press, 1977. 534p.
- 46 FINEGOLD, S. M. Anaerobes, problems and controversies in bacteriology, infections, and susceptibility testing. *Rev. Infect. Dis.*, v.12, suppl.2, p.S223-S30, 1990.
- 47 FLEMMIG, T. F., MILIÁN, E., KOPP, C., KACH, H., KLAIBER, B. Differential effects of systemic metronidazole and amoxicillin on *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in intra oral habitats F. *Clin. Periodontol.*, v.25, p.1-10, 1998.
- 48 FOSSE, T., MADINIER, I., HITZIG, C., CHARBIT, Y. Prevalence of β -lactamase-producing strains among 149 anaerobic Gram-negative rods isolated from periodontal pockets. *Oral Microbiol. Immunol.*, v.14, p.352-7, 1999.
- 49 GABLER, W. L., CREAMER, M. R. Suppression on humans neutrophil functions by tetracyclines. *J. Periodontol. Res.*, v.26, p.52-8, 1991.
- 50 GAETTI-JARDIM JÚNIOR, E. Aspectos ecológicos, fisiológicos e de susceptibilidade a antimicrobianos de espécies orais de *Fusobacterium*. São Paulo, 1994. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.

- 51 GAETTI-JARDIM JÚNIOR, E., PEDRINI, D., D'ANTONIO, G. M. Bactérias anaeróbias isoladas de dentes desvitalizados e refratários ao tratamento endodôntico. Estudo da susceptibilidade aos antimicrobianos. *Rev. Odontol. UNESP*, v.25, p.299-307, 1996a.
- 52 GAETTI-JARDIM JÚNIOR, E., ZELANTE, F., AVILA-CAMPOS, M. J. Oral species of *Fusobacterium nucleatum* from human and environmental samples. *J. Dent.*, v.24, p.345-8, 1996b.
- 53 GAETTI-JARDIM JÚNIOR, E. *Fatores envolvidos na virulência de Fusobacterium nucleatum isolados de primatas humanos e não humanos: estudo comparativo*. São Paulo, 1997. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.
- 54 GAETTI-JARDIM JÚNIOR, E. *Estudo da microbiota antibiótica presente no interior de canais radiculares de dentes com polpa necrótica: susceptibilidade ao hidróxido de cálcio e fatores de virulência*. Araçatuba, 2001. 416p.: il. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 55 GAETTI-JARDIM JÚNIOR, E., MARTINS, A.L., AMBAR-LINS, S. *Antimicrobianos em periodontia*. Araçatuba: Faculdade de Odontologia - UNESP (apostila), 2002. 104 p.
- 56 GAETTI-JARDIM JÚNIOR, E., BOSCO, J. M. D., PINTO L. M. C. *Patologias ósseas*. Capítulo enviado para publicação no livro do XXI Congresso Internacional de Odontologia de São Paulo, 2003.

- 57 GARCIA-GARROTE, F., CERCENADO, E., BOUZA, E. Evaluation of a new system, VITEK 2, for identification and antimicrobial susceptibility testing of enterococci. *J. Clin. Microbiol.*, v.38, p.2108-11, 2000.
- 58 GATTI, J. J., DOBECK, J. M., SMITH, C., WHITE, R. R., SOCRANSKY, S. S., SKOBE, Z. Bacteria of asymptomatic periradicular endodontic lesions identified by DNA-DNA hybridization. *Endod. Dent. Transmatol.*, v.16, p.197-204, 2000.
- 59 GAYLARDE, P. M., GAYLARDE, C. C. A theoretical model describing the influence of diffusion on microbial action in biofilms. *Rev. Microbiol.*, v.27, p.223-7, 1996.
- 60 GEORGOPAPADAKOU, N. H. Penicillin – binding proteins and bacterial resistance to β -lactams. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.37, p.2045-53, 1993.
- 61 GILBERT, P., COLLIER, P. J., BROWN, M. R. W. Influence of growth rate on susceptibility to antimicrobial agents: biofilms, cell cycles, dormancy, and stringent response. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.34, p.1865-8, 1990.
- 62 GILBERT, P., DAS, F., FOLEY, I. Biofilms susceptibility to antimicrobials. *Adv. Dent. Res.*, v.11, p.160-7, 1997.
- 63 GILL, Y., LCULL, C. Orofacial odontogenic infection: review of microbiology and current treatment. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol Oral Radiol Endod.*, v.2, p.155-8, 1990.

- 64 GOLDSTEIN, F. W., PEAN, Y., GERTNER, J. Resistance to ceftriaxone and other β -lactams in bacteria isolated in the community. The Vigil'Roc study group. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.39, n.11, p.2516-9, 1995.
- 65 GOLDSTEIN, E. J. C., CITRON, D. M., VRENI MERRIAM, C., WARREN, Y. A., TYRRELL, K. L., FERNANDEZ, H. In vitro activities of the Des-fluoro (6) quinolone BMS-284756 against aerobic anaerobic pathogens isolated from skin and soft tissue animal and human bite wound infections. *Antimicrob. Agents Chemotherapy.*, v.46, n.3, p.866-70, 2002.
- 66 GOLUB, L. M., RAMAMURTHY, N. S., McNAMARA, T. F. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown: new therapeutic implications for an old family of drugs. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, v.2, p.297-322, 1991.
- 67 GOLUB, L. M., SEE, H. M., LEHRER, G., NEMIROFF, A., McNAMARA, T. F., KAPLAN, R., RAMAMURTHY, N. S. Minocycline reduces gingival collagenolytic activity during diabetes: preliminary observations and a proposed new mechanism of action. *J. Periodont. Res.*, v.18, p.516-21, 1993.
- 68 GOMES, B. P. F. A., LILLEY, J. D., DRUKER, D. B. Associations of endodontic symptoms and signs with particular combinations of specific bacteria. *Int. Endod. J.*, v.29, p.69-75, 1996.
- 69 GORBACH, S. L. Antibiotic treatment of anaerobic infections. *Clin. Infect. Dis.*, v.18 (suppl. 4), p.S305-10, 1994.

- 70 GREENSTEIN, G. The role of metronidazole in the treatment of periodontal diseases. *J. Periodontol.*, v.64, p.1-15, 1993.
- 71 GREENSTEIN, G. Clinical significance of bacterial resistance to tetracyclines in the treatment of periodontal diseases. *J. Periodontol.*, v.66, p.925-32, 1995.
- 72 GUILLEMOT, D., COURVALIN, P. Better control of antibiotic resistance. *Clin. Infect. Dis.*, v.33, n.4, p.542-7, 2001.
- 73 HALULA, M., MACRINA, F. L. Tn 5030: a conjugative transposon conferring clindamycin resistance in Bacteroids species. *Rev. Infect. Dis.*, v.12 (suppl. 2), p.S235-42, 1990.
- 74 HAPPONEN, R. P. Periapical actinomycosis: a follow-up study of 16 surgically treated cases. *Endod. Dent. Traumatol.*, v.2, p.205-9, 1986.
- 75 HAUSNER, M., WUERTZ, S. High rates of conjugation in bacterial biofilms as determined by quantitative in situ analysis. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.65, p.3710-3, 1999.
- 76 HERMESCH, C. B., HILTON, T. J., BIERSBROCK, A. R. et al. Perioperative use of 0.12% chlorhexidine gluconate for the prevention of alveolar osteitis: efficacy and risk factor analysis, *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, v.85, n.4, p.381-7, 1998.
- 77 HERRERA, H., ROLDÁN, S., O'CONNOR, A., SANZ, M. The periodontal abscess (II): short-term clinical and microbiological efficacy of 2 systemic antibiotic regimes. *J. Clin. Periodontol.*,

v.27, p.395-404, 2000.

- 78 HOLBERG, S. D., SOLOMON, S. L., BLAKE, P. A. Health and economic impacts of antimicrobial resistance. *Rev. Infet. Dis.*, v.9, n.6, p.1065-75, 1987.
- 79 HOLDEMAN, L. V., CATO, E., MOORE, W. E. C. *Anaerobic laboratory Manual*. 4.ed. Blacksburg: Virginia Polytechnic Institute and State University, 1977.
- 80 HOLT, J. V., KRIEG, N. R., SNEATH, P. H. A., TALEY, J. T., WILLIAMS, S. T. *Genus Fusobacterium*. In: Bergey's Manual of determinative bacteriology. 9.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. p.269.
- 81 HOSHINO, E., KURIHARA-ANDO, N., SATO, I., UEMATSU, H., SATO, M., KOTA, K., IWAKU, M. In vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *Int. Endod. J.*, v.29, p.125-30, 1996.
- 82 JACOBSSON, S., DAHLEN, G., MOLLER, A. J. Bacteriologic and serologic investigation in diffuse sclerosing osteomyelitis (DSO) of the mandible. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.54, p.506-12, 1982.
- 83 JACOBSSON, S. Diffuse sclerosing osteomyelitis of the mandible. *Int. J. Oral Surg.*, v.13, p.363-85, 1984.
- 84 JANSEN, H. J., VANDER HOEVEN, J. S., WALHI, S., GÖERTZ, J. H. C., BAKKAREN, J. A. J. M. The importance of

- immunoglobulin-breakdown supporting the growth of bacteria in oral abscesses. *J. Clin. Periodontol.*, v.23, p.717-23, 1996.
- 85 JASIR, A., TANNA, A., NOORANI, A., MIRSALEHIAN, A., EFSTRATIOU, A., SCHALEN, C. High rate of tetracycline resistance in *Streptococcus pyogenes* in Iran: an epidemiological study. *J. Clin. Microbiol.*, v.38, p.2103-7, 2000.
- 86 JENKINS, S. G. Antimicrobial susceptibility for β -lactam / β -lactamase inhibitors: predictors of clinical efficacy. *Clin. Microbiol. Newsletter*, v.14, p.89-96, 1992.
- 87 JOHNSON, C. C., WENDELER, M., LEVINSON, M. E. In vitro susceptibilities of oral pigmented *Bacteroides* species to tetracycline and other selected antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.34, p.1597-9, 1990.
- 88 JOHNSON, B. T., MAYO, J. A., JEANSOME, B. G. β -hemolytic streptococci and other β -hemolytic organisms in apical periodontitis and severe marginal periodontitis. *Endod. Dent. Traumatol.*, v.15, p.102-8, 1999.
- 89 KLEINFELDER, J. W., MÜLLER, R. F., LANGE, D. E. Bacterial susceptibility to amoxicillin and potassium clavulanate in advanced periodontitis patients not responding to mechanical therapy. *J. Clin. Periodontol.*, v.27, p.846-53, 2000.
- 90 KURIYAMA, T., KARASOWA, T., NAKAGAWA, K., SAIKI, Y., YAMAMOTO, E., NAKAMURA, S. Bacteriologic features and antimicrobial susceptibility in isolates from orofacial odontogenic infections. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*

Endod., v.5, p.600-8, 2000.

- 91 KURIYAMA, T., KARASAWA, T., NAKAGAWA, K., YAMAMOTO, E., NAKAMURA, S. Incidence of β -Lactamase production and antimicrobial susceptibility of anaerobic Gram-negative rods isolated from pus specimens of orofacial odontogenic infections. *Oral Microbiol. Immunol.*, v.16, p.10-5, 2001.
- 92 LACROIX, F. M., MAYRAND, D. The effect of subminimal inhibitory concentration of antimicrobial agents on their bacterial mixtures. *Oral Microbiol. Immunol.*, v.4, p.82-8, 1989.
- 93 LARSEN, T. Occurrence of doxycycline resistant bacteria in the oral cavity after local administration of doxycycline in patients with periodontal disease. *Scand. J. Infect Dis.*, v.23, p.89-95, 1991.
- 94 LEGG, J. A., WILSON, M. The prevalence of beta-lactamase producing bacteria in subgingival plaque and their sensitivity to augmentin. *Br. J. Oral & Maxillofac. Surg.*, v.28, p.180-4, 1990.
- 95 LE GOFF, A., BUNETEL, L., MOUTON, C., BOUNNAURE-MALLET, M. Evaluation of root canal bacteria and their antimicrobial susceptibility in teeth with necrotic pulp. *Oral Microbiol. Immunol.*, v.12, p.318-22, 1997.
- 96 LISTGARTEN, M. A., LAI, C.H., YOUNG, V. Microbial composition and pattern of antibiotic resistance in subgingival microbial samples from patients with refractory periodontitis. *J. Periodontol.*, v.64, p.155-61, 1993.

- 97 LODE, H. The pharmacokinetics of azithromycin and their clinical significance. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, v.10, n.10, p.807-12, 1991.
- 98 LORIAN, V. *Antibiotics in laboratory medicine*. 4.ed. Baltimore: Willians & Wilkins, 1996.
- 99 MAGNUSSON, I., MARKS, R. G., CLARK, W. B., WALKER, C. B., LOW, S. B., McARTHUR, W. P. Clinical, microbiologic and immunological characteristics of subjects with “refractory” periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.*, v.18, p.291-9, 1991.
- 100 MALANOSKI, G. J., COLLINS, J., WENNERSTEN, C., MOELLERING JÚNIOR, R. C., ELIOPOULOS, G. M. In vitro activity of biapenem against clinical isolates of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.37, p.2009-16, 1993.
- 101 MANGUNDJafa, S., HARDJWINATA, K. Clindamycin versus ampicillin in the treatment of odontogenic infecitons. *Clin. Ther.*, v.12, p.242-9, 1990.
- 102 MARX, R. E., CARLSSON, E. R., SMITH, B. R., TORAYA, N. Isolation of *Actinomyces* species and *Eikenella* corrodens from patients with chronic diffuse sclerosing osteomyelitis. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.52, p.26-33, 1994.
- 103 MATUSOW, R. J., GOODALL, L. B. Anaerobic isolates in primary pulpal – alveolar cellulites cases: endodontic resolutions and drug therapy considerations. *J. Endod.*, v.9, p.535-43, 1983.

- 104 MESSINI, M., SKOURTI, I., MARKOPOULOS, E., KOUTSIA-CAROUZOU, KYRIAKOPOULOS, E., KOSTAKI, S., LAMBRAKI, D., GEORGOPOULOS, A. Bacteremia after dental treatment in mentally handicapped people. *J. Clin. Periodontol.*, v.26, p.469-73, 1999.
- 105 MILLER, M., HADDAD, A. J. Cervicofacial actinomycosis. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, v.85, p.496-508, 1998.
- 106 MOORE, W. E. C., HOLDEMAN, L. V., KELLEY, R. W. *Genus II Fusobacterium*. In: Bergey's Manual of systematic bacteriology. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984. v.1, p.631-7.
- 107 MOORE, W. E. C., MOORE, L. V. H. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontology 2000*, v.5, p.66-77, 1994.
- 108 NAGASHIMA, H., TAKAO, A., MAEDA, N. Abscess forming ability of Streptococcus milleri group: synergistic effect with fusobacterium nucleatum. *Microbiol. Immunol.*, v.43, p.207-16, 1999.
- 109 NAGLER, R., PELED, M., LAUFER, D. Cervicofacial actinomycosis. A diagnostic challenge. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, v.83, p.652-6, 1997.
- 110 NAJZAR-FLEGER, D., FELIPARC, D., PRPIC, G., KOBLEK, D. Candida in root canal in accordance with oral ecology. *Int. Endod. J.*, v.25, p.40-5, 1992.

- 111 NARIKAWA, S. Distribution of metronidazole susceptibility factors in obligate anaerobes. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.18, p.565-74, 1986.
- 112 NIELSEN, P. M., NOVAK, A. Acute cervico-facial actinomycosis. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.16, p.440-4, 1987.
- 113 NORD, C. E., OLSSON-LILJEQVIST, B. Resistance to β -lactam antibiotics in *Bacteroides* species. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.8 (Suppl. D), p.33-42, 1981.
- 114 NORD, C. E., HEDBERG, M. Resistance to β -lactam antibiotics in anaerobic bacteria. *Rev. Infect. Dis.*, v.12 (suppl.2), p.S231-4, 1990.
- 115 NORDMAN, P., MARIOTTE, S., NAAS, T., LABIA, R., NICOLA, M. H. Biochemical properties of a carbapenem-hydrolyzing β -lactamase from *Enterobacter cloacae* and cloning of the gene in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.37, p.939-46, 1993.
- 116 OLIVEIRA, M. D. C., ALMEIDA, D., SEIXAS, M. E. A., PINTO, L. P. Estudo bacteriológico de lesões periapicais do tipo crônicas. *Rev. Odontol. Ciênc.*, v.17, p.7-19, 1994.
- 117 OLSSON, B., DORNBUSCH, K., NORD, C. E. Susceptibility to beta-lactam antibiotics and production of β -lactamase in *Bacteroides fragilis*. *Med. Microbiol. Immunol.*, v.163, p.183-94, 1977.

- 118 OLSVIK, B., HANSEN, B. F., TENOVER, F. C., OLSEN, F. Tetracycline-resistant microorganisms recovered from patients with refractory periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.*, v.22, p.391-6, 1995.
- 119 PACINI, N., ZANCHI, R., FERRARA, A., CANZI, E., FERRARI, A. Antimicrobial susceptibility tests on anaerobic oral mixed cultures in periodontal lesions. *J. Clin. Periodontol.*, v.24, p.401-9, 1997.
- 120 PALLASH, T. J. Antibiotics for acute orofacial infections. *J. Calif. Dent. Assoc.*, v.21, n.2, p.46-50, 1993.
- 121 PALMER, N. A. O., DAILEY, Y. M., MARTIN, M. V. Can audit improve antibiotic prescribing in general dental practice? *Br. Dent. J.*, v.192, n.5, p.253-5, 2001.
- 122 PANICHI, G., DI ROSA, R., ENRICO, P., BABUDIERI, S. Anaerobic bacteria and bacterial infections: perspectives on treatment and resistance in Italy. *Rev. Infect. Dis.*, v.12 (Suppl 2), p.S152-6, 1990.
- 123 PANKUCH, G. A., JACOBS, M. R., APPELBAUM, P. C. Susceptibilities of 428 Gram-positive and negative anaerobic bacteria to Bay Y3118 compared with their susceptibilities to ciprofloxacin, clindamycin, metronidazole, piperacillin, piperacillin-tazobactam, and ceftiofur. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.37, p.1649-54, 1993.
- 124 PANKUCH, G. A., DAVIES, T. A., JACOBS, M. R., APPELBAUM, P. C. Antipneumococcal activity of Ertapenem (MK-0826) compared to those of other agents. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.46,

n.1, p.42-6, 2002.

- 125 PAYNE, D. J., CRAMP, R., BATESON, J. H., NEALE, J., KNOWLES, D. Rapid identification of metallo and serine β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.38, p.991-6, 1994.
- 126 PECIULIENE, V, BALCIUNIENE, I., ERIKSEN, H. M., HAAPASALO, M. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in a Lithuanian population. *J. Endod.*, v.26, p.593-5, 2000.
- 127 PERNA, E., LIGUORI, R., PETRONE, G., MANNARINO, E. Actinomycotic granuloma of the Gasserian ganglion with primary site a dental root. *J. Neurosurg.*, v.54, p.553-5, 1981.
- 128 PIRIZ-DURAN, S., VALLE-MANZANO, F., VALERA, C. R., MACHOTA, V. Susceptibilities of *Bacteroides* and *Fusobacterium* spp. from foot rot in goats to 10 - β -lactam antibiotics. *Antimicrob. Agents Chermother.*, v.34, p.657-9, 1990.
- 129 RAHAL, J. J., URBAN, C., SEGAL-MAURER, S. Nosocominal antibiotic resistance in multiple gram-negative species: experience at one hospital with squeezing the resistance balloon at multiple sites. *Clin. Infect. Dis.*, v.34, n.4, p.499-503, 2002.
- 130 RAMADAN, M. A., TAWFIK, A. F., SHIBL, A. M., GEMMEL, C. G. Post-antibiotic effect of azithromycin and erytromycin on streptococcal susceptibility to phagocytosis. *J. Med. Microbiol.*, v.42, n.5, p.362-6, 1995.

- 131 REYSSET, G., TRINH, S., CARLIER, F. P., SEBALD, M. Base génétiques de la résistance aux 5-nitroimidazolés des *Bacteroides* spp. *Med. Mal. Infect.*, v.26, p.5213-9, 1996.
- 132 ROBERTS, M. C., MONCLA, B. J. Tetracycline resistance and Tet M in oral anaerobic bacteria and *Neisseria perflava*- N. Sicca. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.32, p.1271-3, 1988.
- 133 ROBERTS, M. C., HILLIER, S. L. Genetic basis of tetracycline resistance in urogenital bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.34, p.261-4, 1990.
- 134 ROBERTS, M. C., LANSCIARDI, J. Transferable Tet m. In *Fusobacterium nucleatum*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.34, p.1836-8, 1990.
- 135 ROBERTS, M. C. Oral bacteria:reservoirs for antibiotic resistance Traits. *APVA Newslett*, v.15, p.1-6, 1997.
- 136 ROBERTS, M. C. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria of oral and upper respiratory origin *Frut. F. Antimicrob. Agents Chemother.*, v.9, p.255-69, 1998.
- 137 ROBERTS, M. C. Antibiotic resistance in oral/respiratory bacteria. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, v.9, p.522-40,1998.
- 138 ROBERTS, M. C., SUTDIFFE, F., COUR VALIN, P., FENSU, L. B., ROOD, F., SEPPALA, H. Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide streptogramin-b antibiotic resistance determinants. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.43, p.2823-30, 1999.

- 139 ROBERTS, A. P., PRATTEN, F., WILSON, M., MULLANY, P. Transfer of a conjugative transposon, Tn 5397 in a mixed oral ral biofilm. *FEMS microbial lett* 177, p.63-6, 1999.
- 140 ROBERTS, M. C. Antibiotic toxicity, interactions and resistance development. *Periodontol* 2000, v.28, p.280-97, 2002.
- 141 ROCHFORD, J. Pleuropulmonary infection associated with *Eubacterium branchy*, a new species of *Eubacterium*. *J. Clin. Microbiol.*, v.12, p.722-3, 1980.
- 142 ROLFE, R. D., FINEGOLD, S. M. Comparative in vitro activity of new beta-lactam antibiotics against anaerobic bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother*, v.20, p.600-9, 1981.
- 143 SAKELLARIOU, P. L. Periapical actinomycosis: report of a case and review of the literature. *Endod. Dent. Traumatol.*, v.12, p.151-4, 1996.
- 144 SAMUELSON, F. Why metronidazole is active against both bacteria and parasites. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.43, p.1533-41, 1999.
- 145 SBORDONE, L., BARONE, A., RAMAGLIA, L., CIAGLIA, R. N., IACONO, V. J. Antimicrobial susceptibility of periodontopathic bacteria associated with failing implants. *J. Periodontol.*, v.66, p.69-74, 1995.
- 146 SCHUMAN, N., TURNER, J. E. The clinical significance of beta hemolytic streptococci of the milleri group in oral abscesses. *J. Clin. Pediatr. Dent.*, v.23, p.137-42, 1999.

- 147 SECHI, L. A., PINNA, A., PUSCEDDU, C., FADDA G., CARTA, F., ZANETTI, S. Molecular characterization and antibiotic susceptibilities of ocular isolates of *Staphylococcus epidermidis*. *J. Clin. Microbiol.*, v.37, p.3031-3, 1999.
- 148 SEN, B. H., PISKIN, B., DEMIRCI, T. Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by scanning electron microscopy. *Endod. Dent. Traumatol.*, v.11, p.6-9, 1995.
- 149 SEVERINO, P., MAGALHÃES, V. D. The role of integrons in the dissemination of antibiotic resistance among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from an intensive care unit in Brazil. *Res. Microbiol.*, v.153, p.221-6, 2002.
- 150 SEYMOUR, R. A., HEARMAN, P. A. Tetracyclines in the management of periodontal diseases: a review. *J. Clin. Periodontol.*, v.22, p.22-35, 1995.
- 151 SHAFER, W. G., HINE, M. K., LEVY, M. B. *Tratado de patologia bucal*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. p.837.
- 152 SHUNGU, D. L., CERAMI, A. T., WEINBERG, E., CAPIZZI, T., GADEBUSCH, H. H. Tentative interpretative criteria for in vitro antibacterial susceptibility testing with imipenem. *J. Clin. Microbiol.*, v.23, p.421-4, 1986.
- 153 SLOTS, J. Salient biochemical characters of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Arch. Microbiol.*, v.131, p.60-7, 1982a.

- 154 SLOTS, J. Saliente biochemical characters of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J. Clin. Microbiol.*, v.15, p.606-9, 1982b.
- 155 SLOTS, J., POTTS, T. V. *Fusobacterium simiae*, a new species from monkey dental plaque. *Inst. J. Syst. Bacteriol.*, v.32, p.191-4, 1982.
- 156 SLOTS, J., POTTS, T. V. MASHIMO, P. A. *Fusobacterium periodonticum*, a new species from the human oral cavity. *J. Dent. Res.*, v.62, p.960-3, 1983.
- 157 SLOTS, F., FEIK, D., RAMS, T. E. Prevalence and antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae and Acinetobacter in human periodontitis. *Oral Microbiol. Immunol.*, v.5, p.149-54, 1990.
- 158 SOCRANSKY, S. S., HOLT, S. C., LEADBETTER, E. R., TANNER, A. C. R., SAVITI, E., HAMMOND, B. F. *Capnocytophaga*: new genus of Gram negative gliding bacteria. *Arch. Microbiol.*, v.122, p.29-33, 1979.
- 159 SOCRANSKY, S. S., HAFFAJEE, A. D. Dental biofilmes: difficult therapeutic targets. *Periodontology 2000*, v.28, p.12-55, 2002.
- 160 SOUBRIER, M., DUBOST, J. J., RISTORI, J. M., SAUVEZIE, B., BUSSIERE, J. L. Palmidronate in the treatment of diffuse sclerosing osteomyelitis of the mandible. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, v.92, p.637-40, 2001.

- 161 SPANU, T., LUZZARDO, F., PENILLI, M., AMICOSANTE, G., TONIOLO, A., FADDA, G. The Italian Esbl Shid Group. Occurrence of extended-spectrum β -lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae* in Italy: implications for resistance to β -lactams and other antimicrobial drugs. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.46, n.1, p.196-202, 2002.
- 162 STERN, M. H., DREIZEN, S., OTT, T., LEVY, B. M. Analysis of positive cultures from endodontically treated teeth: a retrospective study. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.69, p.366-71, 1990.
- 163 STUBBS, S., BRAZIER, J. S., TALBOT, P. R., DUERDEN, B. I. PCR-restriction fragment length polymorphism analysis for identification of *Bacteroides* spp. and characterization of nitroimidazole resistance. *J. Clin. Microbiol.*, v.38, p.3209-13, 2000.
- 164 SUMMANEM, P., BARON, E. J., CITRON, D. M., STRONG, C. A., WEXLER, H. M., FINEGOLD, S. M. *Wadsworth anaerobic bacteriology manual*. 5.ed. Singapore: Star Publishing Company, 1993. P.230.
- 165 SUNDQVIST, G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.78, p.527-30, 1994.
- 166 SUNDQVIST, G., FIDGOR, D., SJÖGREN, U. Microbiology analyses of teeth with endodontic treatment and the outcome of conservative retreatment. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.85, p.86-93, 1998.

- 167 SUTTER, V. L., FINEGOLD, S. M. Susceptibility of anaerobic bacteria to 23 antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.10, p.736-52, 1976.
- 168 SUTTER, V. L., BARRY, A. L., WILKINS, T. D., ZABRANSKY, R. J. Collaborative evaluation of a proposed reference dilution method of susceptibility testing of anaerobic bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.16, p.495-502, 1979.
- 169 SUTTER, V. L., CITRON, D. M., FINEGOLD, S. M., BRICKNELL, K. *Wadworth anaerobic bacteriology manual*. 2.ed. St. Louis: C. V. Mosby, 1980, 131p..
- 170 TALLY, F. P., CUCHURAL, G. J., MALAMY, M. H. Mechanisms of resistance transfer in anaerobic bacteria, factor influencing antimicrobial therapy. *Rev. Infect. Dis.*, v.6 (suppl. 1), p.S260-9, 1984.
- 171 TANIISHII, N., WANG, C-Y., TANNER, A., STASKENKO, P. Changes in root canal microbiota during the development of rat periapical lesions. *Oral Microbiol. Immunol.*, v.9, p.129-35, 1994.
- 172 TOMASZ, A. Benefit and risk in the β -lactams antibiotic resistance strategies of *Streptococcus pneumoniae* and a *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol.*, v.2, p.380- 5, 1994.
- 173 TRINH, S., HAGGOURD, A., RUJSSEL, G. Conjugal transfer of the 5-nitroimidazole resistance plasmid pIP417 from *Bacteroides vulgatus* BV-17: characterization and nucleotide sequence analysis of the mobilization region. *Bacteriol.*, v.178, p.6671-6, 1996.

- 174 TUNÈR, K., LINDQVIST, L., NORD, C. E. Purification and properties of a novel β -lactamase from *Fusobacterium nucleatum*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.27, p.943-7, 1985.
- 175 VADAS, P., GRENWALD, R. A., STREET, R. T., PRUZANSLI, W. Inhibition of synovial fluid phospholipase A₂ activity 2 tetracycline derivatives, minocycline and doxyxycine. *Arthritis Rheumatism.*, v.34, p.5160, 1991. (Abstract).
- 176 VAKULENKO, S., GOLEMI, D. Mutant TEM beta-lactamase producing resistance to ceftazidime, ampicillins and beta-lactamase inhibictors. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.46, n.3, p.646-56, 2002.
- 177 VAN MERKESTEYN, J. P., GROOT, R. H., BRAS, J., BAKKER, D. J. Diffuse sclerosing osteomyelitis of the mandible: clinical radiographic and histologic findings in twenty-seven patients. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.46, p.825-9, 1988.
- 178 VAN WINKELHOFF, A. J., RAMS, T. E., SLOTS, J. Systemic antibiotic therapy in periodontitis. *Periodontol 2000*, v.10, p.45-75, 1996.
- 179 VAN WINKELHOFF, A. J., WINKEL, E. G., BARENDREGT, D., DELLEMIJN-KIPPUW, N., STIJNE, A., VAN DER VELDEN. β -lactamase moducing bacteria in adult periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, v.24, p.538-43, 1997.
- 180 VAN WINKELHOFF, A. J., GONZALES , D. H., WINKEL., E. G., DELLEMIJN-KIPPUW, N., VANDENBROUCKE-GRAULS, C. M.

- J. E., SANZ, M. Antimicrobial resistance in the subgingival microflora in patients with adult periodontitis: a comparison between the Netherlands and Spain. *J. Clin. Periodontol.*, v.27, p.79-86, 2000.
- 181 VIGIL, G. V., WAYMAN, B. E., DAZEY, S. E., FOWLER, C. B., BRADLEY, D. V. Identification and antibiotic sensitivity of bacteria isolated from periapical lesions. *J. Endod.*, v.23, p.110-4, 1997.
- 182 VON EIFF, C., REINERT, R. R., KRESKEN, M., BRAUERS, J., HAFNER, D., PETERS, G. Nationwide german multicenter study on prevalence of antibiotic resistance in staphylococcal bloodstream isolates and comparative in vitro activities of quinupristin-dalfopristin. *J. Clin. Microbiol.*, v.38, p.2819-23, 2000.
- 183 VON KONOW, L., KÖNDELL, P., NORD, C. E., HEIM DAHL, A. A clindamycin versus phenoxymethyl penicillin in the treatment of acute orofacial infections. *Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, v.12, p.1129-36, 1992.
- 184 XU, K. D., McFETERS, G. A., STEWART, P. S. Biofilm resistance to antimicrobial agents. *Microbiology*, v.146, p.547-9, 2000.
- 185 WALKER, C. B., RATLIFF, D., MANDELL, R., SOCRANSKY, S. S. Medium for selective isolation of *Fusobacterium nucleatum* from human periodontal pockets. *J. Clin. Microbiol.*, v.10, p.344-9, 1979.
- 186 WALTON, R. E., PETERSON, L. Antibiotics in dentistry a boon or a bane? *APVA Newsletter*, v.15, p.1-5, 1997.

- 187 WEXLER, H. M., MOLITORIS, E., FINEGOLD, S. M. Effect of β -lactamase inhibitors on the activities of various β -lactam agents against anaerobic bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.35, p.1219-24, 1991.
- 188 WEXLER, H. M., MOLITORIS, E., FINEGOLD, S. M. In vitro activities of three of the newer quinolones against anaerobic bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.36, p.239-43, 1992.
- 189 WILLIAMS B. L., OSTERBERG, S. K. A., JORGENSEN, J. Subgingival microflora of periodontal patients on tetracycline therapy. *J. Clin. Periodontol.*, v.6, p.210-21, 1979.
- 190 WOODS, R. Twenty years of antibiotic sensitivity testing of dental infections. Part 2. A review, 1966-1986. *Aust. Dent. J.*, v.33, p.505-10, 1988.
- 191 WRIGHT, T. L., ELLEN, R. P., LACROIX, F. M., SINNADVRAI, S., MITTELMAN, M. W. Effects of metronidazole on *Porphyromonas gingivalis* biofilm. *Periodontol. Res.*, v.32, p.473, 1997.
- 192 YOU, Y. O., KIM, K. J., MIN, B. M., CHUNG, E. P. *Staphylococcus lugdunensis* – a potential pathogen in oral infection. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, v.87, p.297-302, 1999.

RESUMO

RESUMO

PARO, M. L. C. *Análise do perfil de susceptibilidade antimicrobiana de microrganismos isolados de processos infecciosos bucais*. Araçatuba, 2003. 170p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

As doenças infecciosas representam uma das principais causas de perda precoce dos dentes, podendo levar a seqüelas graves. Os microrganismos normalmente envolvidos nessas patologias quase sempre pertencem a microbiota autóctone da cavidade bucal e, quase invariavelmente, são de baixa virulência. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias anaeróbias obrigatórias e anaeróbias facultativas isoladas de processos infecciosos da cavidade bucal, procurando verificar a existência de padrões de susceptibilidade à fármacos nas diferentes espécies e gêneros microbianos. As amostras microbianas foram obtidas de 4 casos de osteomielite crônica da mandíbula, 3 lesões periapicais refratárias ao tratamento endodôntico, 30 infecções endodônticas, 7 casos de periodontite agressiva localizada e 2 casos de periodontite agressiva generalizada. O isolamento dos

microbiano foi realizado em meios de cultura seletivos e a identificação dos isolados foi realizada de acordo com suas características morfológicas e bioquímico-fisiológicas. Os isolados, uma vez identificados, foram mantidos em nitrogênio líquido (- 196 °C). Nos testes de susceptibilidade, empregou-se o método de diluição em ágar e o meio de cultura empregado foi o ágar infuso de cérebro coração acrescido de extrato de levedura. Os resultados evidenciaram resistência natural dos anaeróbios facultativos ao metronidazol e níveis moderados de resistência às penicilinas, enquanto a cefoxitina, a associação de amoxicilina/ácido clavulânico e imipenem foram quase que universalmente eficazes. A lincomicina e a clindamicina também se mostraram eficazes, particularmente sobre os anaeróbios obrigatórios. O principal mecanismo de resistência aos β -lactâmicos foi a produção de compostos capazes de degradar essas drogas.

UNITERMOS: antimicrobianos; infecções; bactérias.

ABSTRACT

ABSTRACT

PARO, M. L. C. *Analysis of the profile of susceptibility antimicrobial of isolates microbials of buccal infection processes*. Araçatuba, 2003. 170p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

Infections diseases represent one of the major causes of early tooth loss, and they can lead to sequels. The microorganisms involved oftenly in these pathologies belong to oral microflora and almost all of them are of virulence potential. Thus, the objective of this study was to evaluate the susceptibility to antimicrobials of obligate and facultative anaerobes recovered from infections in head and neck area, trying to verify the existence of susceptibility patterns to those drugs the different species and microbial goods. Microbials samples were obtained of 4 cases of chronic osteomyelitis, 3 refractory periapical lesions, 30 endodontics infections, 7 cases of localized aggressive periodontitis, 2 cases of generalized aggressive periodontitis. The isolation microbial was accomplished in selective culture means and the identification of the isolated ones was accomplished in agreement with its morphologic and biochemical-physiologic characteristics. The

isolates, after identification, were maintained in liquid nitrogen (-196°C). The susceptibility tests, were carried out through an agar dilution method and the culture medium employed was brain heart infusion agar supplemented with yeast extract. The results evidenced natural resistance of facultative anaerobes to metronidazole and moderate levels of resistance to penicillin, while cefoxitin, amoxycillin/clavulanic acid and imipenem were almost universally effective, particularly on obligate anaerobes. The main mechanisms of resistance to β -lactams was the production of compounds capable to destroy these drugs.

UNITERMS: antimicrobials; infections; bacterias.