

Rubens Pereira de Albuquerque Jr.

Orientador: Prof. Dr. Regis Alonso Verri

AVALIAÇÃO DA
SENSIBILIDADE
MICROBIANA A
ANTIBIÓTIÇOS

**Tese
apresentada
à Faculdade
de Odontologia
de Ribeirão Preto
da Universidade de
São Paulo para a ob-
tenção do título de Doutor.**

Ribeirão Preto

1996

Albuquerque Jr., Rubens Ferreira de
Avaliação da sensibilidade microbiana a antibióticos.
Ribeirão Preto, 1996.
136 p. ilustr. 27,5cm

Tese para a obtenção do grau de doutor em Reabilitação Oral, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP - Depto. Materiais Dentários e Prótese.

Orientadores: Alonso Verri, Regis; Ito, Izabel Yoko.

Endereço para correspondência:
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP
Av. do café s/n
Depto. Materiais Dentários e Prótese
Tel. 633-3036 / 627-3166
e-mail: ephestus@spider.usp.br

À minha família

AGRADECIMENTOS

Aos funcionários do Departamento de Ciências da Saúde da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP: Natalina Catarina de Almeida Oliveira, Flóripes Costa Carvalho, Maria Aparecida Joanin, Amélia Regina Azevedo Agüena Albuquerque, Benedita de Almeida Panari, Antonia Ferreira Cruz e Vania Claudia de Albuquerque Toldo.

Aos Professores Doutores Creuse Pereira dos Santos, Geraldo Garcia Duarte e Geraldo Maia Campos pelo auxílio nas análises estatísticas.

Aos orientadores Professor Doutor Regis Alonso Verri e Professora Doutora Izabel Yoko Ito.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a elaboração do trabalho.

A parte experimental desta pesquisa foi realizada nos anos de 1991 e 1992, nos laboratórios do Departamento de Ciências da Saúde da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, sob orientação da Professora Doutora Izabel Yoko Ito.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
REVISÃO DA LITERATURA	5
PROPOSIÇÃO	43
MATERIAL E MÉTODO	45
Seleção dos pacientes	46
Obtenção das amostras	46
Processamento microbiológico	46
Meios de cultura, soluções e reagentes	46
Exame microbiológico	55
RESULTADOS	62
DISCUSSÃO	85
CONCLUSÕES	108
RESUMO / SUMMARY	110
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	113
APÊNDICE	125

INTRODUÇÃO

Os microrganismos têm sido considerados agentes causais de grande número de enfermidades que atingem o ser humano.

Dentre as diversas formas de infecções, aquelas provocadas por bactérias levam ainda muitas pessoas à morte ou deixam seqüelas, apesar da ampla utilização dos agentes antimicrobianos (BAYLISS et al., 1983; LEVINER et al., 1984; MANFORD et al., 1992).

DOUGLAS (1992) aponta a introdução das sulfas em 1935, como um fator de importância fundamental no tratamento de certas infecções. Observa contudo, que essa terapêutica trouxe consigo o inconveniente da resistência microbiana às drogas, um problema da prática clínica. Quando a penicilina entrou em uso, em 1941, menos de 1% dos *Staphylococcus aureus* eram resistentes. Em 1946 as cepas hospitalares penicilina-resistentes representavam 14% e, atualmente, 90%. Entretanto nem todos os microrganismos desenvolvem cepas resistentes.

Superinfecções pós-cirúrgicas, septicemias, infecções viscerais, peritoneais, da região de cabeça e pescoço, tais como, faringites, amigdalites, laringites e infecções da cavidade oral como abscessos, doenças periodontais, processos endodônticos, entre outras, têm freqüentemente apresentado resistência aos antibióticos e quimioterápicos. Novas drogas estão sendo desenvolvidas e introduzidas como agentes terapêuticos, enquanto algumas já existentes estão sendo abandonadas em vários países por terem favorecido o aparecimento de muitas formas microbianas resistentes a elas próprias e a outras drogas, fenômeno conhecido como resistência cruzada (TABAQCHALI, 1988; CROOK et al., 1988; LUNDBERG & NORD, 1988; LEWIS et al., 1990; GENCO, 1991; DEBELIAN et al., 1992).

Dentre as formas de infecção que mais têm sido motivo de preocupação para os profissionais das áreas médica e odontológica, a endocardite bacteriana se destaca pelo alto índice de morbidade e mortalidade, cerca de 30 a 36%, em que pesem os grandes avanços da terapêutica antibacteriana. Das manifestações infecciosas sistêmicas ou focais, não relacionadas ao coração, muitas são potencialmente capazes de provocar a endocardite. A prevenção é assim relevante, quando cirurgiões dentistas e médicos tratam de pacientes portadores de cardiopatias, sejam congênitas ou adquiridas, especialmente após febre reumática (ZEBRAL & ETHER, 1988; KREUZPAINNER et al., 1992; van der BIJL, 1992; SENTILHES & BERNARD, 1993; YANOSKY, 1995; SANDRE & SHAFRAN, 1996).

Segundo ZEBRAL et al. (1992), o abuso no emprego indiscriminado de antibióticos e quimioterápicos pela população no Brasil aumenta a emergência de amostras resistentes às drogas a níveis preocupantes, principalmente em relação aos estreptococos do grupo alfa-hemolítico e gama e às penicilinas G, V, ampicilina e eritromicina, ampla e abusivamente usadas, sem nenhum controle. Os autores sugerem o emprego do método vigente da BRITISH SOCIETY FOR ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY (BSAC) na antibioticoterapia profilática nos consultórios dentários.

Por outro lado, no exercício da Odontologia há pelo menos quatro condições clínicas nas quais os antibióticos são úteis e com frequência imprescindíveis no controle dos microrganismos: (1) no tratamento de doenças periodontais (GENCO, 1981); (2) no tratamento de infecções orofaciais (BAZERQUE, 1978); (3) no tratamento de infecções anaeróbias sistêmicas de origem oral (BAZERQUE, 1978) e (4) na profilaxia antes de intervenções dentárias ou cirúrgicas orais, em pacientes considerados com risco de infecções sistêmicas como resultado de tais intervenções (KAYE, 1986). Em quaisquer destas situações todavia, o uso de antibióticos deveria ser baseado no conhecimento da concentração do fármaco necessária para inibir o crescimento dos organismos envolvidos (concentração inibitória mínima ou CIM), e no conhecimento do respectivo nível sérico atingido nos locais da infecção (BAKER et al., 1985).

De acordo com normas estabelecidas pela AMERICAN HEART ASSOCIATION (1991), no relatório do comitê do COUNCIL ON DENTAL THERAPEUTICS, a profilaxia antibiótica está recomendada em todos os procedimentos odontológicos que envolvam sangramento gengival para os pacientes de risco, e, se uma série de sessões de tratamento estiver prevista, deve-se observar um intervalo de sete dias entre as intervenções, para reduzir o potencial de emergência de cepas resistentes. Atualmente existem diversos protocolos para a definição do risco de endocardite, de acordo com os sinais e sintomas das patologias cardíacas, para pacientes portadores ou não de outras moléstias, médicas ou odontológicas, passíveis ou não de intervenções terapêuticas invasivas ou conservadoras, que determinam a necessidade ou não do uso profilático de antibióticos (EVERETT & HIRSCHMANN, 1977; FELDER et al., 1992; SENTILHES & BERNARD, 1993; FERNANDES, 1994).

A bacteriemia pode ser provocada por uma grande variedade de intervenções clínicas na cavidade oral, particularmente por aquelas que envolvem sítios infectados (MORISHIMA & SASAKI, 1995). Geralmente os microrganismos são eliminados pelo sistema reticuloendotelial em poucos minutos. Entretanto bactérias com potencial patogênico podem se alojar em algum ponto da corrente circulatória e desenvolver doenças, especialmente quando há alguma anormalidade nas válvulas cardíacas. HEIMDAHL et al. (1990) comentam esses fatos e demonstram com um trabalho simples e objetivo que os estreptococos do grupo viridans são os organismos mais freqüentemente isolados em diversos tipos de intervenções orais.

Embora a endocardite infecciosa possa ser causada por microrganismos como micobactérias, fungos, clamídias, rickettsias, possivelmente vírus e bactérias gram-negativas, os *Streptococcus* e os *Staphylococcus* são as bactérias prevalentes na etiologia dessa patologia. BARCO (1991) observou que 19% dos casos são provocados por *Staphylococcus* enquanto 63% o são por *Streptococcus*. Dentre os *Streptococcus*, o grupo viridans tem sido considerado o mais freqüentemente envolvido, e ainda, dentro deste grupo, o *Streptococcus sanguis* é considerado o principal responsável pelos quadros de endocardite bacteriana (BARREIRO &

SCASSO, 1989; BARCO, 1991; KNOX & HUNTER, 1991; FRANCIOLI et al., 1992; FRANKLIN, 1992; MANFORD et al., 1992).

REVISÃO DA LITERATURA

SUTTER & FINEGOLD (1976) por meio de uma técnica de diluição em ágar, testaram a sensibilidade de 492 bactérias anaeróbias a 23 agentes antimicrobianos. Dentre os antibióticos estudados, a penicilina G se mostrou ativa contra a maioria das cepas, na concentração igual ou menor a 32,0 U/mL, mas somente 72% dos *Bacteroides fragilis* foram suscetíveis a estes níveis. Nove por cento se sensibilizaram com 256,0 U/mL ou mais. A amoxicilina foi eficiente contra apenas 31% dos *B. fragilis*, 76% de outras espécies de *Bacteroides* e 67% de espécies de *Fusobacterium* na concentração de 8µg/mL. A eritromicina inibiu todas as cepas de *Bacteroides fragilis* a 64,0µg/mL, enquanto a tetraciclina demonstrou pouca eficiência para a maioria dos grupos, que exibiram uma tendência a apresentar formas resistentes. O metronidazol demonstrou ser muito ativo contra a maioria dos anaeróbios testados, exceto para cocos gram-positivos e formas não esporuladas de bacilos. Quanto aos estreptococos anaeróbios ou microaerofílicos, os valores das concentrações inibitórias mínimas foram: 16,0µg/mL para a amoxicilina, 0,5µg/mL para a eritromicina, 32,0µg/mL para a tetraciclina, mais de 256,0µg/mL para o metronidazol.

EVERETT & HIRSCHMANN (1977) apresentaram extensa revisão da literatura, concluindo que embora não existam provas de que os antibióticos ministrados antes de procedimentos potencialmente capazes de provocar bacteriemias possam prevenir a endocardite bacteriana em humanos, evidências experimentais em coelhos suportam a sua indicação. Portanto, em situações onde a bacteriemia é altamente previsível parece prudente a administração profilática. Foram consideradas situações de risco as intervenções odontológicas, especialmente as de cunho cirúrgico, e diversas formas de intervenção médica, como a endoscopia gastrointestinal, a sigmoidoscopia, a biópsia de fígado e o enema de bário, em pacientes com válvulas cardíacas protéticas. Para os procedimentos dentais e para endoscopia gastrointestinal superior, os pacientes deveriam receber uma combinação de penicilina e estreptomicina ou vancomicina apenas. Em todos os casos que envolvam o trato urinário e para sigmoidoscopia, biópsia de fígado ou enema de bário, em pacientes com válvulas cardíacas artificiais, a profilaxia deveria ser realizada com ampicilina e gentamicina ou vancomicina e gentamicina.

GOLDSTEIN & MACRINA (1977) salientaram a importância dos fatores de resistência bacteriana extracromossômicos e descreveram os mecanismos de ação e transmissão dos plasmídios, conhecidos como fatores R quando portadores de informações genéticas responsáveis pela produção de substâncias capazes de inativar os antibióticos. Observaram que estes fatores comumente influenciam os processos infecciosos e as terapêuticas antimicrobianas. Relataram que a descoberta do plasmídio R, pequena molécula de DNA presente em algumas células bacterianas e distintas do DNA cromossômico, ocorreu com a constatação de que embora a frequência de mutações capazes de produzir resistência a um ou mais tipos de antibióticos seja de 1 em 10 milhões determinadas espécies bacterianas apresentavam subitamente esta característica. Basicamente, a molécula do plasmídio contém ge-

nes responsáveis pela replicação e transferência, por conjugação, a outras bactérias. Possui ainda genes com funções diversas, como a produção de enzimas capazes de inativar drogas antimicrobianas por hidrólise, fosforilação, acetilação ou adenilação. Estas drogas por sua vez exercem pressão seletiva sobre as bactérias, destruindo as células não portadoras do plasmídeo e facilitando a sobrevivência das células portadoras. As bactérias mais envolvidas nesses processos são geralmente gram-negativas, embora uma espécie gram-positiva, o *Enterococcus faecalis*, relacionada a infecções periapicais, possa também adquirir resistência. Os autores comentaram a possibilidade de transferência plasmídica intragenérica e intergenérica, o que aumenta a possibilidade de aparecimento e manutenção de formas resistentes aos antibióticos.

HORNE & TOMASZ (1977) concluíram ser comum o isolamento de espécies de *Streptococcus sanguis* em casos de endocardite subaguda que apresentam caráter de tolerância à penicilina em testes realizados *in vitro*.

NEWMAN et al. (1979) testaram a suscetibilidade de bactérias anaeróbias e facultativas, isoladas de pacientes com boa saúde e de pessoas com problemas periodontais, aos seguintes agentes: ampicilina, cloranfenicol, clindamicina, eritromicina, penicilina, tetraciclina, metronidazol, alexidine, clorexidina, fluoreto de sódio e eugenol. Identificaram as espécies isoladas, determinaram a concentração inibitória mínima e a concentração bactericida mínima dos fármacos e compararam os resultados com as provas de zonas de inibição por discos. A partir dos dados obtidos, os autores propuseram a standardização do método utilizado para que futuros resultados pudessem ser comparados.

Episódios de bacteriemia foram observados em 3 de 36 pessoas consideradas livres de inflamação gengival, ao final de 2 minutos de escovação padronizada. SILVER et al. (1979) relataram que os microrganismos encontrados nas culturas de amostras de sangue colhidas da veia da fossa antecubital durante os últimos 30 segundos de escovação foram: *Propionibacterium sp.*, *Actinomyces sp.* em duas pessoas e *Streptococcus sanguis* e *Streptococcus mitis* na terceira. Os principais itens discutidos no trabalho foram a possibilidade de contaminação da amostra por bactérias oriundas da pele durante a punção, as dificuldades em determinar-se o grau de saúde gengival e sua relação exata, ainda não determinada, com a bacteriemia transitória reportada no estudo, e o risco de contrair-se endocardite infecciosa.

Com um trabalho rigoroso sob o ponto de vista metodológico, WILLIAMS et al. (1979) avaliaram a eficiência terapêutica da tetraciclina em pacientes periodontalmente comprometidos. Amostras de placa subgengival foram coletadas de 13 indivíduos, dentre os quais 4 receberam doses orais de 1000mg/dia durante 2 semanas e 9 receberam 1000mg/dia durante 1 semana, seguidos de 250mg/dia durante mais um período de tempo que variou entre 21 e 114 dias. Os microrganismos predominantemente cultivados em ambos os grupos foram *Strep-*

tococcus, bastonetes gram-positivos, *Actinomyces* e *Rothia*, sendo que no segundo grupo observou-se um complexo microbiológico muito maior, constituído principalmente por organismos gram-negativos, presumivelmente associados à doença. Foram realizados diversos testes laboratoriais para identificação dos microrganismos e para a determinação das concentrações inibitórias mínimas. Entre os *Actinomyces*, a resistência ao medicamento foi comum somente à espécie *A. odontolyticus*, enquanto cepas de *A. viscosus* presentes em 54% da microbiota subgingival de um paciente demonstrou um nível de resistência intermediário, sobrevivendo em concentrações de 8,0µg/mL de antibiótico nos testes laboratoriais. A resistência à tetraciclina foi perceptível em diversas espécies de bacilos e bastonetes gram-negativos, isolados no grupo de baixa dosagem, tornando evidente a relação entre tempo, dose medicamentosa e resistência bacteriana. Os resultados desses estudos indicaram a necessidade de mais investigações para a determinação da dosagem adequada no uso da tetraciclina como coadjuvante nas terapias periodontais.

GLEISER (1982) apontou os estreptococos do grupo viridans como os mais comumente envolvidos na endocardite bacteriana após procedimentos orais e a necessidade de se direcionar a profilaxia antibiótica contra estes microrganismos. Além disso, observou que na síndrome de Down há 40% de incidência de doença cardíaca, enquanto que na população em geral a incidência é de aproximadamente 6%. Verificou que a febre reumática tem um pico de incidência entre os cinco anos e o final da adolescência, podendo progredir e envolver o coração, causando deformidades nas válvulas cardíacas. O autor salientou a importância de alguns cuidados no atendimento dos pacientes, como a composição de uma história médica criteriosa e a eliminação de doenças dentárias, como cárie e problemas periodontais, antes de procedimentos cirúrgicos, especialmente aqueles potencialmente capazes de causar a doença. Apontou ainda alguns sinais e sintomas de anomalias congênitas cardíacas em crianças relacionados à endocardite: dispnéia, desenvolvimento físico deficiente, baixa estatura, diminuição da tolerância a exercícios, infecções respiratórias recorrentes, sopro cardíaco, cianose, agachamento na posição de cócoras, baqueteamento dos dedos e pressão sanguínea elevada.

GLAUSER et al. (1983) realizaram um estudo controlado sobre a capacidade protetora da amoxicilina em ratos com endocardite experimental provocada por cepas tolerantes de *Streptococcus sanguis* e de *Streptococcus intermedius*, e não tolerantes de *Streptococcus mitior*. Doses únicas de amoxicilina foram suficientes para evitar a doença nos grupos portadores das duas espécies tolerantes, inoculados com dose 90% infecciosa (ID₉₀), mas a proteção diminuiu com o aumento do inóculo, enquanto que para as cepas não tolerantes a ação protetora foi efetiva, mesmo para inóculos 1.000 vezes maiores. Uma correlação íntima ocorreu entre a velocidade de eliminação dos germes, *in vitro*, o tempo de exposição aos níveis bactericidas, *in vivo*, e o tamanho do inóculo, nos casos em que a profilaxia antimicrobiana foi eficiente. Os autores verificaram também que a amoxicilina pare-

ceu proteger possivelmente segundo dois mecanismos: (1) ação letal direta sobre os microrganismos, e (2) inibição da capacidade de aderência bacteriana.

Através de um estudo complexo LOWY et al. (1983) investigaram a resposta de uma cepa tolerante de *Streptococcus sanguis* e de outra não tolerante de *Streptococcus mitis* ao tratamento com penicilina, num modelo de endocardite experimental em coelhos. As concentrações inibitórias e bactericidas mínimas de penicilina G encontradas foram 0,1 e 0,1 μ g/mL, respectivamente, para *S. mitis* e 0,05 e 6,2 μ g/mL, respectivamente, para *S. sanguis*. O antibiótico foi duas vezes mais eficiente na eliminação de cepas não tolerantes do que de cepas tolerantes, *in vitro*, nas concentrações de 2 e de 20 μ g/mL, num intervalo de 24 a 48 horas. Ambas as cepas produziram endocardite com densidade bacteriana comparável nas vegetações valvulares após 2, 4 ou 6 dias de tratamento com doses de 80000 U/kg de penicilina (nível sérico de penicilina após meia hora: 9,4 μ g/mL) a despeito do fato de ter sido mínima a atividade bactericida atingida contra as cepas tolerantes com esses níveis séricos. Com doses de 5000 U/kg (nível sérico de 2,5 μ g/mL após meia hora da administração), no entanto, a terapêutica foi significativamente menos eficiente no grupo tolerante, após o sexto dia de tratamento. Resultados semelhantes foram obtidos com altas e baixas doses quando a penicilina foi utilizada para prevenção da endocardite. Os autores concluíram a partir dos resultados que no modelo animal utilizado a tolerância dos microrganismos à penicilina foi associada a uma diminuição da resposta à terapia somente quando as doses foram severamente restritas. Nos regimes de doses elevadas não houve diferenças significativas na resposta ao tratamento com cepas tolerantes e não tolerantes.

Dezoito pacientes pediátricos portadores de endocardite infecciosa foram examinados por GUNTHEROTH (1984), sendo o mais velho acompanhado por até 20 anos, no Hospital Universitário de Washington, e todos eles receberam recomendações criteriosas para profilaxia antibiótica prévia a procedimentos dentários e cirúrgicos. A maioria dos pacientes sobreviveu a 13 episódios de infecção e 4 morreram vítimas pela doença, embora em nenhuma das situações tratamentos dentários estivessem relacionados. Após revisão da literatura, o autor concluiu que a bacteriemia ocorre mesmo em situações consideradas “fisiológicas”, como no ato da mastigação, podendo cumulativamente ao final de 1 mês atingir níveis 1000 vezes maiores do que durante uma simples avulsão dental. Concluiu que algumas recomendações da AMERICAN HEART ASSOCIATION (AHA) para quimioprofilaxia por via intramuscular ou intravenosa são impraticáveis, e o desconforto e inconveniência do método impedem o próprio tratamento odontológico, julgando preferíveis as recomendações britânicas, baseadas em doses simples de amoxicilina via oral; e, ainda, que as pesquisas parecem indicar a via linfática como possível porta de entrada dos microrganismos para o sangue, ao invés do acesso direto aos vasos sanguíneos, como sugere o Comitê Americano. O trabalho finalmente aponta a escrupulosa higiene dental e oral como formas de prevenção de endocardite bacteriana, indubitavelmente superiores aos regimes quimioprofiláticos.

A penicilina tem sido a droga de escolha para a prevenção da endocardite bacteriana. LEVINER et al. (1984) demonstraram a elevada incidência de cepas de *Streptococcus viridans* na cavidade oral, resistentes a esse antibiótico em populações hospitalares que recebiam menos de 1,65g/dia (8,33% de 24 pacientes) ou mais de 2,25g/dia (48,08% de 52 pacientes) em relação a um grupo controle que não recebia antibiótico (7,89% de 76 pessoas) e não estava associado ao hospital, utilizando o método do antibiograma com discos. Observaram que outros trabalhos sugeriram a importância da participação de cepas específicas dessas bactérias na etiologia da endocardite de origem microbiana e recomendaram com base nessas informações um estudo da microbiota oral, incluindo cultura, isolamento e antibiograma, como exames de rotina para a seleção racional de um antibiótico específico especialmente nos casos de histórias médicas positivas.

BAKER et al. (1985) determinaram as concentrações inibitórias mínimas de 18 antibióticos para grupos numericamente importantes de microrganismos da cavidade oral. Isolaram e identificaram 139 cepas em pessoas com doença periodontal e utilizaram os parâmetros do National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) para a classificação dos níveis de sensibilidade. Oitenta e nove por cento das cepas foram consideradas sensíveis aos níveis séricos alcançados pela tetraciclina e 97% “condicionalmente” suscetíveis às concentrações alcançadas nos fluidos gengivais, pelas formas comuns de administração, segundo as normas interpretativas do NCCLS. Quase todos os grupos continham cepas não suscetíveis aos níveis séricos atingidos pelas doses usuais de eritromicina. Além dos antibióticos citados, os autores apresentaram e discutiram os resultados obtidos com os outros avaliados e concluíram que a tetraciclina pareceu ser uma boa indicação para os tratamentos periodontais.

BERMUDEZ et al. (1985) investigaram a produção *in vitro* de beta-lactamase por 154 cepas de enterobactérias, *Staphylococcus* e *Pseudomonas*, isoladas de pacientes com câncer. O trabalho mostrou que 44% das cepas de *Proteus*, 41% das cepas de *Klebsiella* e 38% das cepas de *E. coli*, previamente sensíveis, em placa, à cefalotina, tornaram-se resistentes após a exposição a um indutor enzimático como a penicilina, passando a produzir beta-lactamases. Os autores comentaram que este fenômeno tem sido denominado de “derepressão enzimática” e que os métodos rotineiramente utilizados, constantemente falham em detectar a resistência à penicilina, já que são realizados sob condições que não favorecem este tipo de modificação microbiana.

GREENSTEIN et al. (1986) analisaram 85 publicações sobre a clorexidina e concluíram que sua aplicação pode auxiliar a terapia periodontal. Discutiram aspectos farmacológicos da droga, formas de uso, potencial de indução de câncer e resistência bacteriana. A respeito do possível aparecimento de formas microbianas resistentes, comentaram a comprovação deste fenômeno por alguns trabalhos, à semelhança do que ocorre com outros agentes antimicrobianos, como os antibióticos, por meio da seleção natural, e citaram chances de efeito mutante sobre

as cepas, descritas por outros autores. No entanto, mencionaram pesquisas em humanos que não apontaram indícios de redução na inibição de placa bacteriana e nem redução da sensibilidade microbiana ao agente.

KINDER et al. (1986) investigaram a microbiota subgengival resistente à penicilina e produtora de beta-lactamase em 21 pacientes com periodontite de adultos que haviam recebido antibióticos durante 6 meses, e em 21 que não receberam quaisquer antibióticos no período prévio de um ano ou mais. Amostras de placas dentárias subgengivais foram cultivadas em anaerobiose em meio não seletivo e em meio seletivo contendo 2,0µg de penicilina G por mililitro. Foram determinadas as concentrações inibitórias mínimas e a produção de beta-lactamase dos organismos que se desenvolveram em meio seletivo, incluindo gram-negativos como *Bacteroides*, *Veillonella*, *Haemophilus*, *Eikenella*, algumas espécies de *Bacteroides* pigmentados, *Capnocytophaga* e *Streptococcus*. Altos níveis de resistência à penicilina, considerando resistentes microrganismos capazes de sobreviver a concentrações a 4,0µg/mL, ocorreram entre espécies de *Haemophilus* e *Streptococcus*, com a CIM₉₀ (concentração inibitória mínima para 90% das cepas isoladas) da penicilina G a 64,0µg/mL. Para o *B. intermedius* a CIM₅₀ (concentração inibitória mínima para 50% das cepas isoladas) da penicilina G foi de 16,0µg/mL e da ampicilina, de 8,0µg/mL. Para o metronidazol, considerando todos os facultativos isolados, incluindo *Haemophilus*, *Capnocytophaga*, *Eikenella corrodens* e estreptococos, a CIM₉₀ foi de 16,0 a 128,0µg/mL, o que indica alta resistência. Foi evidente também a resistência dos gram-negativos, como espécies de *Bacteroides*, à tetraciclina, enquanto o crescimento da maior parte dos isolados foi inibido pela clindamicina, com exceção de algumas espécies de *Bacteroides* e de algumas cepas de *Haemophilus*. A suscetibilidade à penicilina ocorreu para a maioria dos isolados, pois apenas 3% do total de microrganismos foram resistentes ao medicamento. Os autores concluíram que a exposição recente de pessoas com periodontite ao fármaco está associada a um aumento de cepas resistentes.

SKLAVOUNOS et al. (1986) estudaram a microbiota de 40 processos infecciosos orofaciais de origem dentária, em pacientes que tomaram antibióticos por vários dias. Isolaram aeróbios ou anaeróbios facultativos de 21 espécimes, anaeróbios de 17, enquanto em 11 casos houve crescimento polimicrobiano. Os gram-positivos aeróbios predominantes foram *Staphylococcus epidermidis* seguidos pelos *Streptococcus* do grupo A e *Staphylococcus aureus*, enquanto que no grupo anaeróbio gram-positivo predominaram os peptostreptococos e peptococos. Bacilos gram-negativos foram detectados em número pequeno de casos e quantitativamente não houve diferença significativa entre aeróbios e anaeróbios isolados. Testes de suscetibilidade à antibióticos provaram maior eficiência da ampicilina contra aeróbios ou anaeróbios facultativos (98%) e cefoxitina contra anaeróbios (85%). Com relação ao total das cepas, a cefoxitina foi eficiente contra 85%, o cloranfenicol e a tetraciclina contra 80%, a eritromicina contra 75%, a penicilina contra 70%, a clindamicina contra 60% e o metronidazol contra 57,5%.

Hemophilus influenzae tipo B é uma bactéria gram-negativa com particular propensão pelo ataque aos tecidos moles da face. TAYLOR & CARTER (1986) reportaram o caso de uma criança de 18 meses, apresentando inchaço na bochecha direita e febre, previamente tratada com penicilina intramuscular sem sucesso. Inicialmente foi feito um tratamento a base de amoxicilina que falhou em reduzir a tumefação. Foi feita então a aspiração do conteúdo da lesão, e realizada a cultura e o antibiograma, que revelou o envolvimento desse microrganismo e sua alta resistência à ampicilina. Com base nos resultados, foi reiniciada a terapêutica antimicrobiana, mas com cloranfenicol, que também falhou na melhora do problema. O paciente foi submetido à intervenção cirúrgica com incisão intraoral e drenagem do processo que apresentou conteúdo seropurulento em diversas loculações no espaço bucal direito. Com a drenagem ocorreu rápida melhora e cura do processo, tendo o paciente recebido alta após sete dias. A partir dessas observações os autores recomendaram o tratamento cirúrgico para qualquer celulite bucal relacionada a este tipo de bactéria que não demonstre resposta à antibioticoterapia dentro de um período de 48 horas.

ÁVILA-CAMPOS et al. (1988) pesquisarão a suscetibilidade de 41 cepas do *Actinobacillus actinomycetemcomitans* a 17 agentes antimicrobianos, isoladas de indivíduos com periodontite juvenil localizada, de indivíduos sem manifestação clínica de lesão periodontal e de cuspideiras, utilizando o método de difusão em ágar e o da diluição em caldo. Nos dois métodos, todas as cepas foram sensíveis à ampicilina, kanamicina, carbenicilina, cloranfenicol, cefalotina, cefaloridina, cefoxitina, gentamicina e tetraciclina, e resistentes à bacitracina, metronidazol, penicilina G e vancomicina. Lembraram a participação o *A. actinomycetemcomitans* nos processos infecciosos humanos, sobretudo nas endocardites, possivelmente relacionadas à infecções orais, como a periodontite juvenil localizada. Apontaram a utilização de meios de cultura seletivos contendo bacitracina e vancomicina, usados no experimento, como possivelmente responsáveis pelas discrepâncias encontradas na comparação dos dois métodos em relação à alguns antibióticos. Em vista das diferenças da eficiência dos antimicrobianos em comparação aos dados da literatura sugeriram um estudo mais profundo para a determinação da concentração inibitória mínima para os principais microrganismos relacionados com enfermidades periodontais. Por fim, os autores recomendaram para uma melhor orientação terapêutica, testes com um maior número de cepas.

BALTCH et al. (1988) estudaram o tipo e o grau de bacteriemia antecedida por extrações dentárias, limpeza periodontal e outros procedimentos cirúrgicos orais em 124 pacientes com doenças das válvulas cardíacas, sob aplicação parenteral de penicilina G potássica, acrescida ou não de sulfato de estreptomicina ou hidrocloreto de vancomicina, como recomendado pela AHA, em 1977. De modo geral, sob tratamento com penicilina G, com ou sem estreptomicina, a detecção de bactérias em meios de cultura sem penicilinase foi baixa: 14,7% a 16,1% até 5 minutos após o ato cirúrgico, e 3,1% a 9,0% até 30 minutos. Os números e tipos de

organismos recuperados de pacientes que receberam somente penicilina ou penicilina mais estreptomina foram semelhantes. Os anaeróbios foram duas vezes mais freqüentes que os aeróbios, e a bacteriemia polimicrobiana foi rara. Somente um paciente apresentou cultura positiva para estreptococos. A adição de penicilinase ao meio de cultura foi acompanhada de um aumento generalizado de ambos, anaeróbios e aeróbios, incluindo 6 pacientes com bacteriemia estreptocócica. O regime profilático com Vancomicina foi acompanhado de bacteriemia em somente um caso, motivo que levou os autores à sugerirem este antibiótico como alternativa para pacientes de risco que irão se submeter à procedimentos invasivos.

A evolução da sensibilidade bacteriana aos antimicrobianos no Brasil, entre os anos de 1980 a 1986 foi investigada pelo Sistema COBA (Controle Bacteriológico), conduzido pela Sociedade Brasileira de Microbiologia (MONTELLI, 1988). Foram computados os dados provenientes de 20.319 antibiogramas, realizados no período de 1980 a 1984, por laboratórios hospitalares e não hospitalares, cujos métodos foram verificados previamente por um estudo piloto. Numa segunda etapa, que transcorreu de 1984 a 1986, foram reunidas novas amostras de antibiogramas executados pelos mesmos laboratórios, e desenvolvidos os estudos comparativos. MONTELLI (1988) relata que por razões de objetividade foram selecionados os resultados relacionados aos seguintes antimicrobianos: amicacina, ampicilina, cefalotina, cefoxitina, gentamicina e associação sulfametoxazol + trimetoprima, ácido nalidíxico e norfloxacin. Também para maior concisão na explicitação do estudo e por serem germes prevalentes nos achados laboratoriais, foram consideradas apenas 5 bactérias: *E. coli*, *Klebsiella*, *S. aureus*, *Pseudomonas* sp e *Proteus mirabilis*. Os resultados demonstraram, de um modo geral, variações mais ou menos expressivas das taxas de resistência aos antimicrobianos, com observação mais freqüente de elevação dos índices, embora algumas vezes, de significância discutível. Nas amostras de *Klebsiella*, o aumento de resistência foi nítido com relação a todas as drogas, exceto sulfametoxazol + trimetoprima. Por outro lado, houve diminuição dos índices de resistência em algumas oportunidades, sobretudo envolvendo a gentamicina e *S. aureus*. A ampicilina apresentou elevados e persistentes índices de resistência entre as bactérias consideradas. O autor esclareceu que o estudo contribuiu com subsídios de natureza prática em relação à atuação médica, pois possibilita ao clínico tomadas de decisões mais seguras na instituição de antibioticoterapia imediata, quando não há tempo para realização prévia de um antibiograma. Contribuiu também com o serviço hospitalar, orientando o rodízio periódico de antibióticos; com os serviços laboratoriais, que poderão comparar seus resultados com o de outros laboratórios, melhorando a qualidade na aplicação dos métodos. E, ainda, com os serviços de saúde pública, fornecendo informações que orientaram eficientemente os métodos de saneamento.

NASCIMENTO et al. (1988) realizaram testes de sensibilidade *in vitro* de 450 cepas de 11 espécies bacterianas, 3 gram-positivas e 8 gram-negativas, a 29 antibióticos. As cepas foram isoladas de 48 pacientes em estado séptico de uma

unidade hospitalar brasileira de tratamento do choque. Para a prova de sensibilidade foi utilizado o método clássico de Kirby-Bauer. A análise global dos resultados possibilitou a ordenação dos antibióticos, do mais eficiente para o menos eficiente, do seguinte modo: carbapenems (imipenem), quinolonas, aminoglicosídeos, cefalosporinas de terceira geração em uso em nosso meio, cefalosporinas de terceira geração ainda não disponíveis no Brasil e cefalosporinas de primeira e segunda geração. Dentre os *S. aureus*, apenas 28% e 34% foram sensíveis, respectivamente, à ampicilina e à tetraciclina, e todas as 35 cepas testadas se mostraram resistentes à oxacilina e sensíveis à vancomicina.

A produção de beta-lactamase foi considerada um dos mais importantes fatores de resistência microbiana aos agentes beta-lactâmicos encontrados por NORD et al. (1988) e RODRIGUEZ-NORIEGA et al. (1988). A capacidade de bloquear a penetração do fármaco através das membranas celulares e modificar a interação penicilina-proteína de determinadas bactérias, foi um outro fator determinante na resistência. As enzimas beta-lactamases têm sido frequentemente encontradas em cepas de bacteróides e fusobactérias isoladas de infecções orofaríngeas, orofaciais, peritonsilites, tonsilites recorrentes, otites, sinusites maxilares e adenites, em que as falhas da terapêutica a base de penicilina têm sido reportadas em crescente número de casos. Com base nestes fatos NORD et al. (1988) propuseram o uso coadjuvante de agentes inibidores das beta-lactamases como o sulbactam e o ácido clavulânico além de outros antibióticos como a clindamicina e o metronidazol.

ROBERTS & MONCLA (1988) estudaram microrganismos anaeróbios e aeróbios isolados de bolsas periodontais de seis pacientes que não estavam sob antibioticoterapia. Encontraram em todos os casos bactérias resistentes à tetraciclina e conseguiram identificar três novos gêneros de anaeróbios portadores do determinante TetM, considerado responsável pela resistência. O achado sugeriu que este determinante é capaz de persistir e conferir resistência à tetraciclina em gram-positivos e gram-negativos com fisiologia aeróbia ou anaeróbia e está também disseminado em grande variedade das bactérias orais.

BARREIRO & SCASSO (1989) resumiram aspectos anatômicos, etiológicos e patogênicos da endocardite bacteriana. Recordaram a classificação costumeira da doença em dois tipos: aguda simples, de características relativamente benignas para o paciente mas capaz de produzir seqüelas cicatriciais que constituem as cardiopatias valvulares crônicas, e a endocardite maligna, muito heterogênea do ponto de vista etiológico mas com evolução quase sempre fatal. Afirmaram que atualmente a classificação deve se ater mais à equação que rege todos os processos infecciosos: virulência do microrganismo, resistência do hospedeiro cardiopata subjacente e eficácia do tratamento antibacteriano. Salientaram a maior predisposição do coração lesado à doença, e apontaram os estreptococos do grupo viridans como responsáveis por 50% das endocardites bacterianas, embora os estafilococos venham sendo apontados cada vez mais frequentemente como agentes etiológicos. A capacidade de adesão aos trombos que podem se formar com a precipitação de fi-

brina sobre válvulas defeituosas ou lesadas parece favorecer os microrganismos do grupo viridans. Finalmente, indicaram a necessidade de exames microbiológicos precoces e radiografias de tórax como complementação da análise dos sinais e sintomas clínicos, para o estabelecimento de um diagnóstico precoce.

Constatações relevantes foram feitas por BADDOUR et al. (1989), que realizaram um levantamento sobre as observações mais importantes relativas à endocardite infecciosa nos últimos 18 anos, muitas das quais obtidas por meio de modelos experimentais com animais de laboratório, cujos tecidos cardíacos foram lesados por cateteres. Concluíram à luz dos dados provenientes dos modelos experimentais em animais, e das evidências clínicas de infecções humanas, que alguns pontos pareceram ficar mais claros: 1) as infecções do lado direito e esquerdo do coração são patogenticamente muito diferentes; 2) os microrganismos podem adaptar seu fenótipo aos diversos microecossistemas estabelecidos nas infecções do miocárdio; 3) muitos componentes do sistema imune podem influenciar a indução e o curso da doença; 4) a aderência de microrganismos circulantes aos tecidos das válvulas cardíacas anormais parecem depender de uma complexa interação entre os componentes das superfícies biológicas envolvidas.

GODOY et al. (1989) estudaram a suscetibilidade *in vitro* de 1230 cepas de patógenos isolados de pacientes hospitalizados em vários centros urbanos brasileiros ao imipenem, um novo antibiótico beta-lactâmico, cabapenêmico, altamente potente e com amplo espectro de atividade. Foram reconhecidas 41 espécies bacterianas diferentes e comparados dois métodos para medida de sensibilidade: a prova do disco de Kirby-Bauer, modificada segundo o NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS, e a prova da concentração inibitória mínima. Mais de 96% das cepas foram consideradas suscetíveis pela prova do disco (10µg de imipenem), com 92,3% de correspondência para a prova da concentração inibitória mínima (concentrações de até 4,0µg/mL). Oitenta e sete por cento dos *Staphylococcus aureus* foram sensíveis ao novo medicamento. Para *Klebsiella* sp, *E. coli*, *Streptococcus faecalis* e *Bacteroides* sp os percentuais de sensibilidade foram, respectivamente, 98%, 99%, 100% e 100%. Todos os *S. aureus* resistentes ao imipenem apresentaram resistência simultânea à oxacilina.

KILLIAN et al. (1989) observaram que os estreptococos do grupo viridans, os mais freqüentemente relacionados aos casos de endocardites e encontrados em grande número na cavidade oral e faringe, têm permanecido curiosamente refratários a uma classificação satisfatória. Embora diversos estudos taxonômicos apontados pelos autores tenham buscado um consenso internacional, o objetivo ainda não havia sido atingido. Como conseqüência, muitos sinônimos foram aplicados a um mesmo microrganismo. Além disso, várias espécies são de fato geneticamente heterogêneas. Por meio de um estudo detalhado, incluindo cepas isoladas da cavidade oral, faringe e de casos de endocardite bacteriana subaguda, e utilizando métodos sorológicos e bioquímicos modernos, os autores descreveram novas espécies e emendas nas descrições das espécies *S. sanguis*, *S. oralis* e *S. mitis*.

O perfil de sensibilidade de 147 cepas de *S. aureus*, isoladas de pacientes em diálise peritoneal ambulatorial contínua, a 23 antibióticos, foi verificado por LEME et al. (1989). O microrganismo foi apontado como principal agente causal das peritonites ambulatoriais. O método utilizado no experimento foi o de Kirby-Bauer e as amostras foram colhidas das fossas nasais e da pele adjacente à cateteres de Tenckhoff. Resistência à penicilina foi encontrada em quase todas as cepas isoladas. Houve também elevada taxa de resistência à sulfonamida, ampicilina, amoxicilina, tetraciclina, cotrimoxazole, gentamicina e tobramicina. As cefalosporinas e alguns aminoglicosídeos como a amicacina e a netilmicina apresentaram ação eficiente contra o germe. Os autores observaram que o conhecimento do perfil de sensibilidade a agentes antimicrobianos de uma bactéria, freqüentemente isolada numa determinada unidade hospitalar, pode embasar o tratamento empírico das infecções bacterianas com antibióticos.

Analisando extensa e profundamente a literatura relacionada à endocardite bacteriana e respectiva terapêutica profilática, PALLASCH (1989) concluiu que o uso de antibióticos para a prevenção de endocardite infecciosa em pacientes de alto risco e contra infecções induzidas por bacteriemias em indivíduos portadores de próteses cardíacas ou sob hemodiálise, pode ser justificado antes de tratamento dentário. Contudo, por meio de uma perspectiva extremamente crítica, o autor adverte que em muitos casos, levando em consideração a relação risco/benefício, a antibioticoterapia profilática pode não ser melhor para o paciente. Observa ainda que a impressão de que a bacteriemia provocada pelo dentista seria a responsável pela maioria dos casos de endocardite bacteriana, e até de outras doenças microbianas é errônea, pois apenas 4% ou menos dessas infecções são provocadas a partir de tratamentos odontológicos.

WADE & ADDY (1989) isolaram 315 cepas de placas subgingivais de 9 pacientes com periodontite crônica e realizaram testes de sensibilidade à diluições de 1:20 a 1:2560 em água destilada, de solução de gluconato de clorexidina a 0,2% para bochechos. A maioria das cepas testadas foi suscetível a altas diluições, embora algumas espécies de *S. mitior*, *S. sanguis* e *Capnocytophaga* tenham manifestado relativa resistência. Baseados nesses dados, obtidos *in vitro*, os autores concluíram que as soluções de clorexidina para bochechos têm potencial para uso subgingival no tratamento da periodontite crônica, salientando no entanto que outros estudos deveriam verificar a eficiência do anti-séptico no interior da bolsa periodontal, onde fatores como a atividade do medicamento e acesso ao microrganismo poderiam interferir.

A concentração inibitória mínima de agentes anti-placa, como os fluoretos de amina, para amostras de placa dental colhidas de 20 pacientes com doença periodontal inflamatória crônica, foi determinada por BANSAL et al. (1990), que empregaram uma formulação comercial do composto na forma de gel. Os valores variaram de 33,0 a 260,0µg/mL e os microrganismos resistentes, isto é, os que sobreviveram à metade da concentração inibitória mínima, foram cultivados e identifi-

cados. De 33 bactérias isoladas nestas condições, 67% foram anaeróbias estritas e 75% gram-negativas, sendo que as duas isoladas com maior frequência foram *Bacteroides ruminicola ssp. brevis* e *Selenomonas*, nenhuma delas reconhecidamente patogênica. Os autores observaram que o gel apresentou um rápido efeito sobre a viabilidade bacteriana e matou 90% em tempo menor ou igual a 17 minutos.

CHRAÏBI et al. (1990) estabeleceram a atividade antimicrobiana *in vitro* da amoxicilina, josamicina, doxiciclina e metronidazol contra estreptococos α -hemolíticos, incluindo pneumococos, e ainda contra bactérias responsáveis por periodontites e infecções buco-dentais. Os pesquisadores utilizaram um micrométodo rápido, que determinou a concentração inibitória mínima e a concentração bactericida mínima de cada agente. Verificaram que a amoxicilina foi o mais eficiente de todos os fármacos, contra todas as cepas testadas. A doxiciclina agiu eficientemente sobre bactérias periodontais, mas não sobre 50% dos estreptococos, enquanto que a josamicina foi eficiente no controle de estreptococos mas pareceu não ter efeito sobre *Eikenella corrodens* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. A droga metronidazol, inativa para estreptococos, mostrou grande potência contra anaeróbios estritos. Os autores concluíram que para a periodontite e supurações periodontais, os agentes antimicrobianos representam uma valiosa terapêutica adjuvada ao tratamento local, como a raspagem e o alisamento radicular, e são capazes também de prevenir infecções mais sérias, como as endocardites, que podem se desenvolver após extrações dentárias.

FIEHN & WESTERGAARD (1990) examinaram a ocorrência de bactérias resistentes à doxiciclina na região subgengival e nas tonsilas de 12 pessoas periodontalmente saudáveis e de 12 pessoas com doenças periodontais. Do grupo saudável, foram realizadas 6 coletas de material oriundo dos respectivos sítios, em intervalos de 1 mês. Do grupo doente, as coletas foram realizadas antes e 1, 5, 15, 26, 39 e 52 semanas após a terapia periodontal convencional, suplementada com doxiciclina, administrada sistemicamente por 3 semanas (200mg no primeiro dia e 100mg/dia durante 20 dias). Os autores encontraram bactérias resistentes ao antibiótico no grupo saudável, variando em média entre 2,0% e 6,6% do total de viáveis na placa subgengival, e entre 3,0% a 12,4% nas tonsilas, em um período de 6 meses. No grupo doente os percentuais de bactérias resistentes na tonsila e placa subgengival foram, respectivamente, 10 e 20 vezes maiores. Em torno de 6 meses após o término da terapia, os valores retornaram aos níveis basais. Para ambos os grupos a distribuição morfológica de bactérias resistentes foi similar e não afetada pela terapia com doxiciclina, e os cocos gram-negativos foram sempre dominantes.

HEIMDAHL et al. (1990) dividiram cem pacientes saudáveis em 5 grupos, de acordo com o ato operatório a que seriam submetidos: extração dentária, cirurgia para remoção do terceiro molar, raspagem radicular, tratamento endodôntico ou tonsilectomia bilateral. Amostras de sangue de 8,3mL foram colhidas antes, durante e 10 minutos após a realização das intervenções, e processadas pelo método da filtração lítica com posterior incubação em aerobiose e em anaerobiose.

Observaram a ocorrência de bacteriemias em 100% das pessoas que extraíram os dentes, em 55% das que sofreram cirurgia do terceiro molar, em 70% das raspagens radiculares, em 20% das que receberam tratamento endodôntico e em 55% das tonsilectomias. Microrganismos anaeróbios facultativos foram isolados numa frequência muito maior que aeróbios, especialmente os do grupo viridans. Dez minutos após o término dos tratamentos ocorreu pronunciada redução na incidência e na magnitude da bacteriemia. Os autores concluíram que o método da filtração lítica aumenta a precisão no processo de isolamento das cepas; a incubação em aerobiose não aumenta o número de espécies isoladas quando comparada com a incubação em anaerobiose, podendo portanto ser omitida. As técnicas laboratoriais aplicadas aos casos de extração de um único dente, pela alta frequência de bacteriemias que evidenciam, podem servir como um bom modelo de estudo para medidas preventivas.

HURST et al. (1990), a partir uma série de outros trabalhos anteriormente publicados sobre as estimativas de riscos relativos à endocardite infecciosa, representados por várias lesões cardíacas, elaboraram uma tabela dividida em três categorias:

Risco relativamente alto:

- Prótese das valvas cardíacas
- Valvopatia aórtica
- Insuficiência mitral
- Canal arterial patente
- Defeito do septo ventricular
- Coarctação da aorta
- Síndrome de Marfan

Risco intermediário

- Prolapso mitral
- Estenose mitral isolada
- Valvopatia tricúspide
- Valvopatia pulmonar
- Endocardite infecciosa prévia
- Hipertrofia septal assimétrica
- Esclerose aórtica calcificada
- Linhas de hiperalimentação ou de monitorização de pressão que chegam ao átrio direito
- Implantes de próteses intracardíacas não valvares

Risco muito baixo ou desprezível

- Defeitos do septo atrial
- Placas ateroscleróticas
- Coronariopatia
- Aortite sífilítica
- Marcapassos cardíacos

Lesões cardíacas cirurgicamente corrigidas (sem implante de prótese, mais de seis meses após a cirurgia).

Baseados em uma revisão de 86 publicações sobre abscessos dentoalveolares agudos, LEWIS et al. (1990) chegaram a algumas conclusões interessantes sobre os aspectos clínicos e microbiológicos desta enfermidade. Embora pesquisas mais antigas tenham apontado o envolvimento de estreptococos e estafilococos como prováveis agentes causais, estudos mais recentes sugeriram uma participação polimicrobiana, com predominância de estreptococos CO_2 -dependentes, cocos gram-positivos e bacilos gram-negativos estritamente anaeróbios. Aparentemente, técnicas deficientes de coletas, passíveis de contaminação, tempo e meio de transporte incorretos, e métodos inadequados de cultura, poderiam ser responsáveis pelos resultados discordantes encontrados no passado. Nenhum antibiótico isoladamente pareceu ser uniformemente efetivo contra todo o espectro bacteriano encontrado nos abscessos dentoalveolares, ainda que a vasta maioria dos microrganismos tenha se mostrado sensível aos mais utilizados, como a penicilina, amoxicilina e eritromicina. Os autores concluíram que drogas associadas a estes agentes, como por exemplo o metronidazol, poderiam conduzir ao sucesso contra a infecção.

O'CONNOR et al. (1990) quantificaram a suscetibilidade *in vitro* de 55 cepas de amostras de placas subgingivais à minociclina. A concentração de $1,0\mu\text{g/mL}$ foi suficiente para inibir 85% de todas as cepas testadas com a concentração inibitória mínima variando de $0,03$ a $32,0\mu\text{g/mL}$. Para 71% das bactérias a concentração bactericida mínima foi pelo menos 4 vezes superior à concentração inibitória mínima, o que sugeriu uma ação bacteriostática do antimicrobiano. Após 6 a 7 semanas de exposição à doses sub-letais não houve aumento apreciável nas concentrações inibitórias mínimas para a maioria dos organismos, com exceção do *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e do *Campylobacter concisus*. Exposições curtas (6 horas) das bactérias à minociclina ($8,0\mu\text{g/mL}$) reduziram sensivelmente a viabilidade da maior parte dos periodontopatógenos, mas tiveram pouco efeito contra *Veillonella parvula* e *Fusobacterium nucleatum*. Para os autores os resultados obtidos indicaram que a minociclina é capaz de inibir a maioria das bactérias associadas a problemas periodontais e pode matar algumas delas em um tempo comparativamente curto. Além disso, alguns microrganismos testados exibiram baixa suscetibilidade e outros se tornaram menos suscetíveis após a exposição a baixas concentrações por várias semanas ao medicamento.

RAMS et al. (1990) investigaram a ocorrência de bacilos, leveduras e estafilococos em 21 pacientes tratados ou não tratados com 200mg inicialmente e 100mg/dia de doxiciclina, um derivado da tetraciclina, durante 20 dias. Para o estudo colheram amostras de fluidos subgingivais antes da aplicação do fármaco e na segunda e quarta semanas após o término da terapia. Constataram na fase inicial, a presença de um pequeno número dos microrganismos e, após a antibioticoterapia, uma elevação de mais de 10 vezes no número de *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* e estafilococos. Concluíram que a administração sis-

têmica de doxiciclina pode conduzir à uma elevação pelo menos temporária do número de bacilos entéricos, leveduras e estafilococos, indicando um risco no uso freqüente de tetraciclinas nos tratamentos periodontais.

WALKER & GORDON (1990) verificaram o efeito do hidrocloreto de clindamicina em associação à raspagem radicular sobre a microbiota da bolsa periodontal de 9 pacientes com periodontite de adultos severa, refratária aos tratamentos convencionais, incluindo o uso de tetraciclinas. Amostras de placa subgingival foram colhidas antes e durante um ano, com intervalos de 3 meses, após a administração da clindamicina por 7 dias. Anteriormente à terapêutica com clindamicina sítios ativos e controles apresentavam em média 50% de espiroquetas e bacilos móveis e 40% de bacilos gram-negativos anaeróbios. *Bacteroides intermedius* e *Porphyromonas gingivalis* apareciam em grande número e correspondiam a aproximadamente 20% da microbiota nos sítios ativos. Após a administração do antibiótico observaram a diminuição sensível ou eliminação completa dos componentes gram-negativos. Após um ano espiroquetas e bacilos móveis correspondiam juntos a 15% da microbiota, enquanto bacilos gram-negativos anaeróbios a 20%, e *B. intermedius* e *P. gingivalis* combinados, a menos de 2%. A suscetibilidade a antibióticos também foi investigada, e nenhum aumento na microbiota pós-terapia significativo foi observado em 6 bactérias resistentes à clindamicina. Gêneros resistentes à tetraciclina foram isolados. Os autores concluíram que a clindamicina pode ser um medicamento útil na supressão dos microrganismos gram-negativos, como adjunto no tratamento periodontal.

ABU-FANAS et al. (1991) isolaram 61 cepas de bastonetes oriundas de bolsas periodontais de pacientes com periodontite progressiva rápida. As bactérias isoladas foram: *Bacteroides gingivalis* (18 isolados), *Bacteroides intermedius* (8), *Bacteroides oris* (1), *Bacteroides gracilis* (17) e *Fusobacterium nucleatum* (17). Determinaram então a suscetibilidade *in vitro* desses microrganismos à 7 agentes antimicrobianos, utilizando uma técnica de diluição em placas. A amoxicilina e a amoxicilina associada ao ácido clavulânico foram ativas contra todos os bastonetes isolados (CIM < 1,0mg/L) e demonstraram o maior grau de eficiência dentre os agentes testados. O metronidazol foi efetivo contra a maioria dos isolados, exceto para algumas cepas de *B. gracilis*. A eritromicina eliminou diversos microrganismos mas não foi eficiente contra *F. nucleatum* e *B. gracilis*. A penicilina foi menos eficiente que amoxicilina com relação à inibição de *B. gracilis*.

A AMERICAN HEART ASSOCIATION (1991) tem direcionado as tendências mundiais nos cuidados relacionados à prevenção da endocardite bacteriana, e publicou no COUNCIL ON DENTAL THERAPEUTICS, sua última revisão, de dezembro de 1990, em vigor até os dias atuais. Segundo a AHA, certas condições do coração estão mais freqüentemente relacionadas com a endocardite. Os pacientes de risco são os portadores de anomalias congênitas e defeitos endocárdicos ou valvulares adquiridos. Adicionalmente, alguns procedimentos odontológicos exibem um potencial maior que outros para a iniciação da bacteriemia, que acaba por provocar

endocardite. A profilaxia é muito mais eficiente quando administrada peri-operativamente, em doses suficientes para assegurar uma concentração sérica adequada, durante e após o procedimento (administração uma a duas horas antes, seis horas após). Os dentistas devem prever quais procedimentos provocarão bacteriemia. Por exemplo, a penetração de uma mucosa corretamente preparada por uma agulha esterilizada na administração de anestésico local não induzirá bacteriemia, enquanto uma injeção interligamentar através do sulco gengival, provavelmente resultará em bacteriemia. Como a endocardite pode ocorrer a despeito da profilaxia antibiótica, é necessário que os dentistas mantenham sob alto grau de suspeita qualquer evento clínico, como uma febre inexplicável, fraqueza, letargia ou sensação de desconforto, decorrentes de intervenções dentárias consideradas de risco para endocardite. Os dentistas devem procurar reduzir a inflamação gengival em pacientes de risco, ensinando e solicitando a escovação correta dos dentes, uso de fio dental, bochechos com flúor e clorexidina, e realizando profilaxias antes de proceder outros tratamentos dentários. A clorexidina pode ser usada como adjunto da profilaxia antibiótica, particularmente em pacientes sob risco de endocardite e/ou pobre higiene dental. Se uma série de procedimentos operatórios é necessária, é prudente observar um intervalo de pelo menos sete dias entre eles para reduzir o perigo de emergência de cepas microbianas resistentes. Se possível, uma combinação de procedimentos deve ser planejada em um mesmo período de profilaxia. Como os estreptococos alfa-hemolíticos (viridans) têm sido apontados como os agentes etiológicos mais frequentes das endocardites desenvolvidas após tratamento dentário, a profilaxia deve ser direcionada especificamente contra estes organismos.

Condições cardíacas que indicam a profilaxia contra endocardite:

- a. Válvulas cardíacas protéticas*
- b. Pacientes com história prévia de endocardite bacteriana, mesmo na ausência de doença cardíaca*
- c. Desvios sistêmico-pulmonares construídos cirurgicamente*
- d. Maioria das malformações congênitas
- e. Disfunções valvulares reumáticas e outras adquiridas, mesmo após cirurgia valvular
- f. Cardiomiopatia hipertrófica
- g. Prolapso da válvula mitral com regurgitação valvular

* Pacientes sob alto risco de desenvolvimento de endocardite bacteriana.

Condições cardíacas que dispensam a profilaxia contra endocardite:

- a. Defeito do septo atrial secundário isolado
- b. Reparo cirúrgico sem seqüela após seis meses de:
 - 1) Defeito do septo atrial secundário
 - 2) Defeito septal ventricular
 - 3) Ducto arterial patente
- c. Cirurgia prévia do desvio da artéria coronária
- d. Prolapso da válvula mitral sem regurgitação valvular
- e. Murmúrios cardíacos fisiológicos, funcionais ou inocentes
- f. Doença de Kawasaki prévia, sem disfunção valvular
- g. Febre reumática prévia, sem disfunção valvular

h. Marcapassos cardíacos e desfibriladores implantados

Procedimentos dentários que indicam a profilaxia contra endocardite:

- a. Procedimentos indutores de sangramento gengival ou da mucosa, incluindo profilaxia dental
- b. Incisão e drenagem de tecidos infectados
- c. Injeções interligamentares

Regime profilático padrão para procedimentos dentários:

- a. Amoxicilina: 3,0g via oral antes do procedimento; 1,5g 6 horas após a dose inicial.
- b. Para pacientes alérgicos à amoxicilina/penicilina:
 - 1) Etilsuccinato de eritromicina 800mg ou estearato de eritromicina 1,0g via oral 2 horas antes do procedimento, e então metade da dose 6 horas após a dose inicial
ou
 - 2) Clindamicina 300mg 1 hora antes do procedimento, e 150mg 6 horas após a dose inicial
- c. Para pacientes de risco, incapazes de ingerir medicamentos por via oral:
 - 1) Ampicilina 2,0g IV ou IM 30 minutos antes do procedimento, e 1,0g de ampicilina IV ou IM (ou 1,5g amoxicilina via oral) 6 horas após a dose inicial
 - 2) Se alérgico à ampicilina/penicilina - clindamicina 300mg IV 30 minutos antes do procedimento e 150mg IV (ou via oral) 6 horas após a dose inicial
- d. Para pacientes de alto risco, para os quais o profissional deseja utilizar regime parenteral:
 - 1) Ampicilina 2,0g IV ou IM mais gentamicina 1,5mg/kg IV ou IM (não excedendo 80mg) meia hora antes do procedimento, seguida por 1,5g de amoxicilina via oral 6 horas após a dose inicial. Alternativamente, a dose parenteral deve ser repetida 8 horas após a dose inicial.
 - 2) Se alérgico à ampicilina/penicilina - vancomicina 1,0g, administrada por 1 hora, iniciando 1 hora antes do procedimento. Não há necessidade de repetir a dose.
- e. Lista de doses pediátricas iniciais. Doses subseqüentes devem ser a metade da dose inicial. A dose pediátrica total não deve exceder a dosagem indicada para o adulto.

1) Amoxicilina	-	50mg/kg
2) Etilsuccinato ou estearato de eritromicina	-	20mg/kg
3) Clindamicina	-	10mg/kg
4) Ampicilina	-	50mg/kg
5) Gentamicina	-	2mg/kg
6) Vancomicina	-	20mg/kg

A resistência associada ao plasmídeo é encontrada entre outras bactérias, como a *Listeria*, causadora de uma doença fatal. FACINELLI et al. (1991) isolaram 98 cepas de *L. monocytogenes* e 85 de *L. innocua* em amostras de mozzarella e salsicha, demonstrando que nenhuma delas era resistente à ampicilina, vancomicina, cloranfenicol ou cotrimoxazole, mas 4 da primeira espécie e 15 da segunda eram resistentes a um ou mais antibióticos, como eritromicina, kanamicina, gentamicina, rifampicina, estreptomicina, sulfametoxazole ou tetraciclina. Destas resistentes, 3/4 de *L. monocytogenes* e 6/15 de *L. innocua* apresentavam plasmídeo. Observaram ainda que a resistência da *L. innocua*, um habitante inofensivo do trato gastrointestinal pode estar associada à ampla utilização de tetraciclina nos alimentos. Os autores concluíram que embora outros pesquisadores tenham encontrado poucas espécies portadoras de plasmídeo em casos clínicos e sugerido que a

resistência múltipla a antibióticos provavelmente teria se desenvolvido no intestino ou na vagina, é possível que haja uma relação entre a resistência desses microrganismos encontrados em alimentos e as doenças infecciosas provocadas por eles.

FREITAS (1991) procurou identificar as principais causas das falhas terapêuticas com antibióticos e os mecanismos de resistência microbiana conhecidos até a ocasião. A partir de 51 amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de pacientes atendidos em um hospital, estudou o fenômeno da tolerância microbiana à amicacina, cefalotina, cefoxitina, oxacilina e vancomicina. Considerou cepa tolerante aquela cuja concentração letal de antibiótico é maior ou igual a 16 vezes a concentração inibitória mínima. Para determinação das concentrações inibitórias inoculou 10^5 ufc/mL em cada um de uma série de 12 tubos contendo meio de cultura com cada um dos antibióticos em concentrações decrescentes. Após 24 horas a 37°C e a determinação da concentração inibitória mínima, inoculou 10,0 μL da cultura líquida em meio de cultura sólido. Decorrido o período de incubação nas mesmas condições do meio líquido determinou a concentração bactericida mínima, isto é, a menor concentração da droga que mata 99,9% do inóculo. Encontrou um índice de 2% de tolerância das cepas de *S. aureus* frente à cefoxitina, 9% em relação à amicacina, 12% para a cefalotina e 22% para oxacilina. Nenhuma das cepas tolerantes a estes antibióticos exibiu tolerância à vancomicina. Levando em conta que a oxacilina era o antibiótico mais utilizado no hospital, a cefoxitina o menos utilizado e o fato de estarem associados, respectivamente, à maior e à menor taxa de tolerância, pois em questão a possibilidade de indução de tolerância com o aumento da frequência de uso dos antibióticos. Isto sugeriu também que a vancomicina fosse considerada o antibiótico de escolha para o combate das infecções provocadas pelas cepas tolerantes de *S. aureus*, apesar dos efeitos colaterais significativos do fármaco e evidenciou a importância clínica do conhecimento da concentração bactericida mínima em adição à concentração inibitória mínima na instituição adequada do antibiótico e sua dose.

HELOVUO et al. (1991) reportaram três casos de necrose pós-cirúrgica associadas à antibioticoterapia, com isolamento dos microrganismos responsáveis e antibiograma. Os microrganismos encontrados no material purulento coletado da região atingida foram *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli* e estafilococos coagulase-negativa produtores de penicilinase, todos apresentando resistência aos medicamentos utilizados. Os pesquisadores atentaram para o fato de que estas bactérias têm sido frequentemente apontadas como causadoras de superinfecções, e seu desaparecimento após a reparação tecidual, nos casos em questão, os levou a crer que estavam diante de infecções provocadas por estas espécies microbianas.

KNOX & HUNTER (1991) em revisão da literatura analisaram o papel das bactérias na patogenia da endocardite infecciosa, salientando a importância dos estreptococos do grupo viridans, envolvidos na metade dos casos, e em especial do *Streptococcus sanguis*, responsável por 25%, além de outros microrganismos

como os lactobacilos (supostamente 5% a 27% de todos os casos), *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Staphylococcus aureus* (40% a 50% para pacientes viciados em drogas) e até mesmo dos fungos, como *Candida albicans* e *Candida parapsilosis* (4% a 14% - nos casos de viciados em drogas). Destes casos 15% a 40% seriam provocados por tratamentos dentários realizados até um período de três meses antes da manifestação do problema. Apontaram como pré-requisito para o desenvolvimento da doença, anormalidades vasculares ou de defesa do organismo, defeitos congênitos, vegetações nas válvulas cardíacas provocadas por febre reumática, traumas provocados por endoscopia, alterações conseqüentes à colocação de válvulas protéticas, traumas intravenosos nos casos de viciados em drogas, além de imunodeficiências como a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA). Relacionaram ainda os fatores locais mais importantes: as características da superfície celular microbiana, os mecanismos de adesão dos microrganismos aos tecidos cardíacos, o efeito dos antibióticos sobre as paredes celulares, ações bacterianas antifagocitárias, reações teciduais cruzadas e formação de trombos, lembrando que os microrganismos orais estão relacionados a aproximadamente 30% dos casos de mortalidade por endocardite e por outras doenças cardiovasculares, como a aterosclerose e o infarto do miocárdio.

A verificação da flutuação no número de bactérias resistentes à doxiciclina na placa subgengival e cavidade oral, antes e 3, 13, 26 e 52 semanas após a aplicação tópica do mesmo antibiótico, nas bolsas periodontais proximais de 5 pacientes que receberam raspagem radicular concomitante, foi o objetivo do trabalho de LARSEN (1991). Nas línguas e tonsilas de pacientes que receberam o medicamento, o percentual de bactérias resistentes aumentou de menos de 1% para 22% e 35%, respectivamente, imediatamente após o tratamento, mas retornou aos níveis basais na décima terceira semana, enquanto em sítios controle nenhum aumento foi observado. Cocos gram-positivos constituíram a maioria dos resistentes em todos os locais testados, numa proporção de 73% a 94%. A distribuição morfológica de bactérias resistentes não foi afetada pelo uso da doxiciclina e a administração local da droga resultou conclusivamente em apenas um aumento transitório na resistência da microbiota oral.

MAGNUSSON et al. (1991) analisaram a relação entre perda de inserção gengival e parâmetros clínicos, microbiológicos e imunológicos em um grupo de 21 pacientes "refratários" à tratamentos periodontais prévios. Todos já haviam se submetido à cirurgia periodontal e terapêutica a base de tetraciclina mas apresentavam indícios de progressão da enfermidade. No início do experimento foram efetuadas raspagens criteriosas, sondagem com mensuração da profundidade de bolsas e instituídos métodos de higiene oral. Quando, mesmo com estas medidas preliminares, se observava a continuidade da perda de inserção, amostras de placa bacteriana eram colhidas das áreas atingidas e de sítios quiescentes, e exames de sangue eram realizados. A placa era processada microbiologicamente e o sangue analisado quanto aos níveis de anticorpos específicos. Das 21 pessoas, 20 passaram por estes

últimos procedimentos, sendo que 17 exibiram índices elevados de anticorpos contra um ou mais dos seguintes organismos: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis*, e *Eikenella corrodens*. Os autores quase não encontraram os patógenos “clássicos” das doenças periodontais crônicas nas amostras obtidas, sendo a única exceção o *Streptococcus intermedius*, que ocorreu em número ligeiramente maior nos sítios ativos. Inferiram então, que a etiologia do problema poderia estar associada a um possível caráter patógeno das cepas gram-positivas, ou à falha na detecção de microrganismos reconhecidamente periodontopatogênicos que estariam infiltrados nos tecidos e portanto não teriam sido colhidos pelos métodos utilizados.

MARTIN & HARDY (1991) documentaram a possibilidade de transmissão de espécies microbianas resistentes a antibióticos na clínica odontológica. Relataram dois casos atendidos num mesmo hospital que apresentaram, segundo exames microbiológicos de rotina, infecção oral localizada provocada por *Staphylococcus aureus*, fago 29, resistente a meticilina, cefalosporina, ácido fusídico, penicilina, estreptomicina, sulfonamida e trimetoprima e sensível a gentamicina, tetraciclina e eritromicina, tratados por um mesmo clínico geral que atendia sem luvas. Após a identificação do mesmo microrganismo nas mãos do cirurgião-dentista e em outro hospital onde o mesmo havia sido operado um ano antes do fato, procedeu-se ao uso de anti-sépticos como a clorexidina e triclosan, além de creme com neomicina, segundo sistema instituído pelos autores a fim de eliminar a bactéria, objetivo comprovadamente atingido com o tratamento, a partir de então adotado pela HOSPITAL INFECTION SOCIETY inglesa e BRITISH SOCIETY FOR ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY. Esta última recebeu também propostas para modificações de determinadas condutas frente à profilaxia antibiótica para a endocardite, de SIMMONS et al., em 1986. Foram três as propostas encaminhadas: 1) a utilização da via oral antes da sedação, nos casos de intervenções sob anestesia geral, ao invés da parenteral, durante o ato cirúrgico; 2) a administração de amoxicilina e não da eritromicina para pacientes portadores de microrganismos resistentes à amoxicilina que deverão se submeter a tratamento dentário, por já ter sido demonstrado em pesquisas prévias que a resistência à amoxicilina é transitória, e que o desenvolvimento de resistência às eritromicinas é mais provável; 3) a administração de 1g de vancomicina por infusão intravenosa lenta (60 minutos), seguida de 120mg de gentamicina por via intravenosa, imediatamente após a indução anestésica, nos casos de anestesia geral, em pacientes alérgicos à penicilina, contrariamente à entidade, que recomenda a administração de vancomicina em 20 a 30 minutos, a fim de reduzir os riscos de efeitos colaterais.

Qualquer tipo de bactéria e, mais raramente, fungos, riquetsias (febre Q), clamídias e possivelmente vírus podem, a princípio, ser responsabilizados pela causa da variante infecciosa da endocardite. A espécie reputada como mais frequente tem sido a dos estreptococos, especialmente os do grupo viridans, seguidos do grupo bovis, faecalis e outros. Esses organismos invasivos, de virulência relativamen-

te baixa, são os causadores dominantes da doença aguda, porque possuem em geral a capacidade particular de se alojar firmemente nos tecidos comprometidos. O *Staphylococcus aureus* tem sido reconhecido cada vez mais como responsável por endocardites agudas, apresentando habilidade em instalar-se nas valvas cardíacas previamente normais; é o agente predominante na endocardite provocada pelo uso de drogas intravenosas e a causa principal da endocardite valvar protética. É um vilão comumente presente nos meios nosocomiais, muitas vezes demonstrando alto grau de virulência. Outros agentes etiológicos importantes incluem *Streptococcus pneumoniae*, bacilos gram-negativos, em particular a *Escherichia coli*, a *Neisseria gonorrhoeae* e incomumente organismos saprófitas. Em pacientes que abusam de drogas intravenosas é mais comum a infecção por *Candida*, *Aspergillus* e contaminantes da pele, como *S. aureus* e *S. epidermidis*, porém mais tarde predominam os estreptococos. Em cerca de 5 a 10% de todos os casos de endocardite não se consegue isolar microrganismos a partir de hemoculturas, seja por causa de dificuldades técnicas do método microbiológico empregado, por que as bactérias se encontram profundamente radicadas nas vegetações e não são liberadas no sangue, ou pelo uso prévio de antibióticos (ROBBINS et al., 1991).

SUASSUNA & ALVES (1991) avaliaram *in vitro* a evolução da sensibilidade das bactérias gram-negativas mais comumente envolvidas em processos infecciosos aos aminoglicosídeos. Para as autoras, a resistência das bactérias aos aminoglicosídeos pode ser dividida em três categorias: a presença de enzimas inativadoras, que constitui a forma mais importante, a indução de resistência ribossômica e a redução na captação dos aminoglicosídeos. Determinaram a eficiência dos antibióticos amicacina, gentamicina, netilmicina e tobramicina frente às bactérias *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus mirabilis*, *Proteus* indol positivos, *Providencia*, *Serratia* e *Pseudomonas aeruginosa*. Muitos dos antibióticos, e entre eles, diversos aminoglicosídeos, apresentaram uma queda na percentagem de sensibilidade bacteriana com o decorrer do tempo. A amicacina manteve-se ativa, com altas percentagens de sensibilidade contra as principais bactérias gram-negativas. Esta sensibilidade mostrou-se sempre superior à da gentamicina, durante o período de três anos abrangidos pelo estudo.

A concentração inibitória mínima do digluconato de clorexidina a 0,12% para *Candida albicans* presente na mucosa bucal e língua de 26 pacientes que receberam transplantes de medula óssea foi determinada por THURMOND et al. (1991), com a aplicação de um método de diluição em meio de cultura. As coletas de material foram realizadas com o uso de zaragatoas, semanalmente, por um período de 56 dias, sob um regime de bochechos diários. A média das concentrações inibitórias mínimas de todo o período para amostras de leveduras selecionadas randomicamente em cada semana foi de 8,5µg/mL. A média para as cepas isoladas na primeira semana foi de 7,9µg/mL e na oitava semana, de 8,8µg/mL. Analisando esses resultados os autores concluíram que a persistência deste microrganismo em pacientes receptores de transplante de medula óssea não foi devido à baixa sus-

cetibilidade ao agente anti-séptico e nem ao desenvolvimento de cepas resistentes. Possivelmente, os resultados encontrados foram decorrentes das variabilidades inerentes aos métodos utilizados.

A febre persistente, apesar de um tratamento adequado, pode ser um sinal ominoso, de acordo com BLUMBERG et al. (1992), que avaliaram 26 pacientes medicados, com 27 episódios de endocardite e febre. A duração média do estado febril foi de 35 dias, sendo que a infecção cardíaca foi a causa em 13 dos pacientes, 7 dos quais tiveram abscessos do miocárdio. Dos 26 pacientes, 16 necessitaram de cirurgia cardíaca. Vinte e dois e mais 5 pacientes do grupo controle, portadores de endocardite mas sem febre, desenvolveram complicações hospitalares, e 6, de um grupo que apresentava febre morreram, 5 dos quais com problemas relacionados à endocardite. Os autores concluíram que febre persistente indica, não raro, complicações do endocárdio e o diagnóstico desses casos é de difícil definição.

DUFFIN et al. (1992) repetiram pesquisa realizada por McGowan & Tuohy em 1968 para a identificação de pacientes portadores de lesões cardíacas suscetíveis à endocardite infecciosa, verificando ainda por meio de questionários, se precauções adequadas foram tomadas por médicos e dentistas em relação à cobertura com antibióticos nos procedimentos cirúrgico-dentários. O trabalho selecionou 133 de 2554 pessoas em Belfast e 44 de 2783 em Glasgow no período de 1988 a 1989, contra 103 de 1968 em Belfast. Verificaram que os pacientes considerados “de risco” estão sendo 40% (em Belfast) mais questionados pelos dentistas e apenas 17% mais avisados pelos médicos, sobre os riscos dos problemas associados à endocardite, do que em 1968. Concluíram, que apesar do estudo ter demonstrado que este tipo de pacientes estivesse recebendo profilaxia antibiótica com maior frequência nos procedimentos odontológicos do que em 1968, há ainda espaço para a melhoria das informações fornecidas pelos médicos e cirurgiões-dentistas com respeito ao problema.

GIGLIO et al. (1992) determinaram a incidência de bacteriemias após a remoção de suturas orais em 42 pacientes saudáveis, não submetidos à antibioterapia profilática, por meio da análise de volumes de 10 ou 20mL de sangue, colhidos num intervalo de 2 minutos. O teste do X^2 indicou uma relação altamente significativa entre a remoção de 5 ou mais suturas e a bacteriemia, em 16% dos 25 pacientes do grupo I, e 6% dos 17 pacientes do grupo II, este último, selecionado para pesquisa mais apurada de organismos anaeróbios. As bactérias isoladas foram *Streptococcus sanguis II*, *Streptococcus millieri I*, *Streptococcus mitis* e *Bacillus sp.* no primeiro grupo e *Peptostreptococcus* no grupo II. A conclusão foi a de que a relação encontrada entre a remoção de sutura e incidência de bacteriemias sugere profilaxia antibiótica para os pacientes de risco, especialmente nos casos de remoções múltiplas e nos casos de problemas cardíacos considerados de alto risco.

HAY et al. (1992) publicaram as recomendações de 1985 do COMMITTEE OF THE NATIONAL HEART FOUNDATION OF NEW ZEALAND para profilaxia anti-

biótica contra endocardite bacteriana associada a procedimentos odontológicos. Essencialmente as recomendações são semelhantes àquelas da BSAC de 1982 e da AHA, 1984, que optaram pela utilização da amoxicilina como regime principal, e da clindamicina como alternativa para os pacientes alérgicos ou já em tratamento com penicilina. As razões para a escolha da clindamicina incluem o paladar desagradável de doses altas de eritromicina, a baixa incidência de diarreia associada a uma ou duas doses e a eficácia do sal, comprovada experimentalmente. Os autores observaram que, para procedimentos odontológicos e do trato respiratório, a ação deve ser contra os estreptococos do grupo viridans, em contraste com as intervenções no trato genito-urinário, cujos inimigos principais são os enterococos. A terapêutica profilática recomendada pelo Comitê para procedimentos odontológicos e do trato respiratório é a que segue:

1. Regime Padrão:

Amoxicilina 2,0g via oral 1 hora antes do procedimento;
Amoxicilina 1,0g via oral 6 horas mais tarde.

2. Alergia às penicilinas, tratamentos recentes com penicilinas, profilaxia prévia longa com penicilinas:

Estearato de eritromicina 1,0g via oral 1 a 2 horas antes do procedimento;
Estearato de eritromicina 0,5g via oral 6 horas mais tarde.
Alternativamente: clindamicina 300mg via oral 1 hora antes do procedimento;
Clindamicina 150mg via oral 6 horas mais tarde.

3. Regime intravenoso para pacientes incapazes de usar a via oral (por exemplo, sob anestesia geral):

Amoxicilina 1,0g IV imediatamente antes do procedimento;
Amoxicilina 1,0g via oral ou IV 6 horas mais tarde.

Para os alérgicos à penicilina, os tratados recentemente com penicilinas ou sob profilaxia longa com penicilinas:

Vancomicina 1,0g IV 1 hora antes do procedimento,
ou Clindamicina 300g IV imediatamente antes do procedimento;
Clindamicina 150g via oral ou IV 6 horas mais tarde.

4. Regime preferido para pacientes de “alto risco”:

Amoxicilina 1,0g IV imediatamente antes do procedimento;
Na presença de infecção, gentamicina 120mg IV deve ser administrada concomitantemente;
Amoxicilina 1,0g IV ou via oral 6 horas mais tarde.

Para os alérgicos às penicilinas, os tratados recentemente com penicilinas ou sob profilaxia longa com penicilinas:

Vancomicina ou Clindamicina segundo item (3).

Nota 1: Penicilina V via oral pode ser uma alternativa à amoxicilina oral. O uso de benzilpenicilina pode ser a alternativa para todas as recomendações de amoxicilina via parenteral.

Nota 2: Tratamento recente com penicilina significa mais do que uma dose de qualquer penicilina ou cefalosporina no último mês.

Nota 3: Pacientes de “alto risco” são aqueles portadores de próteses, válvulas heterógenas ou homogêneas; aqueles com lesões severas das válvulas aórtica ou mitral; com história de endocardite bacteriana. O Regime Padrão pode ser utilizado para tais pacientes, mas não é a opção preferida.

MANSUR et al. (1992) estudaram 386 complicações em 300 episódios de endocardite de 287 pacientes tratados em um centro para doenças cardíacas. Complicação foi o termo utilizado para caracterizar qualquer evento clínico desfavorável ocorrido durante o tratamento. Os estreptococos foram os microrganismos responsáveis por 147 episódios, *Staphylococcus aureus* por 59, *Staphylococcus epidermidis* por 14, bactérias gram-negativas por 16, outros organismos gram-positivos por 8 e fungos por 4. Setenta e oito pacientes (26%) morreram. As complicações cardíacas foram as mais comuns, mas as maiores taxas de letalidade foram para as complicações neurológicas e sépticas, que excederam os índices de sobrevivência. Dentre as complicações sépticas, as provocadas pelo *S. aureus* foram, juntamente com as infecções refratárias, as mais comuns e responsáveis por casos fatais nos primeiros dias de hospitalização. Os pesquisadores revelaram ainda que não foram raras as complicações associadas à terapia antimicrobiana (35 complicações, correspondendo a 11,6%), sendo observados 9 casos de efeito tóxico por estreptomicinas. A partir desses dados, os autores concluíram que as infecções não controladas, além das complicações neurológicas, parecem ocupar o lugar das falhas cardíacas como principais causas de morte de pacientes com endocardite infecciosa.

MOTTI & AMATO NETO (1992) verificaram os padrões de resistência de 435 cepas de bacilos gram-negativos, isoladas de pacientes internados em unidades de terapia intensiva de 5 hospitais brasileiros, frente a 16 agentes antimicrobianos. O método utilizado foi o da determinação das concentrações inibitórias mínimas por meio de estojos comerciais. As espécies prevalentes foram *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Acinetobacter calcoaceticus*, totalizando 80% dos isolados. Os antibióticos considerados mais eficientes foram ciprofloxacina e imipenem, ambos inibindo 80% das cepas. Houve marcada resistência cruzada entre a ceftazidina e os demais antibióticos beta-lactâmicos, com exceção do imipenem. Os autores concluíram que é muito importante conhecer profundamente o padrão de sensibilidade e resistência cruzada em cada instituição, para que se possa estabelecer parâmetros para determinação de esquemas fixos de tratamento empírico, quase regra geral nas unidades de terapia intensiva, e para as estratégias de reserva ou não de antibióticos, em casos de falha terapêutica ou para a associação de drogas.

NEWMAN (1992) comparando a conduta clínica do cirurgião-dentista do século passado com a atitude profissional dos tempos atuais, ressalta que estamos na idade do diagnóstico. O autor, em sua publicação puramente analítica, atenta para o fato de que a classificação precisa dos problemas periodontais, dos processos cariosos e suas relações com as infecções de órgãos alvos do corpo, e a colaboração dos colegas da área médica na assistência e prevenção de problemas sis-

têmicos graves, são os fatores que podem reverter o quadro criado há 70 anos atrás, quando se praticavam extrações seriadas para se eliminar os riscos da infecção focal.

Metronidazol é uma droga que tem sido largamente utilizada em infecções anaeróbias, como as pericoronarites agudas e, embora seu efeito seja bem documentado, alguns trabalhos se contradizem quanto a eficácia nos casos da alveolite seca. RITZAU et al. (1992) publicaram um estudo em 270 pacientes que receberam uma dose de 1000mg do medicamento pelo menos 30 minutos antes de se submeterem à avulsões dentárias. Embora os autores tenham levado em conta o sexo, a idade, o dente a ser removido, a experiência do cirurgião, o tempo de medicação e a duração do ato cirúrgico, não encontraram diferenças significativas na ocorrência de alveolite seca entre um grupo que recebeu metronidazol em uma única dose e um grupo placebo.

TAN & GILL (1992) compararam as respostas a um questionário enviado a 119 cirurgiões-dentistas registrados no distrito de Wirral, Inglaterra, com as recomendações da BRITISH SOCIETY OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY. A pesquisa se referiu à necessidade ou não de cobertura antibiótica para a realização de alguns procedimentos clínicos em pacientes considerados de “alto risco” ou “baixo risco”. A maioria dos 75% de profissionais que responderam ao teste, relatou agir de acordo com as normas da BSAC para pacientes de “baixo risco”, porém constatou-se que no caso de pacientes de “alto risco”, a conduta era a de estender a antibioticoterapia a um número maior de tipos diferentes de tratamento, negligenciando atendimento hospitalar e a administração parenteral de antibióticos, como recomendava a Entidade.

YAMALIK et al. (1992) compararam o efeito da irrigação do sulco gengival, considerado fonte importante de bacteriemias nas extrações dentárias, com três agentes anti-sépticos: peróxido de hidrogênio, clorexidina e povidone iodine, sobre a frequência de bactérias na corrente sanguínea, com tempo padronizado em 3 minutos após o ato cirúrgico. Em 80 pacientes testados, com idade média de 36,6 anos e índice de higiene oral de Greene & Vermillion de 1.3-3.0 (médio), todos os que receberam irrigação com as soluções anti-sépticas apresentaram redução do número de bactérias no sangue, em relação ao grupo controle, sendo que o grupo que recebeu irrigação com povidone iodine apresentou redução estatisticamente significativa. Enquanto no grupo controle, que não recebeu nenhum tipo de irrigação, a frequência de bacteriemias foi de 70%, no grupo que recebeu povidone iodine a frequência foi de 35%, no grupo que recebeu clorexidina, 40%, e no que recebeu peróxido de hidrogênio, 50%.

BOTHA et al. (1993) salientaram que embora haja alguma similaridade nos padrões de suscetibilidade aos agentes antimicrobianos de algumas espécies bacterianas, cepas da mesma espécie podem tornar-se resistentes à antibióticos específicos, e que embora muitos dos sais existentes possam ser utilizados ainda hoje,

o grau de resistência de determinadas cepas chega a ser alarmante. Atentaram para a dificuldade na comparação de resultados de pesquisas devido à variações metodológicas e, por isso, recomendaram testes de sensibilidade aos antibióticos para infecções anaeróbias específicas, antes da prescrição do medicamento. À partir da análise de 15 abscessos orofaciais de origem traumática, concluíram que as espécies de *Bacteroides*, predominantes, juntamente com outras, coadjuvantes, como *Clostridium*, deveriam receber atenção especial pela alta prevalência. Refletiram sobre a necessidade de standardização dos métodos de sensibilidade aos antibióticos, e consideraram que vários antibióticos populares como a ampicilina, a tetraciclina e o metronidazol podem ainda ser prescritos com sucesso, enquanto outros, como a eritromicina, parecem estar mais sujeitos ao fracasso, devido à maior incidência de formas microbianas resistentes. Esses dados indicam a necessidade de mais pesquisas na área, especialmente porque os microrganismos podem variar em diferentes ecossistemas.

Nos últimos anos uma considerável revisão taxonômica modificou diversas vezes a classificação dos estreptococos orais, mas há ainda pouca informação sobre a relação entre espécies definidas e doenças associadas. DOUGLAS et al. (1993) investigaram a identidade de 47 cepas de estreptococos da cavidade oral coletados de 42 casos de endocardite infecciosa confirmados, utilizando esquemas propostos recentemente pelos próprios autores em trabalhos prévios e por BEIGHTON et al. (1991). As espécies identificadas com maior frequência foram: *Streptococcus sanguis* – *sensu stricto* – (31,9%), *Streptococcus oralis* (29,8%) e *Streptococcus gordonii* (12,7%). Outras espécies menos comuns foram *S. mitis* e *S. parasanguis*. O estudo demonstrou que a complexa classificação microbiana e o reconhecimento de novas espécies podem gerar problemas na identificação dos agentes etiológicos da endocardite bacteriana, o que aumenta a importância da standardização dos métodos laboratoriais.

FANG et al. (1993) em estudo envolvendo 171 pacientes, portadores de válvulas cardíacas protéticas com bacteriemia ou endocardite, oriundos de vários centros médicos americanos, determinaram a incidência, os fatores de risco e o efeito da duração da antibioticoterapia em relação ao desenvolvimento da doença. Dos 171 pacientes, 43% desenvolveram endocardite: 33% apresentaram endocardite no momento em que a bacteriemia foi diagnosticada por meio de exames de sangue, e 11% desenvolveram a patologia num período de 45 dias após o descobrimento da bacteriemia. Dos microrganismos envolvidos, os *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* foram os mais frequentes no desenvolvimento de 18 casos “novos”, diagnosticados após a internação, sendo que em 6 destes casos (33%) a bacteriemia foi provocada por intervenções intravasculares, como o cateterismo. Vinte e um pacientes, sem evidência de endocardite no momento do diagnóstico de bacteriemia, receberam antibioticoterapia breve (período menor que 14 dias). Destes, 1 (5%) desenvolveu endocardite. Vinte de 70 pacientes (correspondente a 16% do total) que receberam antibioticoterapia por período lon-

go (maior que 14 dias) também desenvolveram endocardite. As conclusões dos autores, partindo destas observações, foram que: pacientes portadores de válvulas cardíacas protéticas apresentaram alto risco de desenvolvimento de endocardite, mesmo sob administração breve ou prolongada de antibióticos, e sistemas intravasculares utilizados nos hospitais revelaram-se formas importantes de contaminação.

FURINI et al. (1993) analisaram 28 episódios de endocardite infecciosa em pacientes internados no Hospital Universitário de Santa Maria, ocorridos entre 1983 e 1989, quanto aos aspectos clínicos, diagnósticos, terapêuticos e evolutivos. O número de casos para o sexo masculino foi amplamente superior, com 82% de incidência. A idade média foi de 37,4 anos (com variação de 17 a 68 anos). O período de tempo médio decorrido entre o início dos sintomas e a internação foi de 54 dias. Foi alta a presença de lesões cardíacas predisponentes (68%). Estabeleceram o diagnóstico etiológico em 61% dos pacientes, com baixo índice de positividade nas hemoculturas (58%), provavelmente por causa de antibioticoterapias prévias. Os principais microrganismos encontrados foram cocos gram-positivos (70,6%), bactérias gram-negativas (29,5%), *S. epidermidis* (17,6%) e *S. aureus* (5,9%). A taxa de mortalidade foi de 25%, relacionada à insuficiência cardíaca aguda grave (71,4%) e infecção incontrolável (28,6%).

A administração profilática de antibióticos não reduziu a incidência de bacteriemias em 40 pacientes saudáveis que sofreram extrações simples no estudo de HALL et al. (1993). De um grupo controle, de 20 pacientes que não receberam antibióticos, coletaram amostras de sangue antes, durante e 10 minutos após a cirurgia, submetendo o material a um processo de filtração lítica, sob condições anaeróbias, antes dos métodos de cultura microbiológicos. Os antibióticos utilizados no teste foram penicilina V, 1g, 1 hora antes da intervenção, e amoxicilina, 3g, 1 hora antes. As concentrações inibitórias mínimas (CIM), concentrações bactericidas mínimas (CBM) e grau de tolerância (CBM/CIM) das cepas isoladas e identificadas foram determinadas. Seguindo-se às extrações, a incidência média de bacteriemias para os grupos placebo, penicilina V e amoxicilina, foram respectivamente 95%, 90% e 85%, sendo que para mais de 90% das cepas de estreptococos viridans encontradas a CIM dos dois antibióticos foi menor ou igual a 0,125mg/L. Os pesquisadores concluíram a partir desses dados que o efeito protetor das penicilinas, administradas profilaticamente nos casos de risco de endocardite, deve ser antes devido a interferências cruciais no desenvolvimento da moléstia do que devido à bacteriemia transitória que ocorre durante e pouco tempo após as ações cirúrgicas.

HOBSON & CLARK (1993) descreveram um caso clínico de tratamento ortodôntico em um jovem de 19 anos, portador de doença cardíaca congênita, hospitalizado com relato de febre por 2 semanas. Coincidentemente ou não, o paciente havia sido atendido pelo ortodontista 2 semanas antes, ocasião em que modificou o aparelho, para a aplicação de mais força e para a movimentação dos dentes. O ecocardiograma revelou um defeito no septo ventricular, com vegetações se estendendo até a válvula mitral, enquanto culturas de amostras de sangue resulta-

ram em isolamento de *Streptococcus mitis*, sensíveis à penicilina. O paciente recebeu orientação dos médicos para a remoção do aparelho e antibioticoterapia intravenosa a base de benzil-penicilina, posteriormente trocada por eritromicina devido a um início de reação alérgica. Interpretando as recomendações francesas, americanas e britânicas para a prevenção da endocardite bacteriana, os autores concluíram que embora não haja uma orientação específica para tratamentos ortodônticos, algumas manobras realizadas na especialidade, como colocação e remoção de bandas ou manipulação ortodôntica de dentes não irrompidos, estão sujeitas a danos gengivais e sangramentos, indicando portanto a necessidade de proteção antimicrobiana. Assim como os antibióticos, o bochecho com clorexidina antes destes procedimentos e um alto grau de higiene oral durante o tratamento, parecem reduzir a severidade das bacteriemias, devendo também ser considerados.

RIBEIRO et al. (1993) descreveram um quadro de evolução e involução clínica hospitalar de um paciente com endocardite estafilocócica comentando o impressionante aumento na frequência deste microrganismo nas últimas duas décadas. Apontaram a capacidade de o *S. aureus* produzir enzima coagulase, como responsável pelo poder de rápida invasão e colonização do organismo humano, que nos casos de bacteriemia mantida e abscessos metastáticos apresenta níveis de anticorpos maiores. Estes altos níveis de anticorpos interferem significativamente no prognóstico da doença. Lembraram que as principais alterações clínicas nas septicemias por *S. aureus* são as pleuropulmonares. O quadro infeccioso, que simula septicemias por outros agentes, representa ameaça permanente aos pacientes imunodeprimidos, principalmente nos hospitalizados. Os estafilococos causam endocardite aguda, cuja toxemia e manifestações sistêmicas são muito mais evidentes do que nos casos subagudos, causados pelos estreptococos viridans e *S. faecalis*. Assim, provocam pericardite purulenta, acometimento do sistema nervoso central em 30% a 50% dos casos, com alterações liquóricas, ruptura de aneurismas micóticos com coma e morte, passando por meningite, vasculite e abscesso cerebral. Os autores finalizaram o trabalho salientando a importância do número crescente de cepas resistentes aos antibióticos em uso, recordando os mecanismos de resistência do microrganismo, e postulando que o diagnóstico desses processos deve ser suportado por bases clínicas, bacteriológicas e ecocardiográficas. O diagnóstico deve ser precoce e seguido da instalação de tratamento eficaz, para que seja bem sucedido.

Estudos epidemiológicos realizados na França até 1992 (SENTILHES & BERNARD, 1993) demonstraram que: a) a endocardite infecciosa é uma moléstia grave cuja incidência não tem diminuído. Em maio de 1991 foram diagnosticados 1336 casos, com uma taxa de óbitos de 20%; b) um quarto (24,5%) das bacteriemias foram de origem dentária, provocadas em parte (2,9%) por mau estado dos dentes, que se transformam em focos de infecção, e em parte (21,6%) por ações terapêuticas odontológicas; c) os atos terapêuticos odontológicos relacionados à endocardite, mais freqüentemente realizados até 1991 foram: tratamentos endodônticos – 8,8%, tartarectomias – 8,2%, extrações – 6,4%. Os riscos latentes representados

pelos focos infecciosos são em geral mal calculados pelo pneumologista (14%), ou pelos urologistas (7%), e pior ainda pelos dentistas (2,9%), o que indicou a necessidade de uma atenção maior por parte dos profissionais da área médica, tanto no que diz respeito à realização da antibioticoterapia profilática, como na eliminação de fontes de infecção. Esses estudos levaram à classificações pormenorizadas dos pacientes cardiopatas de acordo com o risco de endocardite:

Pacientes de alto risco

1. Portadores de válvulas cardíacas protéticas, sem exceção;
2. Cardiopatas congênitos cianógenos;
3. Pacientes com antecedentes de endocardite infecciosa.

Pacientes de risco médio

1. Portadores de valvulopatias, aórticas ou mitrais, por insuficiência ou estenose, salvo o estreitamento mitral puro, sem insuficiência;
2. Cardiopatas congênitos não cianógenos, especialmente com comunicação interventricular não operada;
3. Cardiomiopatas obstrutivos.

Ausência de risco

1. Cardiopatas isquêmicos: com infarto e angina;
2. Cardiopatas hipertensivos;
3. Portadores de pontes, incluindo as aórtico-coronárias;
4. Cardiopatas estimulados e portadores de marca-passo;
5. Portadores de quaisquer outras cardiopatias.

Com base nesta classificação foi ainda elaborada uma tabela com os tipos de intervenções odontológicas e as respectivas necessidades de profilaxia antibiótica.

SMITH & ADAMS (1993) reportaram um levantamento do grau de colaboração dos pacientes e efetividade de dois métodos de prevenção da endocardite bacteriana: profilaxia antimicrobiana e estabelecimento de boa saúde oral em pacientes considerados de risco. Utilizando uma série de questionários pesquisaram itens como “atitude frente à saúde dental”, “compreensão e atitudes frente à cobertura antibiótica profilática”, “grau de conhecimento da endocardite bacteriana”, e realizaram exames clínicos para verificar as condições periodontais, presença de cálculo supra ou subgingival, restaurações deficientes ou cáries e estado da mucosa, em portadores de próteses totais, num total de 81 pacientes. Encontraram um alto número de pacientes com más condições dentárias (56%), sendo que deste número 96% apresentavam doença periodontal crônica, a despeito de se encontrarem aparentemente bem motivados e bem orientados. Baseados em tais informações, os autores recomendaram que, uma vez diagnosticado o problema cardíaco considerado de risco, um exame odontológico completo seja efetuado por um dentista, preferencialmente com experiência no atendimento deste tipo de paciente. Acompanhamento clínico com intervalos menores que o convencional, mais informações sobre o problema, e o encaminhamento a um cardiologista, especialmente nos ca-

so com história de febre reumática ou palpitações também deveriam ser oferecidos ao paciente. Isto evitaria a antibioticoterapia desnecessária.

Em revisão da literatura WAHL & WAHL (1993) analisaram dados relacionados à prevenção da endocardite bacteriana e à última revisão sobre as recomendações da AMERICAN HEART ASSOCIATION para a profilaxia antibiótica frente a pacientes de risco. Segundo os autores, os estreptococos do grupo viridans foram considerados atualmente os principais responsáveis pela endocardite bacteriana, especialmente em pacientes portadores de anomalias de válvulas cardíacas e, portanto, os regimes quimioterápicos devem se direcionar contra eles. Embora os regimes profiláticos venham sendo largamente realizados nos tratamentos dentários, a incidência de endocardite não diminuiu desde o advento dos antibióticos, e a razão disso pode ser o aumento da idade média da população, o aumento do número de pessoas portadoras de válvulas cardíacas, ou a relação da doença com outros fatores etiológicos que não os tratamentos dentários. A boca e a orofaringe foram consideradas as principais fontes de estreptococos viridans e a questão tem sido determinar quando, e não onde, estas bactérias entrarão na corrente sanguínea. As recomendações da Associação, que elegeu a amoxicilina via oral como o antibiótico de primeira escolha, foram consideradas prudentes, refletindo sobre a prevenção não apenas da endocardite mas também sobre os problemas resultantes da própria administração dos antibióticos e seus efeitos colaterais. Concluíram que os clínicos, com o intuito de evitar o problema, deveriam levar em consideração além dos tipos de procedimentos planejados, a história médica dos pacientes.

Revedo 203 episódios de bacteriemias causados por estreptococos α -hemolíticos em um hospital-escola americano, no período de 1980-91, WATANAKUNAKORN & PANTELAKIS (1993) observaram que em 80% dos casos estava presente pelo menos uma espécie do grupo viridans, principalmente *Streptococcus sanguis*. Dos 203 pacientes, 16,1% tiveram endocardite bacteriana, 26,9% apresentaram apenas uma espécie microbiana no sangue, e 38,0% bacteriemia polimicrobiana. Além do *S. sanguis*, a incidência de *S. mitis*, *S. salivarius* e *S. intermedius* foi alta. De todos os microrganismos isolados, 17,2% e 11,8% das cepas demonstraram resistência à tetraciclina e à eritromicina, respectivamente. O índice de mortalidade foi de 29,6% (60 dos 203 pacientes). Contudo, fatores como elevada faixa etária, doenças malignas, problemas renais, hepáticos e outros, estavam associados. Em 40,9% dos casos, o início da infecção ocorreu a partir da hospitalização do enfermo. Os autores comentaram que a incidência de bacteriemias naquele hospital por estreptococos α -hemolíticos foi de 0,66 a cada 1000 admissões e a taxa de mortalidade, de 29,6%. Para *Staphylococcus aureus* a ocorrência foi de 1,72% para cada 1000 admissões, e a taxa de mortalidade, de 49%.

CAMARGO et al. (1994) revisaram os relatórios de ocorrência de infecções hospitalares no Instituto do Coração de São Paulo (InCor), entre 1989 e 1992, com a finalidade de classificar as hemoculturas positivas em bacteriemias primárias, secundárias e contaminantes. Foram consideradas primárias as hemocul-

turas com isolamento de bactérias patogênicas oriundas da corrente sanguínea, sem a concomitância de outro foco infeccioso à distância. Secundárias as com isolamento de microrganismo patogênico na corrente sanguínea, com a concomitância de outro foco infeccioso à distância e, contaminantes, as hemoculturas positivas para os agentes: *Propionibacterium acnes*, *Micrococcus sp.*, *Corynebacterium sp.* e *Staphylococcus coagulase-negativos*. As hemoculturas não foram consideradas contaminadas nas seguintes situações: 1) hemocultura positiva para *Corynebacterium sp.* em pacientes imunodeprimidos ou em pacientes com válvula protética; 2) hemocultura positiva para *Micrococcus sp.* e *P. acnes* quando houve correlação clínica e nenhum outro agente foi isolado e; 3) hemocultura positiva para *Staphylococcus coagulase-negativo* quando houve foco primário de infecção em pele, mediastino, cateteres ou outros dispositivos vasculares ou em pacientes imunodeprimidos. Os autores verificaram que durante o período estudado ocorreram 373 bacteriemias hospitalares em 317 pacientes dentre 30803 doentes computados. A taxa de bacteriemias foi portanto de 1,21%, com pico em 1992 de 1,37%. Dentre as hemoculturas positivas, 23,1% foram consideradas contaminantes, 42,9% bacteriemias secundárias e, 34% primárias. A etiologia das bacteriemias evidenciou a predominância de *Staphylococcus sp.* (40%), seguidos das enterobactérias (30%), além das *Pseudomonas sp.* e dos *Enterococcus faecalis* que também tiveram participação relevante. As bacteriemias primárias foram relacionadas ao uso intensivo de cateteres e podem portanto ser um indicador indireto da colonização desses cateteres. Outras observações importantes foram que cerca de 70% de todas as cepas hospitalares do InCor são resistentes à oxacilina e que houve uma redução acentuada da letalidade no ano de 1990, quando a participação dos estafilococos como agentes etiológicos diminuiu. Os integrantes da equipe que elaborou o trabalho, além de traçarem outras considerações interessantes, apontaram a necessidade de estudos prospectivos para a avaliação da colonização de cateteres centrais e de um programa de vigilância de hemoculturas para o estabelecimento de nível endêmico mais fiel.

A dosagem ótima de antibióticos na profilaxia da endocardite bacteriana tem sido um ponto de controvérsia dentre vários autores e órgãos associados à saúde. DAJANI et al. (1994) partiram da coleta de amostras de sangue de trinta indivíduos adultos, antes e 1, 2, 4 e 6 horas após a ingestão de 2,0g e de 3,0g de amoxicilina via oral, rumo à conclusão de que o protocolo de dosagem de 2,0g em uma só dose é preferido, por atingir os níveis séricos adequados para a inibição da maioria dos estreptococos, causando menores danos gastrointestinais e diminuindo outros efeitos colaterais, além da redução no uso de medicação. Verificaram que em todos os tempos testados, a concentração inibitória mínima era ultrapassada geralmente em larga margem, exceto em um caso, em que na sexta hora a concentração sérica era igual à dosagem mínima necessária para inibir as cepas de estreptococos causadores da endocardite mais resistentes. Observaram ainda que a concentração sérica apresentava uma relação direta com o peso de cada paciente, mas que no entanto, para um indivíduo com peso médio de 70kg uma dose de 2,0g era equivalen-

te a 30mg/kg, quantidade em média 30 vezes maior que a necessária para a inibição dos microrganismos relacionados com a infecção, na sexta hora após a administração da droga.

FERNANDES (1994) citou algumas das características morfológicas da endocardite, as espécies bacterianas associadas, e publicou a última revisão das normas recomendadas pelo Comitê de Febre Reumática e de Cardite Infecçiosa, juntamente com a AMERICAN DENTAL ASSOCIATION, de dezembro de 1990. A profilaxia contra a endocardite infecciosa deve ser realizada sempre que se observar pelo menos uma das seguintes condições:

1. Prótese de válvula cardíaca;
2. Maioria das má-formações congênitas;
3. Doença valvular reumática;
4. Doença valvular degenerativa;
5. Estenose subaórtica hipertrófica idiopática;
6. Prolapso da válvula mitral com insuficiência;
7. Episódio prévio de endocardite bacteriana.

As intervenções classificadas como indicadoras da necessidade de terapia profilática seriam:

1. Exodontias;
2. Cirurgias periodontais;
3. Profilaxia dental subgengival;
4. Cirurgias parodontodônticas;
5. Drenagem de infecções.

A profilaxia é obtida para a maioria das condições com a seguinte posologia:

Amoxicilina

Pré-operatoriamente: 3,0g VO - 1 hora antes do procedimento;
Pós-operatoriamente: 1,5g VO - 6 horas após a dose inicial.

Para pacientes alérgicos à penicilina, duas alternativas podem ser utilizadas:

A - Eritromicina

Pré-operatoriamente: 1g VO - 2 horas antes do procedimento;
Pós-operatoriamente: 500mg VO - 6 horas após a dose inicial.

B - Clindamicina

Pré-operatoriamente: 300mg VO - 1 hora antes do procedimento;
Pós-operatoriamente: 150mg VO - 6 horas após a dose inicial.

Para pacientes que não toleram bem os efeitos colaterais da eritromicina no trato gastrintestinal ou nas condições abaixo relacionadas, está indicado o uso de antibióticos por via parenteral:

1. Pacientes submetidos a anestesia geral e impossibilitados de ingestão;
2. Pacientes incapazes de tomar medicamentos por via oral;
3. Pacientes de alto risco, como os que têm história prévia de endocardite.

Regime Parenteral

A - Regime convencional

Ampicilina

Pré-operatoriamente: 2g IM ou IV - 30 min. antes do procedimento;

Pós-operatoriamente: 1g IM ou IV - 6 horas após a dose inicial.

B - Regime para pacientes alérgicos

Clindamicina

Pré-operatoriamente: 300mg IV - 30 min. antes do procedimento;

Pós-operatoriamente: 150mg IV - 6 horas após a dose inicial.

Para o paciente pediátrico, a dosagem das drogas indicadas deve ser reduzida, de acordo com a seguinte posologia:

1. Ampicilina: 50mg/kg
2. Clindamicina: 10mg/kg
3. Gentamicina: 2mg/kg
4. Vancomicina: 20mg/kg
5. Amoxicilina: 25mg/kg (p/ dose pós-operatória).

GONÇALVES & ROZENBAUM (1994) analisaram diversos critérios utilizados para o diagnóstico da endocardite infecciosa, como os de von Reyn, os de Steckelberg e os de Durack, apontando as limitações de cada um e as dificuldades no estabelecimento de um diagnóstico preciso. Descreveram as diversas formas de tratamentos com agentes antimicrobianos para cada tipo de microrganismo envolvido, e ainda os cuidados que se deve ter nos casos de endocardites com hemoculturas negativas, associadas à próteses valvulares, em toxicômanos, e o papel da intervenção cirúrgica durante a endocardite em atividade. Recomendaram formas diferentes de antibioticoterapia para a prevenção em cada situação clínica, inclusive para os procedimentos odontológicos. O trabalho foi elaborado na forma de um protocolo, a partir de extensa revisão bibliográfica, e se propõe a servir de guia para clínicos, frente a casos de endocardite bacteriana.

A ação dos antibióticos parece estar relacionada com a atividade metabólica dos microrganismos e enzimas, capazes de interferir na camada de glicocálice produzida por determinadas cepas de estreptococos do grupo viridans, modificam o potencial de ação do medicamento. O papel dessas enzimas foi pesquisado por MGHIR et al. (1994), que produziram endocardite experimental em coelhos, injetando solução salina com *S. sanguis* nas válvulas cardíacas dos animais através de um cateter e 6 dias após, iniciaram tratamento com temafloxacina (50mg/Kg de peso corporal, 2 vezes ao dia, via intramuscular) apenas, ou associada à dextranase. Os animais foram sacrificados no décimo primeiro dia após o início do experimento e todas as vegetações cardíacas encontradas foram excisadas, pesadas, homogeneizadas em solução salina e cultivadas em placas com ágar sangue. Além disso, vegetações oriundas de animais-controle foram excisadas após o mesmo período de tempo, cultivadas em meio suplementado com soro de coelho, e tratadas *in vitro* com o agente antimicrobiano, com e sem a enzima, de maneira análoga. Ainda, microrganismos desenvolvidos durante os tratamentos foram cultivados em meio Müller-Hinton suplementado com soro de coelho e observados sob microscopia eletrônica. Nos estudos *in vitro* procederam à determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do antibiótico e à definição da menor concentração do sal que reduziu

a contagem inicial dos microrganismos em 99,9%. Analisando os resultados os autores concluíram que a eficácia da temafloxacina pode ser significativamente potencializada pela remoção dos exopolissacarídeos presentes nas vegetações; que este efeito poderia ser mediado pela dissolução do invólucro glicólico, por enzimas coadjuvantes do tratamento, como a dextranase, permitindo a modificação metabólica das bactérias pelo antibiótico no interior das vegetações, o que o tornaria mais eficiente. Concluíram ainda, que as condições de desenvolvimento microbiano em vegetações são semelhantes àsquelas encontradas em infecções de sistemas protéticos, e que a terapêutica coadjuvante com enzimas poderia auxiliar a cura dessas infecções.

MANNING et al. (1994) baseados em informações de outros autores (KING & HARKNESS, 1986; KNOX & HUNTER, 1991) que os estreptococos do grupo sanguis são os estreptococos orais mais frequentemente isolados de endocardites infecciosas, investigaram a relação entre a capacidade de adesão bacteriana à plaquetas, fibronectina e fibrinogênio, *in vitro* e *in vivo*, e o desenvolvimento da doença. No trabalho foi utilizado sangue sadio de humanos e de ratos e cepas FSS2, isoladas de pacientes com endocardite, e cepas L50, de placa dental, que sabidamente não agregava plaquetas humanas e de coelho. Os autores puderam observar a capacidade de as cepas FSS2 aderirem à plaquetas, à fibronectina e ao fibrinogênio insolúveis, de humanos e de rato e, a capacidade de as cepas L50 aderirem apenas à fibronectina e ao fibrinogênio insolúveis de humanos e de ratos. Concluíram que, embora um maior grau de virulência pareça estar associado à capacidade de agregar plaquetas, este não seria o fator desencadeante da endocardite. A formação de coágulos com fibronectina e fibrinogênio na patogenia e transcorrer da doença, sugere que cepas, como a L50, junto aos componentes agregantes do sangue dos mamíferos, representam um importante papel no processo infeccioso.

Na década passada algumas espécies de *Enterococcus* foram reconhecidas como agentes etiológicos importantes nas infecções hospitalares, com 75 a 80% de incidência atribuídos ao *E. faecalis* e o restante ao *E. faecium*. MIELE et al. (1994) utilizaram a elfamicina, uma classe de antibióticos naturais pouco usados na terapêutica de doenças humanas, para a diferenciação entre as duas espécies, uma vez que a suscetibilidade ou a resistência ao fármaco pareceu ser determinada pelo fator intrínseco de síntese protéica EF-Tu, presente apenas no *E. faecalis* e extremamente conservado entre as eubactérias (LUDWIG et al., 1990). Observando que a pressão seletiva dos antibióticos não interferiu na ocorrência deste fator, uma vez que diferentes espécies apresentaram diferentes suscetibilidades, independente do nicho ecológico que habitavam, os autores propuseram o uso da elfamicina para testes de identificação rápida de espécies de enterococos.

OWEN (1994) destacou a importância do patógeno *Staphylococcus aureus* resistente à metilina, principalmente em ambientes clínicos. De um total de 107 pacientes de um centro médico norte-americano, com idade média de 70,1 anos, 26,2% eram portadores do microrganismo. A prevalência para portadores na cavidade oral foi de 18,7%, na cavidade nasal anterior, de 19,6%, em lesões de

pele, 42,3%, e em cateteres, 33,3%. Houve um alto percentual de coincidência entre as contaminações orais e nasais (91,6%). Para as colonizações em lesões de pele e cateteres o percentual de coincidência com contaminações da cavidade oral foram, respectivamente, de 76,9% e 83,3%. A coincidência entre casos de contaminação da cavidade oral e todos os outros sítios combinados foi de 90%, com um coeficiente de contingência altamente significativo. Com base nos resultados o autor concluiu que: a presença de *Staphylococcus aureus* em locais de alto risco pode ser mais comum do que se imaginava, com uma incidência comparável à das infecções nasais. A seleção de um regime terapêutico com antibióticos é importante, assim como o são as exposições constantes dos pacientes às terapêuticas profiláticas com amoxicilina, penicilina e eritromicina, recomendadas nos casos de endocardite. Atenção especial deveria ser dada à lavagem das mãos, uso de luvas e máscara, na prevenção de transmissão através da pele, trato respiratório e possivelmente fontes orais, os meios mais prováveis de contágio. O pesquisador recomendou o desenvolvimento de investigações para a caracterização dos sítios de colonização e da influência de atributos, como xerostomia, presença de próteses e pobre higiene bucal na predisposição para a contaminação oral.

TERPENNING et al. (1994) publicaram um resumo de critérios para a orientação de médicos e dentistas na determinação da origem da endocardite bacteriana. Basearam-se numa análise de 150 casos da doença ocorridos em clínicas acadêmicas, públicas e privadas, dos quais 20 eram suspeitos de terem se originado à partir de problemas orais, adotando à princípio os critérios de Von Reyn (provado ou provável). Desses 20 casos, 9 foram considerados “definidos” e 11 “prováveis”; 13 casos envolveram estreptococos viridans; 2, *S. salivarius* e *S. sanguis* e um caso, estreptococos microanaerofílicos, *S. morbillorum* e *S. aureus*. Em 8 casos, o procedimento odontológico ocorreu mais de 2 meses antes do início da endocardite. Em 7 casos, o procedimento odontológico pareceu não ser o responsável pela endocardite. Em 5 casos geriátricos (25%), médicos e dentistas concordaram tratar-se de endocardite de origem oral. A partir destas observações os autores propuseram orientação pelos seguintes critérios: (1) deve-se acompanhar os critérios de Von Reyn para endocardite definida ou provável; (2) deve-se obter pelo menos uma amostra com culturas positivas de sangue para um microrganismo de possível ou exclusiva origem oral e (3) a endocardite bacteriana deve ser diagnosticada dentro de 2 meses a partir de um procedimento oral ou dental, potencialmente capaz de provocar bacteriemia (ou induzir sangramento) ou (4) a endocardite bacteriana deve estar precedida, num intervalo máximo de 3 meses, por uma infecção oral envolvendo o mesmo microrganismo encontrado posteriormente no sangue do paciente.

Por meio de revisão da literatura, VIEIRA & MODESTO (1994) reavaliaram, dos registros que datam épocas anteriores à Cristo às mais recentes pesquisas contemporâneas, as repercussões sistêmicas das infecções focais de origem oral. Apontaram as metástases e as reações de hipersensibilidade às toxinas microbianas, transportadas pela corrente sanguínea ou vasos linfáticos, como responsá-

veis pela etiologia de diversas formas de doença, dentre as quais a endocardite bacteriana e outras, cuja origem do agente etiológico é ainda discutível, como doenças gastrointestinais, renais, problemas oculares, e até mesmo dermatoses. Lembraram ainda que a doença reumática não é mais relacionada, como no passado, aos focos de infecções dentais, uma vez que dessa doença não se isola o estreptococo beta-hemolítico do grupo A de Lancefield, e concluíram que embora as reações periapicais sejam consideradas as principais suspeitas de fontes infecciosas, segundo alguns autores, rezear que numerosos dentes endodonticamente tratados sejam possíveis focos de infecção é admitir o pessimismo com respeito ao sucesso da Odontologia.

A endocardite infecciosa foi associada pela primeira vez a um caso de *dens in dente* em 1994, por WHYMAN & MacFADYEN, autores de um artigo que relata a evolução de um abscesso envolvendo o elemento dental com malformação. O paciente tinha apenas 11 anos e não apresentava nenhum tipo de lesão nos outros dentes, tendo sido admitido em hospital por apresentar febre persistente por 6 dias, náuseas e vômito, além de história de mal estar durante os 4 a 5 meses anteriores. Culturas de material coletado da garganta apresentaram crescimento escasso de colônias de *Streptococcus agalactiae*. Hemoculturas desenvolveram *Streptococcus defectivus*, um estreptococo nutricionalmente deficiente, e 3 cepas de bactérias semelhantes ao *Streptococcus sanguis*. O ecocardiograma revelou vegetação na válvula cardíaca pulmonar, definindo o diagnóstico de endocardite, e a identificação do abscesso periapical no elemento atípico sugeriu a fonte de infecção. Foi instituída antibioticoterapia com benzilpenicilina e gentamicina e o dente foi extraído 24 horas mais tarde, com cobertura de vancomicina via intravenosa. Uma amostra de pus do abscesso produziu crescimento de estreptococos do grupo viridans. O paciente permaneceu no hospital por 7 semanas, apresentando quadro infeccioso persistente, passando por regimes terapêuticos inicialmente à base de benzilpenicilina e gentamicina, seguido de benzilpenicilina, gentamicina e vancomicina, e, finalmente de vancomicina e rifampicina, tendo deixado o hospital na oitava semana, ainda medicado com rifampicina via oral. Os autores discutiram a participação do *Streptococcus defectivus* no caso e comentaram uma revisão de 30 outros casos, causados pelo mesmo microrganismo, que inicialmente provocava uma forma subaguda da doença, com posteriores complicações, como embolias, colapsos e mortes, em 41% dos pacientes. Apesar da sensibilidade *in vitro*, as cepas demonstravam resistência à terapia antimicrobiana, como no caso apresentado, fato que pareceu ser de particular importância para os autores.

Pela revisão da literatura observa-se que procedimentos terapêuticos comuns em Odontologia, podem causar bacteriemias e que essas, por sua vez, podem levar à endocardite infecciosa. Essa moléstia apresenta como agentes etiológicos mais comumente os estreptococos do grupo viridans, que prevalecem na cavidade bucal, razão porque parece interessante a realização de investigações que pos-

sam orientar condutas clínicas que visem a saúde dos pacientes e a segurança dos tratamentos odontológicos.

PROPOSIÇÃO

O propósito deste trabalho é o de estudar *in vitro* os padrões de sensibilidade de microrganismos potencialmente patogênicos, prevalentes na cavidade bucal humana, frente a três antibióticos de uso habitual em Odontologia, visando estabelecer a sua ordem de eficácia por meio da determinação de suas capacidades de inibição em menores concentrações, e da magnitude da resposta inibitória. Com base nessas determinações e em critérios conhecidos, definir a escala de prioridades desses antibióticos, para uso terapêutico *in vivo*.

MATERIAL E MÉTODO

Estudou-se a frequência de *Streptococcus sanguis* e *Staphylococcus aureus* por meio de culturas microbiológicas, realizadas a partir dos materiais coletados da cavidade oral de pessoas saudáveis e que não estiveram fazendo uso de medicamentos antimicrobianos na ocasião, e a resistência que esses microrganismos apresentavam frente a diversos antibióticos de uso comum.

1. Seleção dos pacientes

Após análise estatística determinou-se em 38 o número de indivíduos dos quais amostras de saliva e de placa bacteriana foram coletadas. Essas pessoas, com idades variando de 17 a 25 anos (média de 21 anos), foram aleatoriamente escolhidas de uma lista, sendo 21 do sexo feminino e 17 do sexo masculino, todos alunos ativos do curso de Odontologia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Procurou-se constituir os grupos de estudo com pessoas sob condições ambientais semelhantes, idades próximas, sob tipo de alimentação e cuidados análogos e que não houvessem se submetido à antibioticoterapias prévias, por um período de 2 meses, a fim de se obter consistência nos resultados, com a maior uniformidade possível das amostras.

2. Obtenção das amostras

No caso da coleta de saliva, as amostras que serviram para caracterizar a microbiota bucal foram tomadas sem estimulação. Cerca de 2,0mL foram depositados diretamente em tubo de ensaio (20 x 150mm), previamente esterilizado com 4 a 5 pérolas de vidro em seu interior.

A placa bacteriana foi colhida das faces linguais dos primeiros e segundos molares inferiores, pois estas áreas são as que tendem a apresentar maior depósito de placa bacteriana na cavidade oral (NIKIFORUK, 1985), com sondas exploradoras odontológicas nº 5 e então transferida para tubo de ensaio (20 x 100mm) previamente esterilizado com 4 a 5 pérolas de vidro e 1,5mL de PBS.

As colheitas foram realizadas no período da manhã, entre 10:00 e 12:00, e no período da tarde, entre 16:00 e 18:00. Os prazos de transporte para o laboratório não ultrapassaram trinta minutos, limitando o tempo decorrido do início ao final dos procedimentos para a semeadura ao máximo de duas horas e meia.

3. Processamento microbiológico

3.1. Meios de cultura, soluções e reagentes

No experimento foram utilizados os seguintes meios de cultura:

Ágar Sacarose Bacitracina (SB20)

Este meio foi empregado para a contagem de unidades formadoras de colônias (ufc) de estreptococos do grupo mutans. Proposto por DAVEY & ROGERS (1984), foi preparado de acordo com AZEVEDO (1988), apresentando a seguinte constituição:

Casitone	(Difco)	15,0g
Extrato de levedura	(Difco)	5,0g
L - Cisteína	(Merck)	0,2g
Sulfito de sódio	(Merck)	0,1g
Acetato de sódio	(Reagent)	20,0g
Sacarose	(açúcar cristal)	200,0g
Ágar-ágar	(Difco)	15,0g
Água destilada (qsp)		1.000,0mL

Para o preparo deste meio os componentes sólidos foram pesados em balança granatária e colocados em cálice graduado, exceto o ágar. A água destilada foi adicionada em volume desejado e o meio foi então homogeneizado para a dissolução. Ao ágar pesado e acondicionado em balão de Erlenmeyer foi adicionado o caldo previamente preparado. Este meio "base" foi homogeneizado e esterilizado a 120°C por 15 minutos. A sacarose foi pesada e adicionada a este meio; a boca do balão protegida com algodão e papel e submetido a esterilização em autoclave a 120°C por 20 minutos. Após a queda da temperatura para cerca de 50°C em banho maria, adicionou-se 1,0 por cento de uma solução de bacitracina, na concentração final de 0,2 U/mL de meio de cultura. Em condições assépticas, em fluxo laminar, distribuiu-se com pipetas graduadas esterilizadas 5,0mL do meio de cultura em placas de Petri de 10 x 50mm, esterilizadas. Essas placas foram submetidas a teste de esterilidade e acondicionadas em jarras de anaerobiose (Permutation) em posição invertida, conservadas em refrigerador e utilizadas dentro de uma semana, uma vez que após este período o antibiótico bacitracina perde o efeito antimicrobiano.

Ágar Sacarose (Saca)

O meio SB20 "base" adicionado de sacarose foi utilizado para reativação das cepas de estreptococos identificadas e conservadas. Foi preparado com a adição de sacarose até a concentração final de 200,0g/L, autoclavado a 120°C durante 20 minutos, distribuído em placas de Petri de 10 x 50mm esterilizadas, em condições assépticas em fluxo laminar e submetidos a teste de esterilidade.

Teste de esterilidade

A esterilidade dos meios de cultura foi verificada pela incubação em estufa a 37°C por cerca de 24 horas. Foram desprezadas aquelas nas quais se observou desenvolvimento bacteriano.

Solução de bacitracina para preparo do meio SB20

O sal bacitracina - Interlab (3,3mg — potência: 63U/1000,0µg) foi pesado em tubos de ensaio de 15 x 125mm esterilizados, tarados em balança analítica (Mettler), em condições assépticas, e dissolvido em 10,0mL de água destilada.

Ágar Mitis Salivarius (Ms)

Este meio foi empregado para o isolamento de estreptococos do grupo sanguis/gordonii. Apresenta a seguinte composição:

Peptona P.....	10,0000g
Triptona.....	10,0000g
Dextrose.....	1,0000g
Sacarose.....	50,0000g
Fosfato dipotássico.....	4,0000g
Azul de tripan.....	0,0750g
Cristal violeta.....	0,0008g
Ágar No. 1.....	12,0000g
Água destilada.....	1.000,0000mL

O produto desidratado (**Mitis Salivarius Agar** - Difco) foi pesado em balança granatária, colocado em balões de Erlenmeyer, acrescido de água destilada em quantidade suficiente e homogeneizado. O frasco foi então fechado com tampo de algodão revestido por cápsula de papel, e esterilizado em autoclave a 120°C por 20 minutos. Foi deixado em banho-maria para resfriamento gradual e, quando a temperatura atingiu cerca de 50°C, em condições assépticas e em fluxo laminar, distribuiu-se com pipetas graduadas esterilizadas, 5,0mL do meio de cultura em placas de Petri de 10 x 50mm. A conservação foi a mesma descrita para o meio SB20. O meio foi preparado sem adição da solução de telurito de potássio, com o objetivo de avaliar os diferentes morfotipos de estreptococos do grupo sanguis (oralis)/gordonii.

Ágar gema de ovo hipertônico (Ni)

Este meio foi utilizado para a pesquisa de *S. aureus* e preparado segundo ITO et al. (1969). Apresenta a seguinte composição:

Caldo nutriente..... (Difco).....	8,0g
Cloreto de sódio..... (B. Herzog).....	75,0g
Ágar-ágar..... (Difco).....	15,0g
Emulsão de gema de ovo a 50%.....	10,0mL
Água destilada.....	1.000,0mL

O meio foi preparado pesando-se inicialmente o caldo nutriente (**Nutrient Broth** - Difco) em balança granatária, ao qual foi adicionado em um cálice o cloreto de sódio e a água destilada. Após a dissolução acertou-se o pH em 7,5 com solução de NaOH - 1N, verificando-se com auxílio de papel indicador (Merck). Foi então acrescentado, por partes e em quantidade suficiente, ao ágar-ágar previamente pesado e acondicionado em balão de vidro, o qual foi a seguir fechado com algodão e protegido por papel. O meio assim preparado foi esterilizado em autoclave a 120°C por 20 minutos e, após resfriado à aproximadamente 50°C, acrescentou-se a emulsão de gema de ovo na proporção de 1,0 por cento. Aliquotas de cerca de 20,0mL do meio de cultura foram então distribuídas em placas de Petri de 20 x 100mm sob condições assépticas, em fluxo laminar, e submetidos a teste de esterilidade.

Meio de Tioglicolato de Sódio Sem Indicador/Glicose (Tio's)

O meio Tio's foi empregado para semeadura das colônias de estreptococos, tanto do grupo mutans quanto do grupo sanguis. Além disso, foi utilizado para obtenção de inóculos para realização de provas de fermentação e determinação da *concentração inibitória mínima* (CIM).

Fórmula comercial desidratada **Thioglycollate Medium Without Dextrose or Indicator** (Difco) com a seguinte composição:

Extrato de levedura	5,00g
Casitone	15,00g
L-cistina.....	0,25g
Cloreto de sódio	2,50g
Ácido tioglicólico	0,30mL
Ágar-ágar	0,75g

Para o preparo deste meio de cultura foram pesados 24,0g do produto comercial em balança granatária, colocados em balões de Erlenmeyer e adicionados 1.000,0mL de água destilada. O meio foi então homogeneizado, aquecido até a fusão do ágar, distribuído em tubos de 12 x 120mm em quantidades de cerca de 5,0mL, esterilizado a 120°C durante 20 minutos e submetido a teste de esterilidade.

Ágar Tio's com Carboidratos (TioCar)

O meio Tio's apresentado no item anterior foi utilizado como meio "base" para obtenção de ágar Tio's com carboidratos para a prova de fermentação e preparado de acordo com ITO et al. (1993).

Os carboidratos utilizados foram: manitol, sorbitol, rafinose, melibiose, inulina e salicina, todos de procedência Merck.

Composição:

Meio Tio's	100,0mL
Solução alcóolica de púrpura de bromocresol a 1,6%.....	0,1mL
Ágar-ágar (Difco).....	1,5g
Carboidrato (Merck).....	2,0g

A 100,0mL do meio Tio's foram adicionados 0,1mL da solução alcóolica de púrpura de bromocresol a 1,6% e 1,5g de ágar-ágar (Difco), o pH acertado a 7,0 com solução de NaOH - 1N e submetido a ebulição até a fusão do ágar. A 20,0mL deste preparado foram adicionados em tubos de ensaio de 20 x 200mm esterilizados, tarados em balança analítica (Mettler) 0,4g de diferentes carboidratos. Após a esterilização por 20 minutos a 120°C a autoclave foi aberta, rapidamente, para evitar a caramelização, e com cuidado, os conteúdos dos tubos vazados em placas de Petri 20 x 100mm sob condições assépticas, em fluxo laminar, codificados e submetidos a teste de esterilidade.

Solução Alcóolica de Púrpura de Bromocresol (indicador de pH)

Púrpura de bromocresol é recomendada quando se deseja verificar a viragem do pH na faixa de 5,2 a 6,8.

Essa solução apresenta a seguinte composição:

Púrpura de bromocresol..... (Merck)	1,6g
NaOH - 1N.....	0,6mL
Álcool etílico (qsp)..... (Copercana)	100,0mL

A 1,6g de púrpura de bromocresol pesado, colocado em um cálice foi adicionado 0,6mL de solução de NaOH - 1N para dissolução e adicionado cerca de 5,0mL de álcool etílico. A seguir, a solução foi transferida a um balão volumétrico e o volume completado a 100,0mL com álcool etílico. Esta solução foi acondicionada em frasco com rolha esmerilhada.

Ágar Manitol - Bacitracina (ManB)

A resistência à bacitracina foi avaliada em ágar Tio's com manitol, preparado como descrito para o Ágar Tio's com Carboidratos. Ao ágar Man esterilizado e resfriado à cerca de 50°C, em condições assépticas em fluxo laminar, foi adicionado 1,0% da solução de bacitracina para obter a concentração final de 2,0 U/mL do meio de cultura, e vazados em placas de Petri de 20 x 100mm, esterilizados e codificados.

Ágar Esculina (Esc)

O meio foi preparado de acordo com o proposto por VAUGHN & LEVINE (1942), modificado, com adição de 1,5% de ágar-ágar (Difco) para testar a produção de esculinase. Apresenta a seguinte composição:

Peptona.....	(Difco).....	0,50g
Fosfato dipotássico	(Merck)	0,10g
Esculina	(Merck)	0,30g
Citrato férrico	(Merck)	0,05g
Ágar-ágar	(Difco).....	1,00g
Água destilada.....		100,0mL

Todos os componentes pesados em balança analítica (Mettler) foram dissolvidos em água destilada, autoclavados e distribuídos em placas de Petri de 20 x 100mm previamente esterilizadas, em quantidades de 20,0mL por placa em câmara de fluxo laminar e submetidos a teste de esterilidade.

Brain Heart Infusion Agar - Difco (BH1a)

O ágar BH1a foi utilizado como meio base para a verificação da produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e para a determinação da CIM dos antibióticos frente às cepas de estreptococos.

Composição:

Infusão de cérebro bovino	200,0g
Infusão de coração bovino.....	250,0g
Proteose peptona	10,0g
Bacto-dextrose	2,0g
Cloreto de sódio.....	5,0g
Fosfato dissódico	2,5g
Ágar-ágar	15,0g

Ao produto comercial **Brain Heart Infusion Agar** (Difco) foi adicionado 1.000,0mL de água destilada e esterilizado a 120°C por 20 minutos em autoclave.

Ágar p-anisidina (H_2O_2)

Este meio foi preparado conforme WHITTENBURY (1964) com algumas modificações para verificar a síntese de peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A modificação foi a substituição do sangue de carneiro por sangue de coelho e o-anisidina para p-anisidina.

Composição:

Brain Heart Infusion Agar	(Difco)	100,0mL
p-anisidina	(BDH).....	0,1g
Sangue desfibrinado hemolisado de coelho		5,0mL

Ao meio BHIIa, ainda quente, à cerca de 80°C, foram adicionados, em condições assépticas em câmara de fluxo laminar, o sal p-anisidina e sangue hemolisado de coelho e distribuídos em placas de Petri de 20 x 100mm em volumes de 20,0mL em fluxo laminar, esterilizados, submetidos a teste de esterilidade, e depois conservados como o ágar SB20.

Sangue desfibrinado de coelho

O sangue de coelho foi obtido pela punção cardíaca e colocado em frascos, com pérolas de vidro, esterilizados e agitados com cuidado durante cerca de 5 minutos, para desfibrinação e utilizado para conservação das cepas de estreptococos como preconizado por SOLÉ-VERNIN (1961).

Sangue hemolisado de coelho

O sangue hemolisado foi preparado adicionando 2,5mL de água destilada esterilizada a 2,5mL de sangue desfibrinado de coelho e misturado vigorosamente para facilitar a lise das hemácias.

Caldo Arginina (Carg)

O meio foi utilizado para detecção de amônia e preparado de acordo com o proposto por NIVEN Jr. et al. (1942), e apresentava a seguinte composição:

Extrato de levedura	(Difco).....	0,50g
Triptona	(Difco).....	0,50g
Fosfato dipotássico	(Merck)	0,20g
Glicose	(Merck)	0,05g
D/L-Arginina	(Merck)	0,30g
Água destilada.....		100,0mL

Todos os componentes foram dissolvidos em água destilada, o pH acertado para 7,0 e distribuídos em tubos de ensaio de 13 x 100mm em volumes de cerca de 4,0mL, vedados com tampões de algodão, codificados e esterilizados por 20 minutos a 120°C em autoclave e a seguir submetidos a teste de esterilidade.

Reativo de Nessler

A amônia foi evidenciada com o emprego do reativo de Nessler, preparado de acordo com ASSUMPCÃO & MORITA (1968):

Iodeto de potássio (Incasa)	5,0g
Solução de cloreto de mercúrio	10,0g
Solução de hidróxido de potássio	30,0g
Água destilada (qsp)	100,0mL

Solução de cloreto de mercúrio

Cloreto de mercúrio..... (Reagen)	2,5g
Água destilada (qsp)	10,0mL

Solução de hidróxido de potássio

Hidróxido de potássio (Reagen)	15,0g
Água destilada.....	30,0mL

Foram dissolvidos 5,0g de iodeto de potássio em 5,0mL de água destilada, sendo adicionada pouco a pouco a solução de cloreto de mercúrio, com cuidado para que o precipitado formado no início não ficasse completamente dissolvido. Após o resfriamento, foi adicionada a solução de hidróxido de potássio e acrescida água destilada até que se completasse o volume de 100,0mL. Foi adicionado então, 0,5mL da solução de cloreto de mercúrio. Depois de decantada, a solução sobrenadante foi armazenada em vidro escuro e lugar fresco para posterior utilização. Este reativo foi usado para detecção qualitativa de amônia a partir de arginina.

Müller Hinton Medium - Difco (MHa)

Para a determinação da CIM de amoxicilina, eritromicina e tetraciclina frente às cepas de *Staphylococcus aureus*, empregou-se o produto desidratado, que apresenta a seguinte composição:

Infusão de carne.....	30,0g
Hidrolisado ácido de caseína.....	17,5g
Amido	1,5g
Ágar-ágar	17,5g

Segundo as instruções do fabricante, 38,0g do meio de cultura foram reidratados com 1.000,0mL de água destilada, o pH ajustado a 7,4 e a esterilização processada em autoclave a 120°C, por 20 minutos. O meio resfriado a cerca de 50°C foi adicionado a tubos de ensaio 20 x 200mm contendo diferentes concentrações dos antibióticos citados a seguir.

Antibióticos

Os antibióticos foram amoxicilina - potência 834µg/1,0mg, estolato de eritromicina - potência 620µg/1,0mg e tetraciclina - potência 950µg/1,0mg, gentilmente cedidos pelo Dr. José Ximenes, do laboratório CEFAR, SP.

Quantidade suficiente de cada um dos diferentes antibióticos, calculada de acordo com a potência para conter 128,0µg/mL do meio de cultura foi pesada em condições assépticas em tubo de ensaio de 20 x 200mm, em balança analítica (Mettler) e dissolvida em 2,0mL de água destilada. A partir desta solução foram preparadas diluições duplas sucessivas até o 14^o tubo com 0,0156µg/mL de meio de cultura.

Ágar antibiótico (antiA)

O ágar antiA foi empregado para a avaliação da CIM dos antibióticos.

A 14 tubos com 1,0mL de concentrações decrescentes dos antibióticos, descritos no item anterior, foram adicionados 19,0mL do meio BHIa para estreptococos e MHa para estafilococos, descritos anteriormente, mantidos em banho-maria à cerca de 50°C, submetidos a homogeneização em um agitador (Mixtron-Troptonix) e vazados em placas de Petri de 20 x 100mm, esterilizadas e codificadas. Além disso foi preparada uma placa sem antibiótico para o controle do crescimento das cepas a testar. Este meio (antiA) foi preparado no dia da realização do teste.

Ágar nutriente - Difco (An)

O meio An, utilizado para a conservação das cepas de estafilococos, apresenta a seguinte composição:

Extrato de carne.....	3,0g
Peptona.....	5,0g
Ágar.....	15,0g

A 23,0g do meio desidratado **Nutrient Agar** (Difco) foi adicionado 1.000,0mL de água destilada e levado à ebulição até a completa fusão do ágar conforme a especificação do fabricante. A seguir foram distribuídos em volumes de cerca de 5,0mL em tubos de ensaios de 15 x 125mm, tampados e autoclavados a 120°C por 20 minutos. Após a esterilização foram mantidos à temperatura ambiente em posição inclinada até a solidificação do ágar e submetidos a teste de esterilidade.

Müller Hinton Broth - Difco (MHb)

Este meio de cultura foi empregado para a semeadura de colônias de *S. aureus* à partir do crescimento em meio Ni para obtenção do inóculo empregado na determinação da CIM.

Apresenta a seguinte composição:

Infusão de carne.....	300,0g
Hidrolisado ácido de caseína.....	17,5g
Amido solúvel	1,5g

No preparo, segundo as indicações do fabricante, foram adicionados a 21,0g do meio desidratado 1.000,0mL de água destilada. O pH ajustado a 7,4 e, a seguir, o meio distribuído em porções de 5,0mL, em tubos de ensaio de 15 x 125mm, e esterilizados em autoclave a 120°C, por 20 minutos.

3.2. Exame microbiológico

Diluição, semeadura e incubação

No laboratório os tubos contendo amostras de saliva e de placa dental foram submetidos, por um minuto, a agitação (Mixtron-Toptronix), regulado na sua velocidade máxima, para desagregação. A seguir eram realizadas diluições decimais seriadas em PBS (saliva, de 10^{-1} a 10^{-10} e placa até 10^{-5}), e semeadas em meios de cultura adequados.

Um volume de 0,05mL de cada diluição e do material não diluído foi depositado, com auxílio de pipeta centesimal esterilizada, em placas de Petri contendo o meio SB20 e Ms, e 0,10mL sobre o meio Ni. A semeadura foi realizada em séries duplas de placas de cada meio de cultura, para maior segurança e uniformização dos resultados. O material foi disperso uniformemente sobre a superfície do meio de cultura, com o auxílio de bastões de vidro angulados previamente autoclavados, um para cada série de semeaduras, partindo-se da maior para a menor diluição.

Durante a semeadura as placas permaneceram em zona asséptica, sobre bandejas de alumínio desinfetadas com álcool a 70%, e flambadas. Após a semeadura do material as placas foram flambadas em toda a superfície e transferidas para jarras de anaerobiose (Permutation) desinfetadas para a incubação.

As placas contendo os meios SB20 e Ms após semeadura, foram incubadas em microaerofilia, no sistema chama de vela, por 3 dias à temperatura de 37°C.

As culturas em meio Ni foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 48 horas.

Decorrido o período de incubação procedeu-se a contagem do número de colônias e aos testes para identificação dos estreptococos que se desenvolveram nos meios SB20 e Ms.

Determinação de ufc: de estreptococos do grupo mutans e de *Staphylococcus aureus*

A identificação e contagem das colônias com características dos estreptococos pertencentes ao grupo mutans foram realizadas sob luz refletida com o auxílio de um microscópio estereoscópico (Nikon) em condições assépticas, seguindo os padrões morfológicos descritos por de STOPPELAAR et al. (1967-9), van PALENSTEIN-HELDERMAN et al. (1983), DAVEY & ROGERS (1984) e AZEVEDO (1988), no meio SB20, semeadas com diferentes diluições do material. Foram contadas e o número anotado em fichas para o cálculo de ufc as que apresentaram até 250 ufc por placa.

No meio Ni a contagem foi feita por meio de observação direta. A característica peculiar das colônias de *Staphylococcus aureus* é a formação de halo de precipitação no meio de cultura, pela lecitinase produzida pela bactéria. O número de colônias Lec+ foi também anotado em ficha.

Para cálculo do número de ufc, após a contagem do número de colônias de todas as placas semeadas com o material da mesma coleta, em cada uma das duas séries foram selecionadas as duas placas que, semeadas nas diluições maiores, apresentavam número inferior a 300 ufc, e as placas imediatamente seguintes nas quais se observava ainda o crescimento de colônias.

A partir da contagem das colônias, determinou-se o número de ufc por mililitro em cada placa, e a média do total de microrganismos encontrados nas contagens representou o número de ufc existente por mililitro de material colhido da placa e da saliva.

Isolamento

Das placas de SB20 utilizadas para a contagem de ufc, 2 a 3 colônias de cada tipo, características de pertencerem ao grupo mutans, foram pescadas com auxílio de agulha de platina e transferidas em tubos com meio Tio's. Após a incubação a 37°C por cerca de 24 horas, eram submetidas a prova de pureza (coloração de Gram).

Comprovada a pureza, foram submetidas a testes bioquímicos para identificação.

As colônias desenvolvidas em placas de ágar Ms semeadas com diferentes diluições foram analisadas com auxílio de microscópio estereoscópico sob luz refletida. Cerca de 3 colônias de cada um dos diferentes tipos morfológicos descritos por CARLSSON (1967), BIRAL (1968), MIRANDA (1977) e OLIVEIRA (1974), desenvolvidos em placas com o máximo de 300 ufc foram também pescadas e inoculadas em tubos com meio Tio's e após comprovação de pureza submetidas a prova bioquímica de identificação.

As colônias Lec+ em meio Ni, característica de *S. aureus* foram pesadas e semeadas em ágar An para conservação das cepas.

Identificação das cepas: estreptococos do grupo mutans e do grupo sanguis

À medida em que as colônias foram isoladas procedeu-se à identificação bioquímica (biotipagem) das espécies suspeitas de pertencerem ao grupo mutans segundo o esquema proposto por SHKLAIR & KEENE (1976), e as de pertencerem ao grupo sanguis de acordo com esquema proposto por KILLIAN et al. (1989) e DOUGLAS et al. (1993), acrescido da produção de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), segundo WHITTENBURY (1964).

Semeadura

Para a identificação dos estreptococos do grupo mutans e sanguis aproximadamente 100µL (aproximadamente 10⁸ ufc) do inóculo em meio Tio's de pureza comprovada foram depositados em cada um dos orifícios de um multiaplicador (STEERS et al., 1959) esterilizado em autoclave, o qual contém 25 orifícios (1 para cada cepa), permitindo portanto a semeadura simultânea de 25 cepas (figura 1).

Cada placa contendo um substrato foi semeada pela deposição dos inóculos com o aplicador em sua superfície, em fluxo laminar, à semelhança de um carimbo. As placas foram deixadas abertas para secagem do inóculo e então incubadas em microaerofilia a 37°C, em sacos de plástico pelo sistema ar expirado (técnica de bafo) e vedados hermeticamente com auxílio de seladora doméstica (Lorenzetti). O multiplicador (carimbo) era recarregado a cada placa semeada para os substratos: manitol, sorbitol, rafinose, melibiose, inulina, manitol-bacitracina, salicina, esculina e/ou p-anisidina. Os tubos com o meio Carg foram semeados com 0,05mL do inóculo e incubado a 37°C em aerobiose.

Interpretação

As placas contendo carboidrato foram analisadas quanto à fermentação após incubação por cerca de 20 horas. Eram consideradas positivas (+) quando da viragem da cor do indicador de pH, da coloração púrpura (pH neutro) para o amarelo (pH ácido) como demonstrado na figura 2ab. A seguir foram reincubadas nas condições descritas e reavaliadas após 30 e 48 horas de incubação para os oligofermentadores.

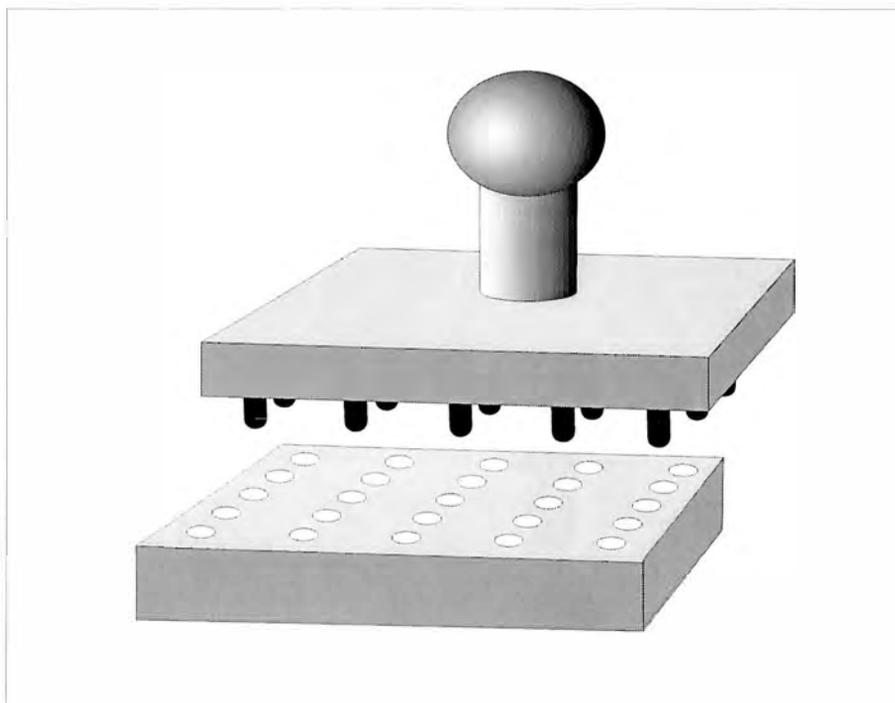


Figura 1 - Esquema do multiplicador utilizado para a semente simultânea.

.Resistência à bacitracina

Para avaliação da prova de resistência à bacitracina em meio ManB, foram adotados os mesmos critérios utilizados na fermentação de carboidratos.

.Hidrólise da esculina

A produção da esculinase foi observada após incubação por cerca de 20 horas e reavaliada após 30 e 48 horas. A esculina hidrolase, agindo sobre a esculina, libera um subproduto — a esculetina — que, reagindo com um sal de ferro, desenvolve uma coloração negra (prova positiva); as que não alteram a cor do meio, ou então, produzem uma coloração ligeiramente amarelo-esverdeada representam provas negativas (figura 2c).

. Produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2)

A produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foi realizada conforme o método desenvolvido por WHITTENBURY (1964). Foram considerados positivas as cepas que produziram cor negra ao redor do inóculo após incubação por 24 horas (figura 2d). A leitura final foi efetuada após 48 horas de incubação.

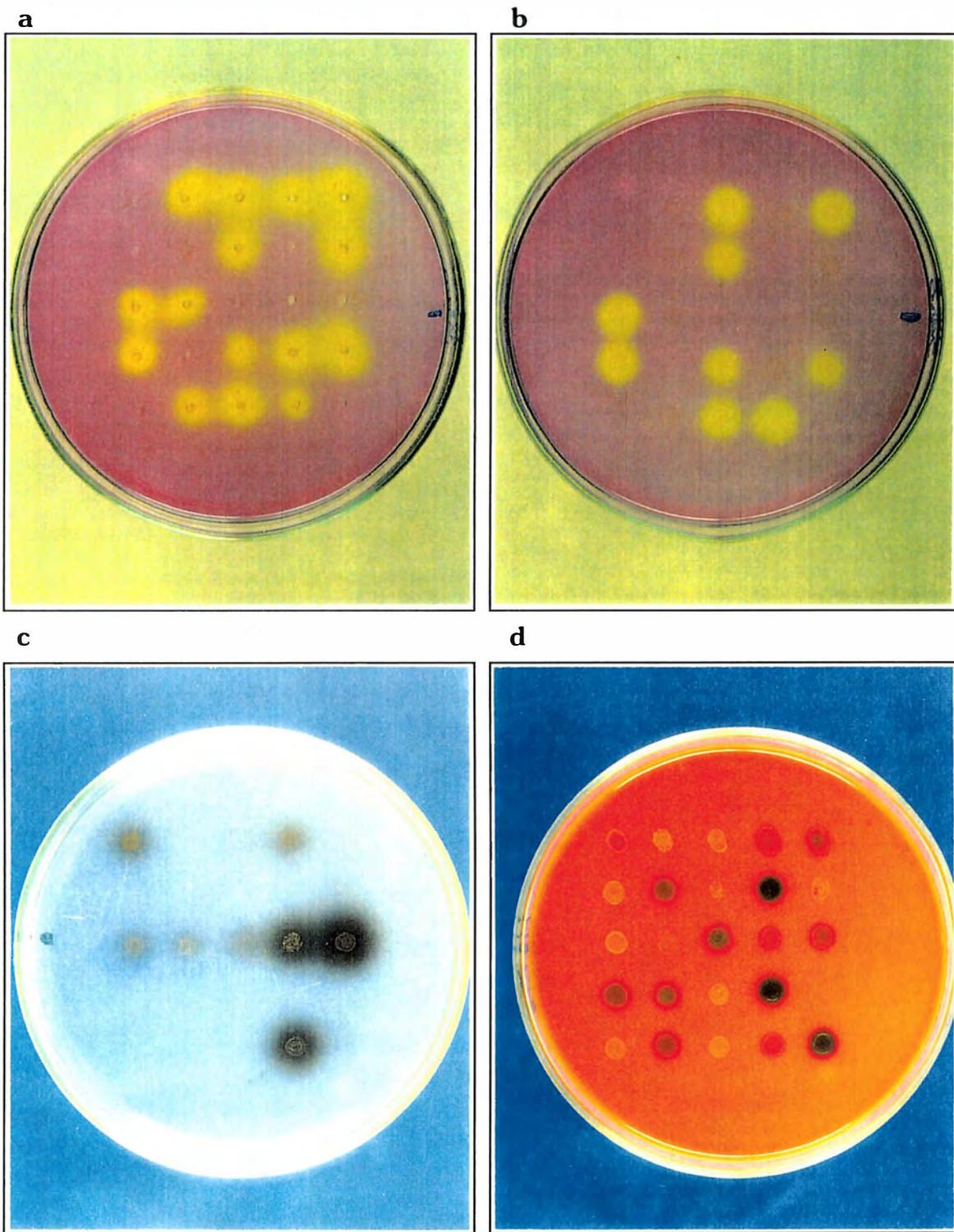


Figura 2 - Ilustrações das provas laboratoriais para identificação dos microrganismos. (Explicação no texto).

Hidrólise da arginina

A pesquisa da enzima arginina hidrolase foi efetuada após incubação dos tubos a 37°C durante 48 horas, adicionando 0,1mL do reativo de Nessler, conforme ASSUMPTÃO & MORITA (1968). O desenvolvimento de uma coloração alaranjada indica prova positiva; enquanto a coloração amarela representa prova negativa.

Conservação das cepas

As 15 cepas de *S. aureus* foram conservadas à temperatura ambiente em An e subcultivadas a cada 15 dias.

As cepas identificadas bioquimicamente como espécies do grupo mutans e/ou sanguis foram repicadas em meio Tio's, incubadas a 37°C durante 24 horas e, em seguida, alíquotas de 0,1mL da cultura transferidas em triplicatas para tubos de 12 x 75mm, previamente esterilizados e contendo 0,5mL de sangue de coelho desfibrinado descomplementado (inativado). Os tubos foram hermeticamente vedados com rolhas de borracha esterilizadas e incubados a 37°C por cerca de 18 horas, sendo posteriormente mantidos congelados à cerca de -20°C (SOLE-VERNIN, 1961).

Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

A avaliação da CIM foi realizada em uma ocasião com o emprego do sistema "mutirão" para evitar variação nos resultados, como recomendado para os testes de determinação de identidade das cepas em estudos epidemiológicos como proposto por SOLÉ-VERNIN & UTHIDA-TANAKA (1969).

Para reativação das cepas identificadas como estreptococos e conservadas em congelador, um dos tubos de cada uma das cepas foi descongelado em banho-maria à cerca de 50°C por cerca de 5 minutos. Após a liquefação, uma alíquota de 0,1mL foi semeada em tubos contendo meio Tio's e incubados por cerca de 20 horas a 37°C. O material obtido dessa cultura foi semeado em placas de Petri com ágar Saca pela técnica de esgotamento, com auxílio de alça de platina e incubado em microaerofilia pelo sistema chama de vela.

Decorrido o período de incubação, uma colônia desenvolvida no meio Saca foi pescada com auxílio de agulha de platina, e inoculada em meio Tio's, incubada a 37°C por cerca de 20 horas, quando então se obteve o inóculo de estreptococos.

Para a preparação do inóculo de *S. aureus* foi transferida, com agulha de platina, uma alíquota das cepas mantidas em An pelo repique semanal para o caldo MHB, incubado a 37°C por cerca de 20 horas.

Aproximadamente 100µL (10^8 ufc) de cada inóculo foram depositados em cada orifício de um multiaplicador, o qual contém 25 orifícios (figura 1) como descrito, e semeados em duplicata em placas de BHIa e MHa contendo antibiótico, apenas na superfície e em fluxo laminar, à semelhança de um carimbo, deixadas abertas para secagem e incubadas.

As placas contendo BHIa para estreptococos foram incubadas por 24 a 48 horas em microaerofilia pelo sistema de ar expirado à temperatura de 37°C e as placas contendo MHa para estafilococos foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas.

Decorrido o período de incubação procedeu-se à leitura e determinação da CIM.

Foram consideradas concentrações inibitórias mínimas as concentrações que inibiram totalmente o desenvolvimento bacteriano em ambas as placas.

Análises estatísticas

Para melhor evidenciação dos resultados, os dados obtidos foram submetidos à análise estatística.

Estudo preliminar revelou que a amostra não seguia uma distribuição normal, optando-se então por um teste de hipóteses não-paramétrico, o teste de Page (DANIEL, 1978), baseado em análise de variância envolvendo amostragem múltipla — três ou mais variáveis. Dessa maneira os antibióticos puderam ser classificados em função de sua capacidade inibitória.

No entanto, quando as respostas das cepas microbianas foram transformadas em probitos, verificou-se que a distribuição numérica seguia um padrão de distribuição normal. Plotando esses probitos contra os logaritmos das doses dos antibióticos em gráficos, foi possível expressar os resultados em regressões lineares.

As inclinações das retas obtidas da correlação dose-resposta serviram para representar a potência dos antibióticos, ou seja, a variação do número de inibições relacionada a uma determinada variação na concentração do antibiótico. Quanto maior o número de inibições para uma dada variação na concentração, mais potente pode ser considerado o antibiótico. Conseqüentemente, mais vertical é a reta traçada no gráfico. O coeficiente de inclinação da reta pode ser chamado de *b*. Quanto maior o *b*, mais vertical é a reta e mais potente o antibiótico.

RESULTADOS

Os resultados das leituras das culturas microbiológicas e determinação da CIM, para os microrganismos originários da saliva e da placa dental de cada antibiótico estudado, estão expressos nas tabelas 1a a 5b, cujos valores representam, para cada diluição, o número de cepas inibidas e o respectivo percentual, seguidos dos dados cumulativos correspondentes.

As tabelas foram ordenadas em pares, **a e b**, relativos à saliva e à placa dental e, numericamente, de 1 a 5, de acordo com o microrganismo pesquisado. As linhas tracejadas que podem ser vistas em cada coluna correspondente a um antibiótico representam os limites de concentrações aquém dos quais as cepas podem ser consideradas sensíveis, e além, resistentes, de acordo com as normas do NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (KONEMAN et al., 1993).

Nas tabelas 1a e 1b, compostas pelos índices de sensibilidade dos *Streptococcus oralis*, pode-se observar uma igualdade das concentrações de eritromicina e tetraciclina capazes de inibir todos os microrganismos (CIM₁₀₀) da saliva e da placa. A amoxicilina foi a exceção, demandando o dobro da CIM₁₀₀ referente à saliva para a inibição dos microrganismos encontrados na placa. Ficou aparente a maior sensibilidade bacteriana à amoxicilina, e a menor, à tetraciclina, tomando-se como referência as mesmas concentrações. A eritromicina exibiu uma capacidade inibitória intermediária aos outros dois antibióticos. Dos materiais colhidos de 38 indivíduos, 16 cepas foram recuperadas da saliva e 31 da placa dental.

Os picos de inibições produzidos por cada antimicrobiano variaram bastante. A amoxicilina atingiu o auge de seu desempenho na concentração de 0,062 e 0,031 µg/mL, inibindo 37,5% das cepas da saliva, e 29,0% das cepas encontradas na placa, respectivamente (figuras 3ab), demonstrando concentrações inibitórias relativamente bem distribuídas entre a maioria das concentrações.

A eritromicina e a tetraciclina, ao contrário, revelaram altos percentuais de inibição para faixas mais restritas de concentração. A eritromicina chegou a inibir 81,3 e 74,2 por cento das cepas nas menores concentrações. A tetraciclina inibiu a maioria dos microrganismos na faixa de concentração de 1,000 e 2,000 µg/mL (tabelas 1ab, figuras 3ab).

As CIM₁₀₀ para os estreptococos do grupo sanguis seguiu um perfil semelhante ao da espécie anterior, com a amoxicilina e a tetraciclina demonstrando, no entanto, um comportamento mais homogêneo para os dois materiais estudados e a eritromicina com uma margem maior de variação. A inibição de todas as bactérias da saliva exigiu 8,000 µg/mL de eritromicina, enquanto que para os microrganismos da placa, apenas 2,000 µg/mL provocaram a erradicação (tabelas 2ab). Os picos de eficiência pareceram seguir também o mesmo padrão. A tetraciclina atingiu a eficiência plena na concentração máxima, de 128,000 µg/mL, a eritromicina se classificando numa posição intermediária e a amoxicilina exercendo sua ação maior em menores concentrações (tabelas 2ab). Este grupo foi representado por 13 cepas originárias da saliva e 12 da placa dental.

Tabela 1a - Inibição do crescimento de *Streptococcus oralis* em 16 cepas originárias da saliva de 38 pacientes, frente a diferentes concentrações de três antibióticos.

Concentração do antibiótico em µg/mL	<i>Amoxicilina</i>				<i>Eritromicina</i>				<i>Tetraciclina</i>			
	cepas inibidas		dados cumulativos		cepas inibidas		dados cumulativos		cepas inibidas		dados cumulativos	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
0,015	2	12,5	2	12,5	13	81,3	13	81,3	0	0,0	0	0,0
0,031	2	12,5	4	25,0	0	0,0	13	81,3	0	0,0	0	0,0
0,062	6	37,5	10	62,5	0	0,0	13	81,3	0	0,0	0	0,0
0,125	5	31,3	15	93,8	0	0,0	13	81,3	0	0,0	0	0,0
0,250	1	6,3	16	100,0	0	0,0	13	81,3	0	0,0	0	0,0
0,500	-	-	16		0	0,0	13	81,3	1	6,3	1	6,3
1,000	-	-	16		1	6,3	14	87,5	9	56,3	10	62,5
2,000	-	-	16		1	6,3	15	93,8	2	12,5	12	75,0
4,000	-	-	16		1	6,3	16	100,0	0	0,0	12	75,0
8,000	-	-	16		-	-	16		1	6,3	13	81,3
16,000	-	-	16		-	-	16		1	6,3	14	87,5
32,000	-	-	16		-	-	16		0	0,0	14	87,5
64,000	-	-	16		-	-	16		1	6,3	15	93,8
128,000	-	-	16		-	-	16		1	6,3	16	100,0

Tabela 1b - Inibição do crescimento de *Streptococcus oralis* em 31 cepas originárias da placa dental de 38 pacientes, frente a diferentes concentrações de três antibióticos.

Concentração do antibiótico em µg/mL	<i>Amoxicilina</i>				<i>Eritromicina</i>				<i>Tetraciclina</i>			
	cepas inibidas		dados cumulativos		cepas inibidas		dados cumulativos		cepas inibidas		dados cumulativos	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
0,015	2	6,5	2	6,5	23	74,2	23	74,2	0	0,0	0	0,0
0,031	9	29,0	11	35,5	1	3,2	24	77,4	0	0,0	0	0,0
0,062	8	25,8	19	61,3	0	0,0	24	77,4	0	0,0	0	0,0
0,125	3	9,7	22	71,0	0	0,0	24	77,4	0	0,0	0	0,0
0,250	8	25,8	30	96,8	0	0,0	24	77,4	1	3,2	1	3,2
0,500	1	3,2	31	100,0	1	3,2	25	80,6	4	12,9	5	16,1
1,000	-	-	31		0	0,0	25	80,6	14	45,2	19	61,3
2,000	-	-	31		2	6,5	27	87,1	3	9,7	22	71,0
4,000	-	-	31		4	12,9	31	100,0	0	0,0	22	71,0
8,000	-	-	31		-	-	31		1	3,2	23	74,2
16,000	-	-	31		-	-	31		0	0,0	23	74,2
32,000	-	-	31		-	-	31		2	6,5	25	80,6
64,000	-	-	31		-	-	31		2	6,5	27	87,1
128,000	-	-	31		-	-	31		4	12,9	31	100,0

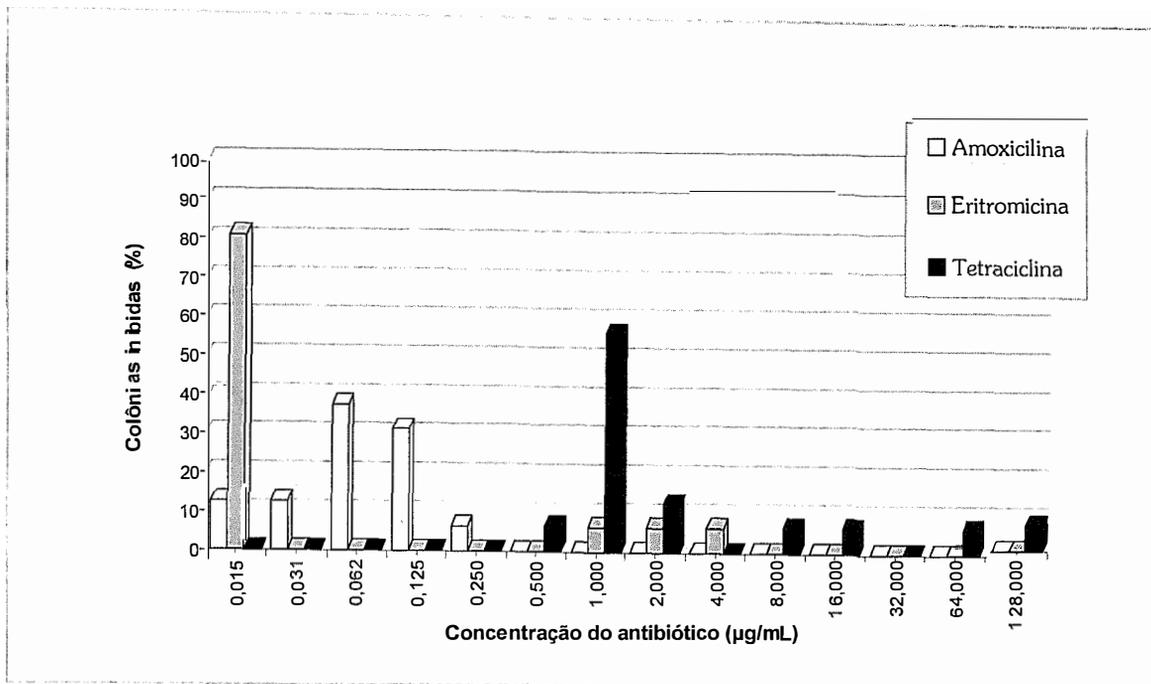


Figura 3a - Percentuais de cepas de *Streptococcus oralis* originárias da saliva inibidas em cada concentração dos antibióticos testados.

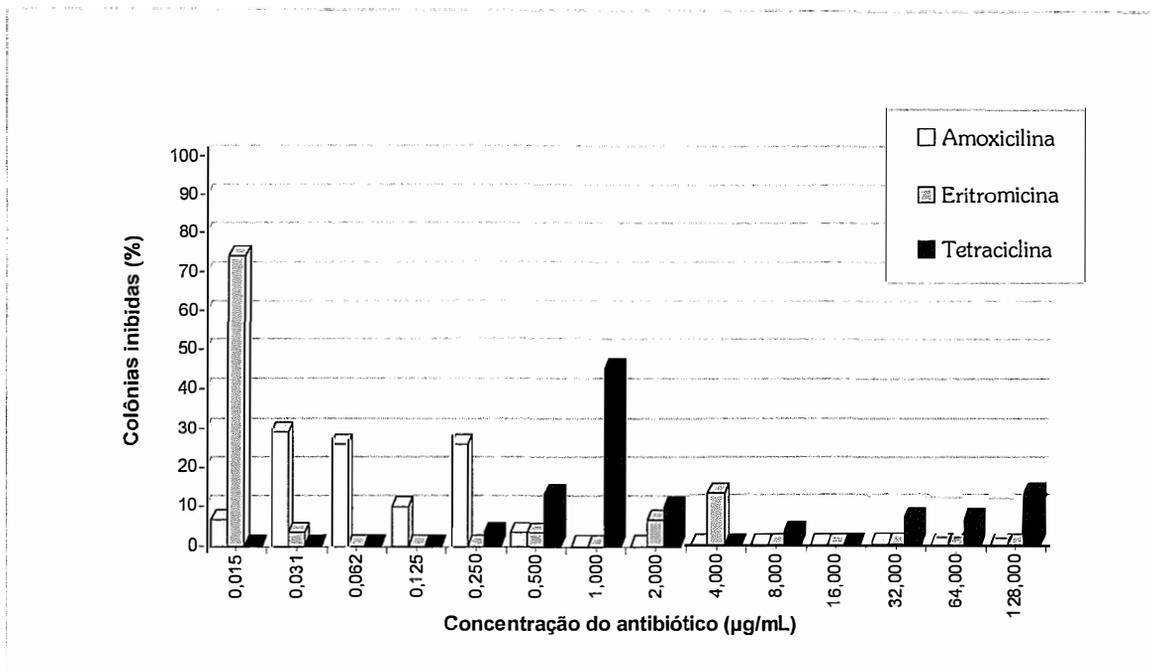


Figura 3b - Percentuais de cepas de *Streptococcus oralis* originárias da placa dental inibidas em cada concentração dos antibióticos testados.

Tabela 2a - Inibição do crescimento de estreptococos do grupo sanguis em 13 cepas originárias da saliva de 38 pacientes, frente a diferentes concentrações de três antibióticos.

Concentração do antibiótico em µg/mL	<i>Amoxicilina</i>				<i>Eritromicina</i>				<i>Tetraciclina</i>			
	cepas inibidas		dados cumulativos		cepas inibidas		dados cumulativos		cepas inibidas		dados cumulativos	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
0,015	0	0,0	0	0,0	10	76,9	10	76,9	0	0,0	0	0,0
0,031	1	7,7	1	7,7	0	0,0	10	76,9	0	0,0	0	0,0
0,062	0	0,0	1	7,7	0	0,0	10	76,9	0	0,0	0	0,0
0,125	0	0,0	1	7,7	0	0,0	10	76,9	0	0,0	0	0,0
0,250	8	61,5	9	69,2	0	0,0	10	76,9	0	0,0	0	0,0
0,500	4	30,8	13	100,0	0	0,0	10	76,9	2	15,4	2	15,4
1,000	-	-	13		0	0,0	10	76,9	3	23,1	5	38,5
2,000	-	-	13		0	0,0	10	76,9	1	7,7	6	46,2
4,000	-	-	13		2	15,4	12	92,3	0	0,0	6	46,2
8,000	-	-	13		1	7,7	13	100,0	0	0,0	6	46,2
16,000	-	-	13		-	-	13		0	0,0	6	46,2
32,000	-	-	13		-	-	13		1	7,7	7	53,8
64,000	-	-	13		-	-	13		2	15,4	9	69,2
128,000	-	-	13		-	-	13		4	30,8	13	100,0

Tabela 2b - Inibição do crescimento de estreptococos do grupo sanguis em 12 cepas originárias da placa dental de 38 pacientes, frente a diferentes concentrações de três antibióticos.

Concentração do antibiótico em µg/mL	<i>Amoxicilina</i>				<i>Eritromicina</i>				<i>Tetraciclina</i>			
	cepas inibidas		dados cumulativos		cepas inibidas		dados cumulativos		cepas inibidas		dados cumulativos	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
0,015	1	8,3	1	8,3	10	83,3	10	83,3	0	0,0	0	0,0
0,031	1	8,3	2	16,7	0	0,0	10	83,3	0	0,0	0	0,0
0,062	0	0,0	2	16,7	0	0,0	10	83,3	0	0,0	0	0,0
0,125	0	0,0	2	16,7	0	0,0	10	83,3	0	0,0	0	0,0
0,250	6	50,0	8	66,7	0	0,0	10	83,3	0	0,0	0	0,0
0,500	4	33,3	12	100,0	0	0,0	10	83,3	1	8,3	1	8,3
1,000	-	-	12		1	8,3	11	91,7	8	66,7	9	75,0
2,000	-	-	12		1	8,3	12	100,0	0	0,0	9	75,0
4,000	-	-	12		-	-	12		0	0,0	9	75,0
8,000	-	-	12		-	-	12		0	0,0	9	75,0
16,000	-	-	12		-	-	12		0	0,0	9	75,0
32,000	-	-	12		-	-	12		0	0,0	9	75,0
64,000	-	-	12		-	-	12		2	16,7	11	91,7
128,000	-	-	12		-	-	12		1	8,3	12	100,0

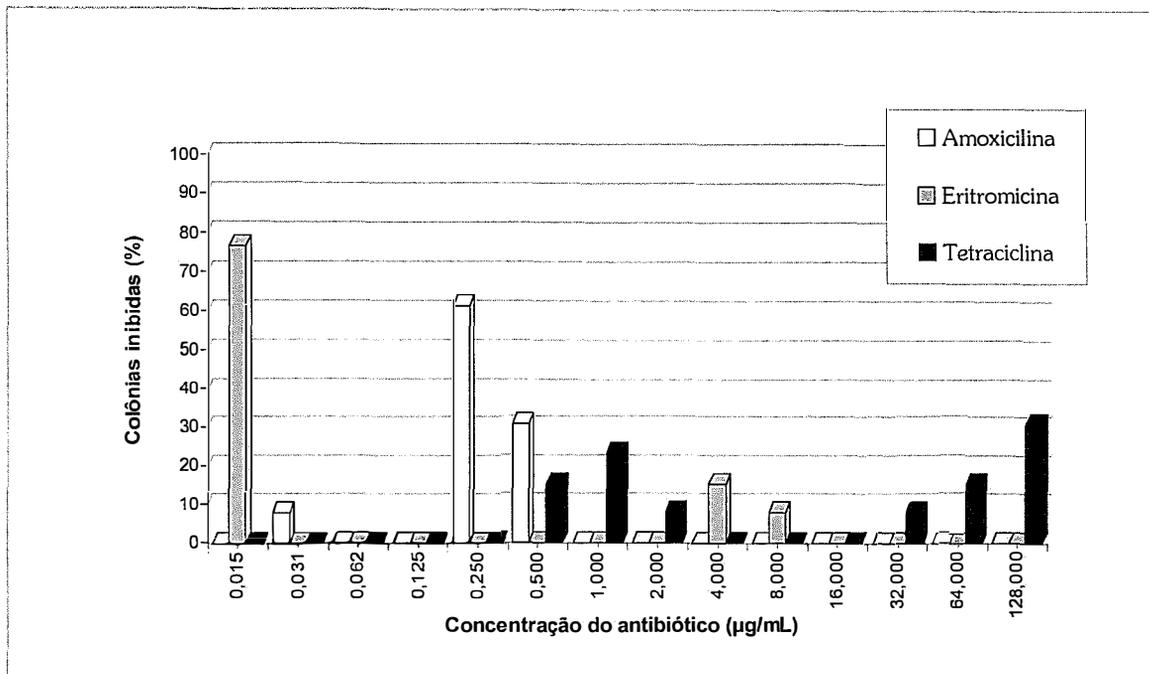


Figura 4a - Percentuais de cepas de estreptococos do grupo sanguis originárias da saliva inibidas em cada concentração dos antibióticos testados.

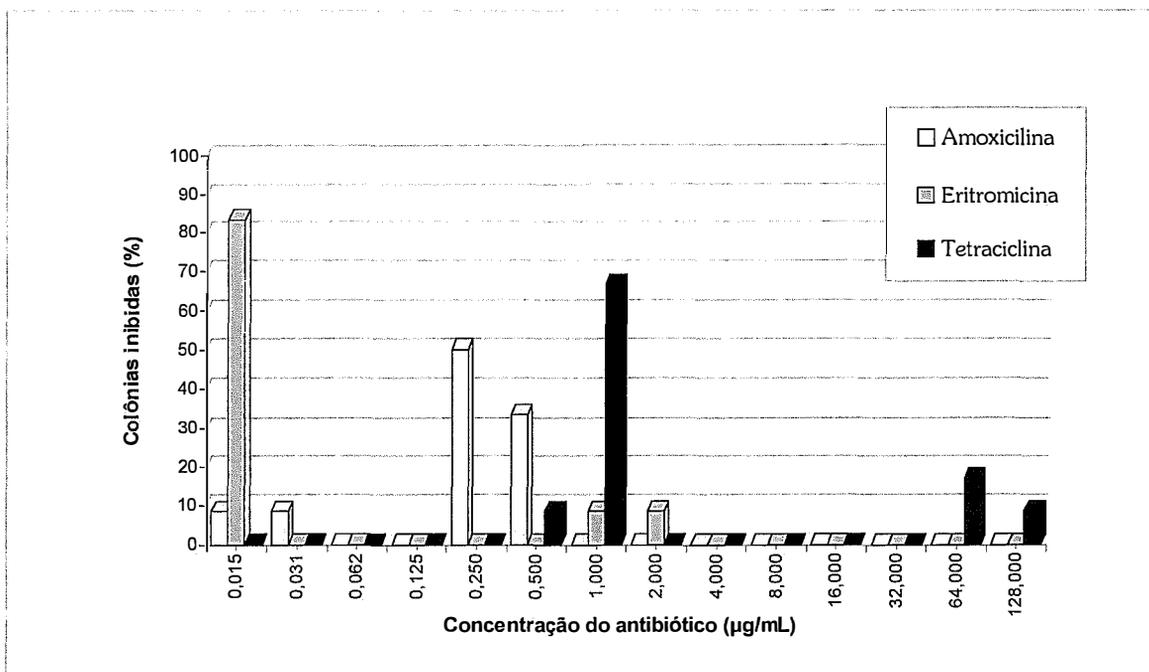


Figura 4b - Percentuais de cepas de estreptococos do grupo sanguis originárias da placa dental inibidas em cada concentração dos antibióticos testados.

As inibições foram maiores na concentração de 0,250µg/mL de amoxicilina, tanto para organismos da saliva (61,5%) como da placa (50,0%). A eritromicina manteve seus melhores índices na concentração inicial, inibindo 76,9% enquanto a tetraciclina inibiu 30,8% das cepas da saliva com 128,000µg/mL e 66,7% das bactérias da placa com 1,000µg/mL (tabelas 2ab, figuras 4ab).

Como pode ser visto nas tabelas 3a e 3b e figuras 5a e 5b, os testes para o *Streptococcus mutans* revelaram um nível mais elevado de sensibilidade à todos os antimicrobianos. Para a eles, apenas 0,031µg/mL de eritromicina foram capazes de provocar a inibição. A amoxicilina manteve seu bom desempenho mas se classificou como o segundo mais eficiente, eliminando todas as cepas na concentração de 0,125µg/mL, e, até mesmo a tetraciclina teve um escore melhor, inibindo todos os microrganismos à concentrações de 64,000 e 32,000µg/mL, respectivamente para a saliva e placa. Este grupo de microrganismos foi o que apresentou maior incidência na cavidade oral dentre os estudados, sendo isoladas 34 cepas da saliva e 35 da placa dental dos 38 alunos de Odontologia.

As faixas de atuação dos antibióticos parecem ser mais definidas neste caso que para os outros grupos. Do total de organismos, mais de 80% da saliva ou da placa tiveram seu crescimento impedido pela amoxicilina na concentração de 0,062µg/mL, e mais de 90%, pela eritromicina na concentração de 0,031µg/mL. A tetraciclina ficou com um desempenho mais modesto, atingindo seu apogeu na concentração de 1,000µg/mL, inibindo mais de 47% das cepas originárias de ambos os materiais (tabelas 3ab, figuras 5ab).

Os dados relativos aos testes com o *Streptococcus sobrinus* podem ser vistos nas tabelas 4a e 4b e figuras 6a e 6b. Foram efetuados em 12 cepas isoladas da saliva dos 38 pacientes e 10 originárias da placa dental.

O perfil de sensibilidade das cepas assemelha-se ao do *S. mutans*. Outra vez a eritromicina inibiu mais em menores concentrações, a amoxicilina ficou em segundo lugar, demonstrando um bom poder inibitório e a tetraciclina baixou suas concentrações efetivas em comparação com os outros microrganismos já descritos. Entretanto, suas CIMs₁₀₀ de 4,000µg/mL para a saliva e 2,000µg/mL para a placa ainda são altas.

As figuras 6a e 6b ilustram a eficiência das ações da eritromicina e amoxicilina, inibindo quase todas as cepas de uma vez com pequenas concentrações. A amoxicilina inibiu 91,7 e 70,0 por cento dos microrganismos, respectivamente, na saliva e placa, numa concentração de 0,031µg/mL, e a eritromicina 100 e 90 por cento, com a mesma concentração. A tetraciclina convergiu seu potencial de ação contra o *S. sobrinus* na dose de 1,000µg/mL, mas encontrou resistência de algumas cepas ainda com valores quatro vezes maiores.

As 29 cepas de *Staphylococcus aureus* provenientes da saliva e as 2 das placa dental dos 38 alunos, apresentaram um comportamento nitidamente dis-

Tabela 3a - Inibição do crescimento de *Streptococcus mutans* em 34 cepas originárias da saliva de 38 pacientes, frente a diferentes concentrações de três antibióticos.

Concentração do antibiótico em µg/mL	<i>Amoxicilina</i>				<i>Eritromicina</i>				<i>Tetraciclina</i>			
	cepas inibidas		dados cumulativos		cepas inibidas		dados cumulativos		cepas inibidas		dados cumulativos	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
0,015	0	0,0	0	0,0	2	5,9	2	5,9	0	0,0	0	0,0
0,031	3	8,8	3	8,8	32	94,1	34	100,0	0	0,0	0	0,0
0,062	28	82,4	31	91,2	-	-	34		0	0,0	0	0,0
0,125	3	8,8	34	100,0	-	-	34		0	0,0	0	0,0
0,250	-	-	34		-	-	34		0	0,0	0	0,0
0,500	-	-	34		-	-	34		3	8,8	3	8,8
1,000	-	-	34		-	-	34		16	47,1	19	55,9
2,000	-	-	34		-	-	34		12	35,3	31	91,2
4,000	-	-	34		-	-	34		-	-	31	91,2
8,000	-	-	34		-	-	34		-	-	31	91,2
16,000	-	-	34		-	-	34		-	-	31	91,2
32,000	-	-	34		-	-	34		2	5,9	33	97,1
64,000	-	-	34		-	-	34		1	2,9	34	100,0
128,000	-	-	34		-	-	34		-	-	34	

Tabela 3b - Inibição do crescimento de *Streptococcus mutans* em 35 cepas originárias da placa dental de 38 pacientes, frente a diferentes concentrações de três antibióticos.

Concentração do antibiótico em µg/mL	<i>Amoxicilina</i>				<i>Eritromicina</i>				<i>Tetraciclina</i>			
	cepas inibidas		dados cumulativos		cepas inibidas		dados cumulativos		cepas inibidas		dados cumulativos	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
0,015	0	0,0	0	0,0	3	8,6	3	8,6	0	0,0	0	0,0
0,031	2	5,7	2	5,7	32	91,4	35	100,0	0	0,0	0	0,0
0,062	29	82,9	31	88,6	-	-	35		0	0,0	0	0,0
0,125	4	11,4	35	100,0	-	-	35		0	0,0	0	0,0
0,250	-	-	35		-	-	35		0	0,0	0	0,0
0,500	-	-	35		-	-	35		4	11,4	4	11,4
1,000	-	-	35		-	-	35		17	48,6	21	60,0
2,000	-	-	35		-	-	35		13	37,1	34	97,1
4,000	-	-	35		-	-	35		-	-	34	97,1
8,000	-	-	35		-	-	35		-	-	34	97,1
16,000	-	-	35		-	-	35		-	-	34	97,1
32,000	-	-	35		-	-	35		1	2,9	35	100,0
64,000	-	-	35		-	-	35		-	-	35	
128,000	-	-	35		-	-	35		-	-	35	

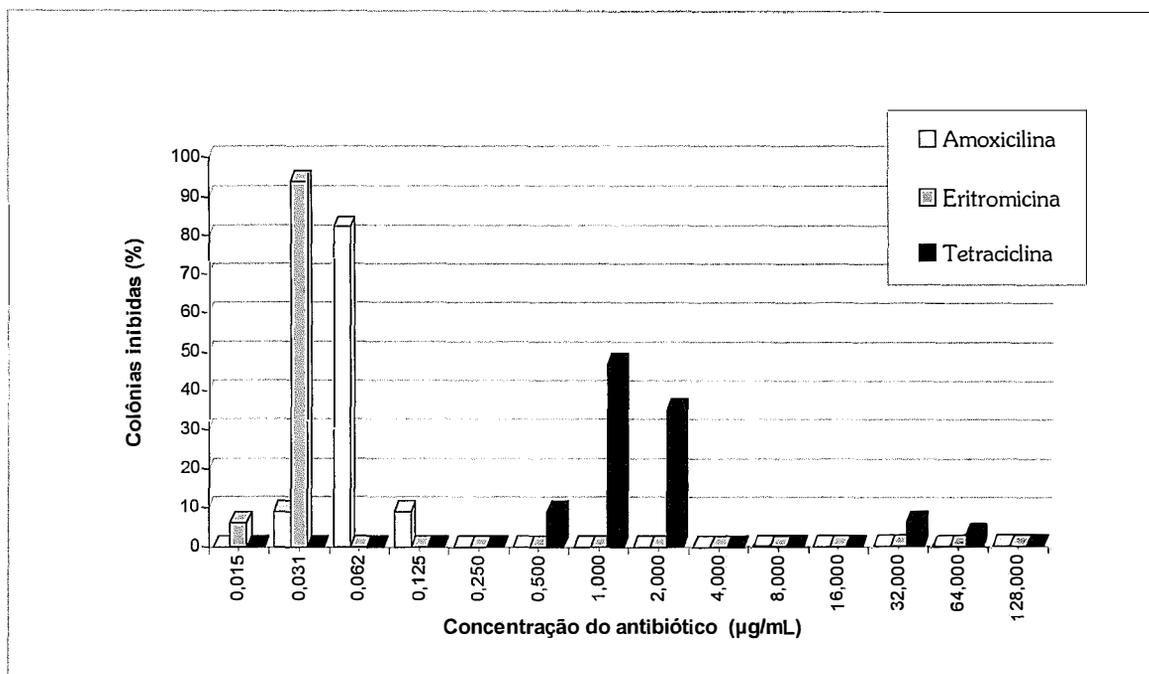


Figura 5a - Percentuais de cepas de *Streptococcus mutans* originárias da saliva inibidas em cada concentração dos antibióticos testados.

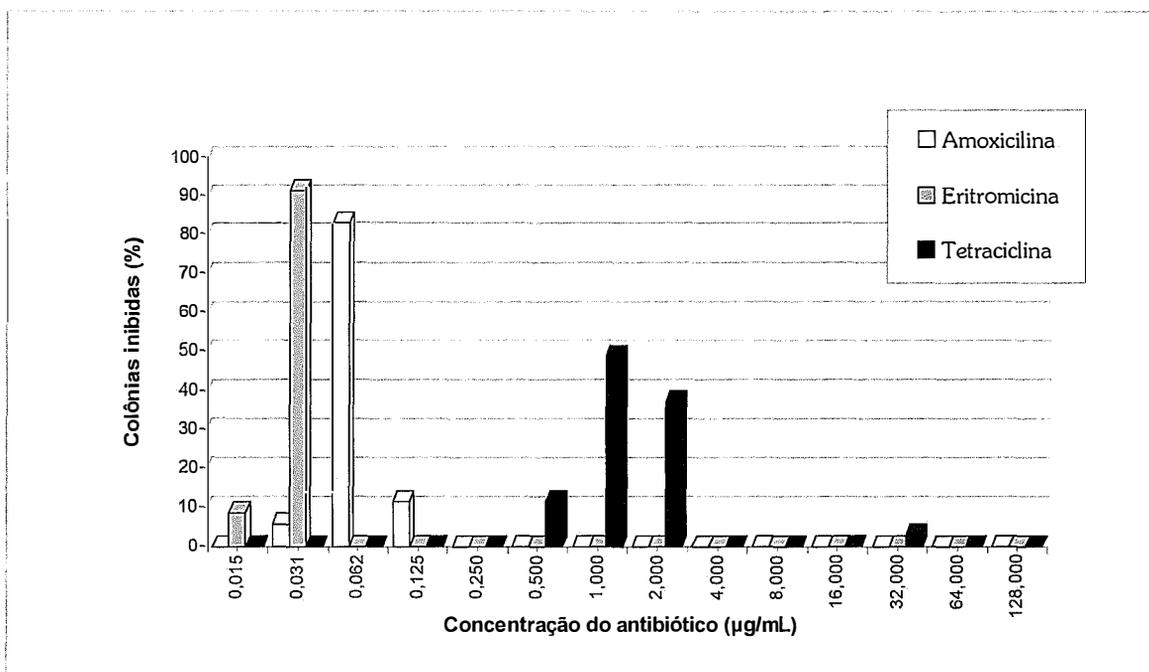


Figura 5b - Percentuais de cepas *Streptococcus mutans* originárias da placa dental inibidas em cada concentração dos antibióticos testados.

tinto do encontrado para as outras espécies microbianas. O número de cepas resistentes foi sensivelmente superior para os três antibióticos (tabelas 5ab). A amoxicilina foi a mais eficiente, atingindo, no entanto, sua ação inibitória máxima (para 100,0% das cepas) na concentração de 8,000µg/mL, relativamente alta. A maioria das cepas (51,7% da saliva e 50,0% da placa) foram inibidas com 2,000µg/mL.

A eritromicina chegou a interromper o crescimento de 79,3% de todos os microrganismos da saliva com apenas 0,062µg/mL, mas o restante das cepas permaneceu resistente à estes níveis, sendo que 3 delas somente se sensibilizaram a custo da concentração máxima, de 128,000µg/mL. Para a placa dental os resultados foram bem diferentes, sendo a metade das bactérias inibidas com 0,031µg/mL e o total com 0,250µg/mL, mas o pequeno número de cepas isoladas deste material, somente duas, não pareceu muito representativo.

Uma quantidade significativa de microrganismos demonstrou resistência também à tetraciclina. A inibição total ocorreu com 64,000µg/mL para os *S. aureus* da saliva, e 0,500µg/mL para os encontrados na placa. Os picos de inibição foram 58,6% com e 100,0%, para os organismos da saliva e placa, respectivamente, com a concentração de 0,500µg/mL (figuras 7ab).

As concentrações inibitórias mínimas para 99,9% do inóculo (CIM₁₀₀) foram calculadas para cada microrganismo originários da saliva e placa dental e estão apresentadas na tabela 6. As médias das CIM₁₀₀ entre saliva e placa também foram estimadas. Os valores representam as concentrações dos antibióticos que produziram a inibição do crescimento de todas as cepas possivelmente visíveis sobre o meio de cultura, quando este era examinado sob lupa estereoscópica e permitem a análise comparativa com o trabalho de outros autores. Pode-se observar que a amoxicilina quase que invariavelmente atingiu a inibição total em concentrações menores. A exceção foram os *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*, mais sensíveis à eritromicina. Pode-se afirmar que, em média, a amoxicilina foi mais eficiente, seguida da eritromicina e da tetraciclina. Embora a tetraciclina tenha inibido os *Staphylococcus aureus* encontrados na placa em concentrações menores que a amoxicilina, é preciso lembrar que representam somente duas cepas isoladas daquele local.

A tabela 7 apresenta as médias ponderadas das concentrações inibitórias mínimas entre todas as cepas estudadas para cada antibiótico e cada microrganismo (CIM_m). Esta forma de apresentação dos dados também é freqüentemente utilizada por outros autores e, de maneira análoga, pode ser útil no estabelecimento de comparações.

Examinando a tabela 7, verifica-se que os antibióticos podem ser ordenados quanto à eficiência, da mesma forma que na tabela anterior, entretanto, chama atenção o fato de que, em média, os *Streptococcus sanguis* oriundos da placa dental foram inibidos antes pela eritromicina que pela amoxicilina.

Tabela 4a - Inibição do crescimento de *Streptococcus sobrinus* em 12 cepas originárias da saliva de 38 pacientes, frente a diferentes concentrações de três antibióticos.

Concentração do antibiótico em µg/mL	<i>Amoxicilina</i>				<i>Eritromicina</i>				<i>Tetraciclina</i>			
	cepas inibidas		dados cumulativos		cepas inibidas		dados cumulativos		cepas inibidas		dados cumulativos	
	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%
0,015	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
0,031	11	91,7	11	91,7	12	100,0	12	100,0	0	0,0	0	0,0
0,062	1	8,3	12	100,0	-	-	12		0	0,0	0	0,0
0,125	-	-	12		-	-	12		0	0,0	0	0,0
0,250	-	-	12		-	-	12		0	0,0	0	0,0
0,500	-	-	12		-	-	12		0	0,0	0	0,0
1,000	-	-	12		-	-	12		7	58,3	7	58,3
2,000	-	-	12		-	-	12		4	33,3	11	91,7
4,000	-	-	12		-	-	12		1	8,3	12	100,0
8,000	-	-	12		-	-	12		-	-	12	
16,000	-	-	12		-	-	12		-	-	12	
32,000	-	-	12		-	-	12		-	-	12	
64,000	-	-	12		-	-	12		-	-	12	
128,000	-	-	12		-	-	12		-	-	12	

Tabela 4b - Inibição do crescimento de *Streptococcus sobrinus* em 10 cepas originárias da placa dental de 38 pacientes, frente a diferentes concentrações de três antibióticos.

Concentração do antibiótico em µg/mL	<i>Amoxicilina</i>				<i>Eritromicina</i>				<i>Tetraciclina</i>			
	cepas inibidas		dados cumulativos		cepas inibidas		dados cumulativos		cepas inibidas		dados cumulativos	
	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%
0,015	0	0,0	0	0,0	1	10,0	1	10,0	0	0,0	0	0,0
0,031	7	70,0	7	70,0	9	90,0	10	100,0	0	0,0	0	0,0
0,062	3	30,0	10	100,0	-	-	10		0	0,0	0	0,0
0,125	-	-	10		-	-	10		0	0,0	0	0,0
0,250	-	-	10		-	-	10		0	0,0	0	0,0
0,500	-	-	10		-	-	10		0	0,0	0	0,0
1,000	-	-	10		-	-	10		5	50,0	5	50,0
2,000	-	-	10		-	-	10		5	50,0	10	100,0
4,000	-	-	10		-	-	10		-	-	10	
8,000	-	-	10		-	-	10		-	-	10	
16,000	-	-	10		-	-	10		-	-	10	
32,000	-	-	10		-	-	10		-	-	10	
64,000	-	-	10		-	-	10		-	-	10	
128,000	-	-	10		-	-	10		-	-	10	

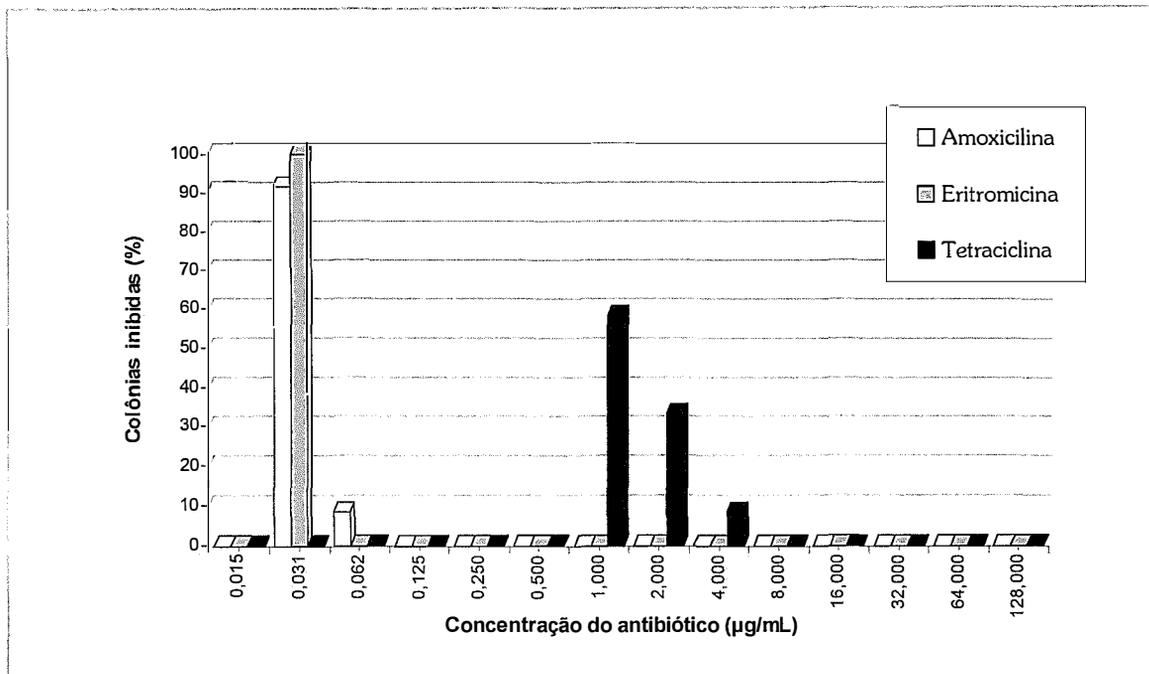


Figura 6a - Percentuais de cepas de *Streptococcus sobrinus* originárias da saliva inibidas em cada concentração dos antibióticos testados.

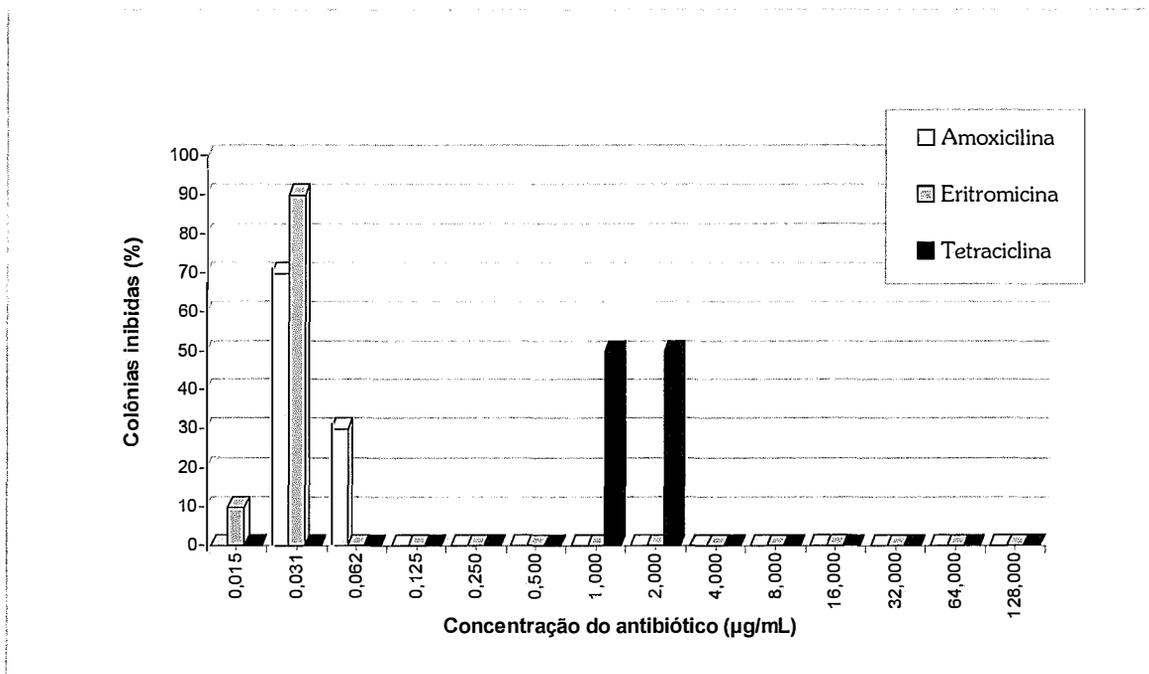


Figura 6b - Percentuais de cepas *Streptococcus sobrinus* originárias da placa dental inibidas em cada concentração dos antibióticos testados.

Tabela 5a - Inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus* em 29 cepas originárias da saliva de 38 pacientes, frente a diferentes concentrações de três antibióticos.

Concentração do antibiótico em µg/mL	<i>Amoxicilina</i>				<i>Eritromicina</i>				<i>Tetraciclina</i>			
	cepas inibidas		dados cumulativos		cepas inibidas		dados cumulativos		cepas inibidas		dados cumulativos	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
0,015	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
0,031	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
0,062	3	10,3	3	10,3	23	79,3	23	79,3	0	0,0	0	0,0
0,125	0	0,0	3	10,3	0	0,0	23	79,3	0	0,0	0	0,0
0,250	2	6,9	5	17,2	0	0,0	23	79,3	0	0,0	0	0,0
0,500	1	3,4	6	20,7	1	3,4	24	82,8	17	58,6	17	58,6
1,000	5	17,2	11	37,9	1	3,4	25	86,2	2	6,9	19	65,5
2,000	15	51,7	26	89,7	0	0,0	25	86,2	0	0,0	19	65,5
4,000	2	6,9	28	96,6	0	0,0	25	86,2	0	0,0	19	65,5
8,000	1	3,4	29	100,0	1	3,4	26	89,7	0	0,0	19	65,5
16,000	-	-	29		-	-	26	89,7	3	10,3	22	75,9
32,000	-	-	29		-	-	26	89,7	1	3,4	23	79,3
64,000	-	-	29		-	-	26	89,7	6	20,7	29	100,0
128,000	-	-	29		3	10,3	29	100,0	-	-	29	

Tabela 5b - Inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus* em 2 cepas originárias da placa dental de 38 pacientes, frente a diferentes concentrações de três antibióticos.

Concentração do antibiótico em µg/mL	<i>Amoxicilina</i>				<i>Eritromicina</i>				<i>Tetraciclina</i>			
	cepas inibidas		dados cumulativos		cepas inibidas		dados cumulativos		cepas inibidas		dados cumulativos	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
0,015	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
0,031	0	0,0	0	0,0	1	50,0	1	50,0	0	0,0	0	0,0
0,062	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	50,0	0	0,0	0	0,0
0,125	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	50,0	0	0,0	0	0,0
0,250	0	0,0	0	0,0	1	50,0	2	100,0	0	0,0	0	0,0
0,500	0	0,0	0	0,0	-	-	2		2	100,0	2	100,0
1,000	0	0,0	0	0,0	-	-	2		-	-	2	
2,000	1	50,0	1	50,0	-	-	2		-	-	2	
4,000	0	0,0	1	50,0	-	-	2		-	-	2	
8,000	1	50,0	2	100,0	-	-	2		-	-	2	
16,000	-	-	2		-	-	2		-	-	2	
32,000	-	-	2		-	-	2		-	-	2	
64,000	-	-	2		-	-	2		-	-	2	
128,000	-	-	2		-	-	2		-	-	2	

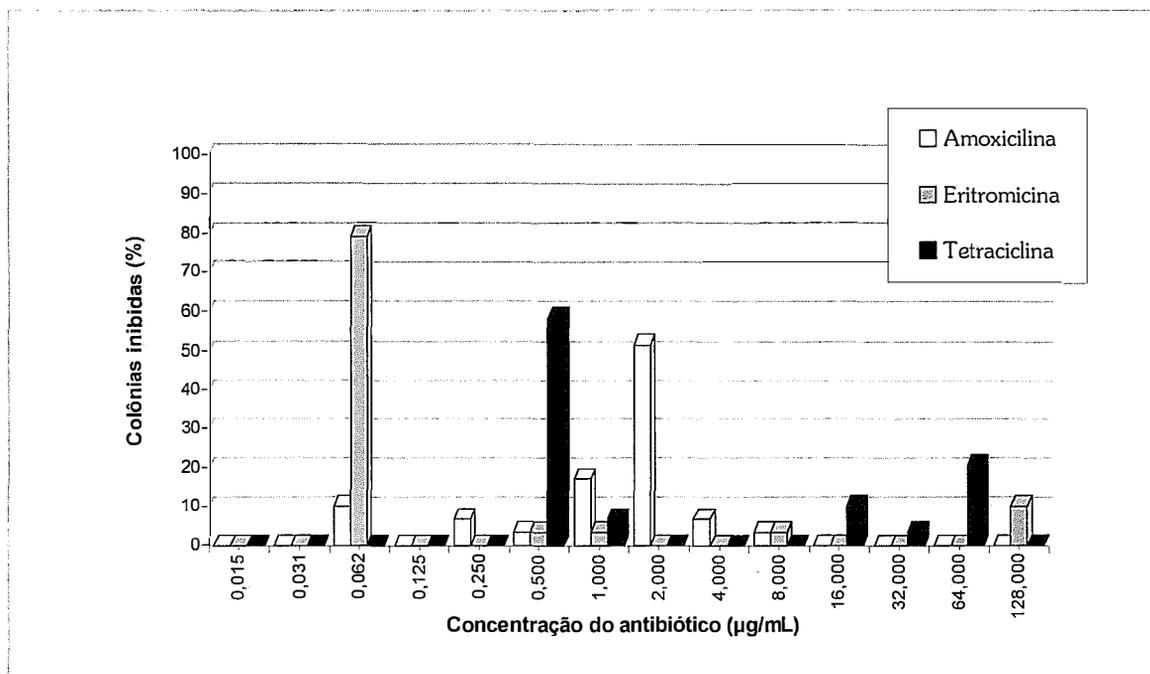


Figura 7a - Percentuais de cepas de *Staphylococcus aureus* originárias da saliva inibidas em cada concentração dos antibióticos testados.

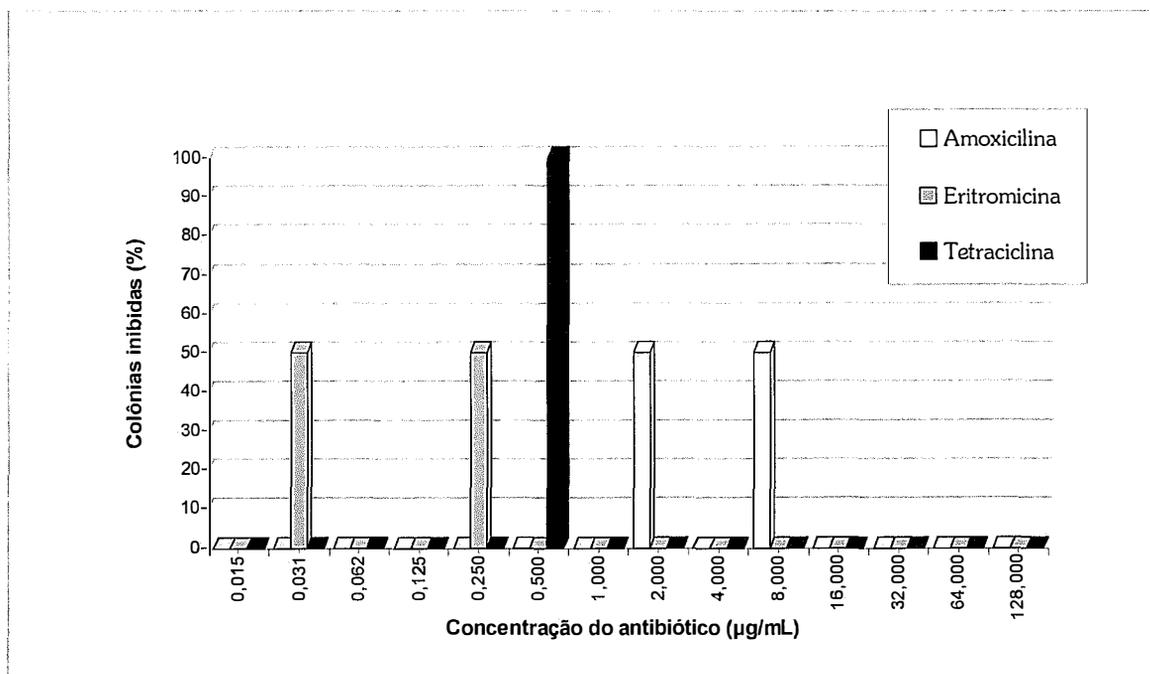


Figura 7b - Percentuais de cepas *Staphylococcus aureus* originárias da placa dental inibidas em cada concentração dos antibióticos testados.

Outra observação importante é a de que se comparados os valores com os da tabela 6, encontram-se diferenças bastante significativas entre as concentrações capazes de inibir a média e as capazes de inibir todas as cepas, o que sugere fortemente um caráter de elevada resistência de algumas cepas. Um bom exemplo disto é o do *Staphylococcus aureus* em relação à eritromicina: algumas cepas resistem à concentrações 9 vezes maiores que a suficiente para inibir a média. Algumas cepas de estreptococos apresentam um comportamento parecido frente à eritromicina, enquanto a amoxicilina aparentemente atua num espectro de concentrações mais definidos.

Tabela 6 - Concentrações inibitórias mínimas para 99,9% do inóculo (CIM₁₀₀).

	Amoxicilina			Eritromicina			Tetraciclina		
	Saliva	Placa	Média	Saliva	Placa	Média	Saliva	Placa	Média
<i>S. oralis</i>	0,250	0,500	0,375	4,000	4,000	4,000	128,000	128,000	128,000
grupo sanguis	0,500	0,500	0,500	8,000	2,000	5,000	128,000	128,000	128,000
<i>S. mutans</i>	0,120	0,120	0,120	0,030	0,030	0,030	64,000	32,000	48,000
<i>S. sobrinus</i>	0,060	0,060	0,060	0,030	0,030	0,030	4,000	2,000	3,000
Estreptococos	0,232	0,295	0,263	3,015	1,515	2,265	81,000	72,500	76,750
<i>S. aureus</i>	8,000	8,000	8,000	128,000	0,250	64,125	64,000	0,500	32,250

Tabela 7 - Médias ponderadas das concentrações inibitórias mínimas para todas as cepas (CIM_m).

	Amoxicilina			Eritromicina			Tetraciclina		
	Saliva	Placa	Média	Saliva	Placa	Média	Saliva	Placa	Média
<i>S. oralis</i>	0,084	0,119	0,102	0,450	0,673	0,561	14,344	23,685	19,015
grupo sanguis	0,310	0,296	0,303	1,242	0,263	0,753	52,154	22,042	37,098
<i>S. mutans</i>	0,065	0,067	0,066	0,030	0,030	0,030	4,985	2,200	3,593
<i>S. sobrinus</i>	0,034	0,040	0,037	0,031	0,029	0,030	1,583	1,500	1,542
Estreptococos	0,123	0,130	0,127	0,438	0,249	0,344	18,267	12,357	15,312
<i>S. aureus</i>	1,800	5,000	3,400	13,618	0,141	6,880	16,362	0,500	8,431

Na tabela 8 pode-se observar a incidência e a prevalência de todos os microrganismos estudados.

O grupo mutans foi o que apresentou maior prevalência, tanto nas amostras obtidas da saliva como da placa dental. O grupo oralis teve uma frequência bastante significativa nas amostras originárias da placa dental e da saliva, enquanto os *Staphylococcus aureus* apesar de freqüentes na saliva, tiveram apenas duas cepas isoladas das amostras originárias da placa dental.

Se observadas as espécies isoladamente, pode-se verificar que os *Streptococcus mutans* foram prevalentes tanto na saliva quanto na placa dental, seguidos pelos *Streptococcus oralis* isolados das amostras de placa dental e dos *Staphylococcus aureus* encontrados nas amostras de saliva. Foram significativos também os números de culturas positivas encontrados para os *S. oralis* da saliva e os *Streptococcus sanguis* provenientes da saliva e da placa dental. De todo o grupo viridans, os *Streptococcus sobrinus* foram os menos isolado, embora frequência de isolamento tenha sido maior que 26%.

Tabela 8 - Números de culturas positivas e negativas dos microrganismos estudados obtidas após a semeadura das amostras originárias da saliva e da placa dental.

	<u>Saliva</u>		<u>Placa Dental</u>	
	Positivas	Negativas	Positivas	Negativas
gr. mutans	35	3	36	2
<i>S. mutans</i>	34	4	35	3
<i>S. sobrinus</i>	12	26	10	28
só <i>S. mutans</i>	23	15	26	12
só <i>S. sobrinus</i>	1	37	1	37
<i>S. mutans</i> + <i>S. sobrinus</i>	11	27	9	29
gr. oralis	27	11	36	2
<i>S. oralis</i>	16	22	31	7
<i>S. sanguis</i>	13	25	12	26
<i>S. sanguis</i> 2	3	35	4	34
<i>S. sanguis</i> 3	7	31	7	31
<i>S. sanguis</i> 4	3	35	1	37
<i>Staphylococcus aureus</i>	29	9	2	36

Pela aplicação do teste de Page (tabelas e cálculos relacionados no apêndice) demonstra-se que os antibióticos podem, segundo esse teste, ser classificados em função de sua capacidade inibitória da seguinte maneira:

Eritromicina: o mais eficaz de todos;

Amoxicilina: mais eficaz que a tetraciclina e menos eficaz que a eritromicina;

Tetraciclina: o menos eficaz.

Esta classificação pode ser aceita sob os seguintes níveis de significância: 0,001 (*Streptococcus oralis* da saliva), 0,003 (*Streptococcus oralis* da placa), 0,001 (*Streptococcus* do grupo sanguis da saliva e da placa), 0,001 (*Streptococcus mutans* da saliva e da placa), 0,001 (*Streptococcus sobrinus* da saliva e da placa), 0,02 (*Staphylococcus aureus* da saliva), 0,05 (*Streptococcus aureus* da placa).

Os resultados foram ainda estimados por meio da transformação das respostas das cepas microbianas em probitos e plotando esses probitos contra os logaritmos das doses dos antibióticos em gráficos (figuras 8 a 12).

Quando transformamos, no entanto, as respostas das cepas microbianas em probitos, verificamos que a distribuição numérica segue um padrão de distribuição normal. Curvas de regressão linear podem ser estimadas plotando estes probitos contra os logaritmos das doses dos antibióticos em gráficos.

As inclinações das retas obtidas da correlação dose-resposta, observadas nas figuras que se seguem, representam a potência dos antibióticos, ou seja, a variação do número de inibições relacionada a uma determinada variação na concentração do antibiótico. Portanto, quanto maior o número de inibições para uma dada variação na concentração, mais potente pode ser considerado o antibiótico. Conseqüentemente, mais vertical é a reta traçada no gráfico.

Podemos então chamar de b o coeficiente de inclinação da reta.

Quanto maior o b , mais vertical é a reta, mais potente o antibiótico.

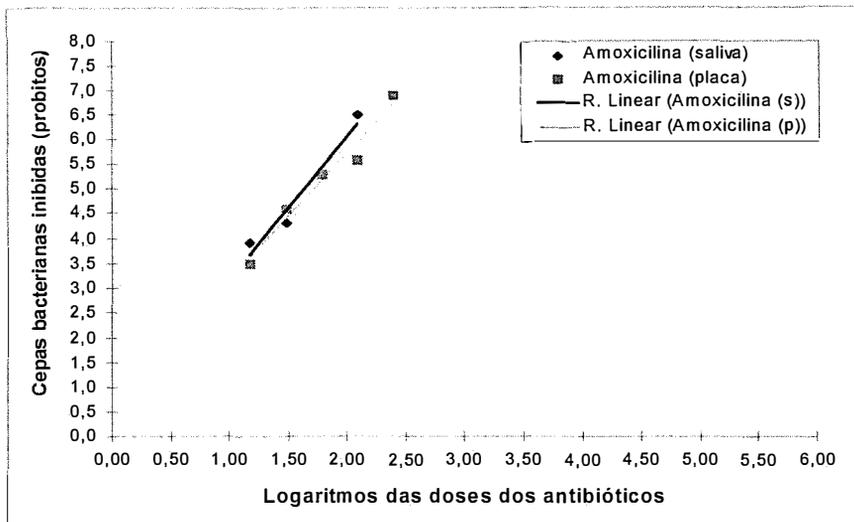
As figuras 8 (a, b, c), 9 (a, b, c), 10 (a, b, c), 11 (a, b, c) e 12 (a, b, c) ilustram as relações dose-resposta. As tabelas contendo os probitos e logaritmos das doses, utilizadas para a confecção dos gráficos podem ser encontradas no apêndice. As doses foram multiplicadas por 1000 para a facilitar os cálculos e a interpretação.

De modo geral, para todos os microrganismos, cujos dados possibilitaram o traçado da reta, verifica-se uma inclinação aproximada entre o material originário da saliva e o da placa dental. Nos testes *Streptococcus mutans* - eritromicina (figura 10b), *Streptococcus sobrinus* - amoxicilina e *Streptococcus sobrinus* - eritromicina (figuras 11a e 11b), não foi possível o traçado das retas para as cepas da saliva e da placa, pois as inibições ocorreram quase na totalidade numa faixa estreita de variação de concentração. Fenômeno semelhante sucedeu com as provas *Streptococcus sobrinus* - tetraciclina, para as cepas originárias da placa (figura 11c).

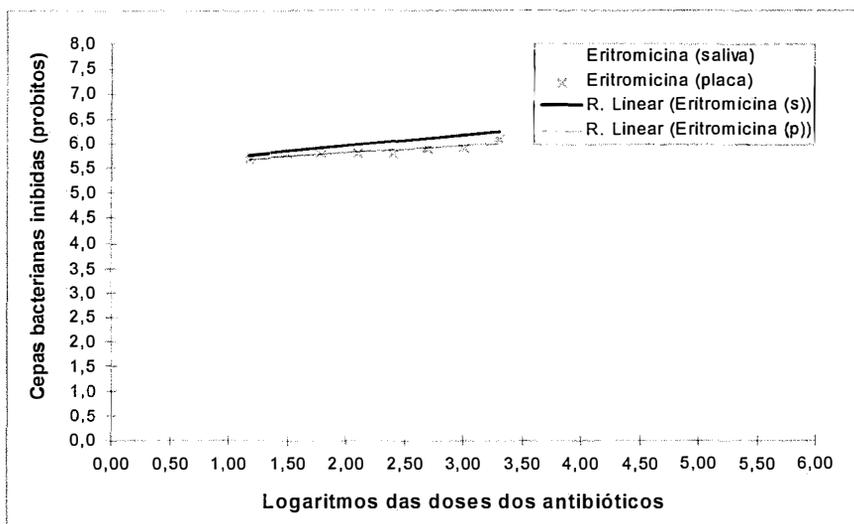
Figuras 8a, 8b e 8c:

Regressões lineares estimadas a partir da correlação entre os números de cepas de *S. oralis* inibidas, plotados como probitos, e os logaritmos de diferentes doses de antibióticos multiplicadas por 1000.

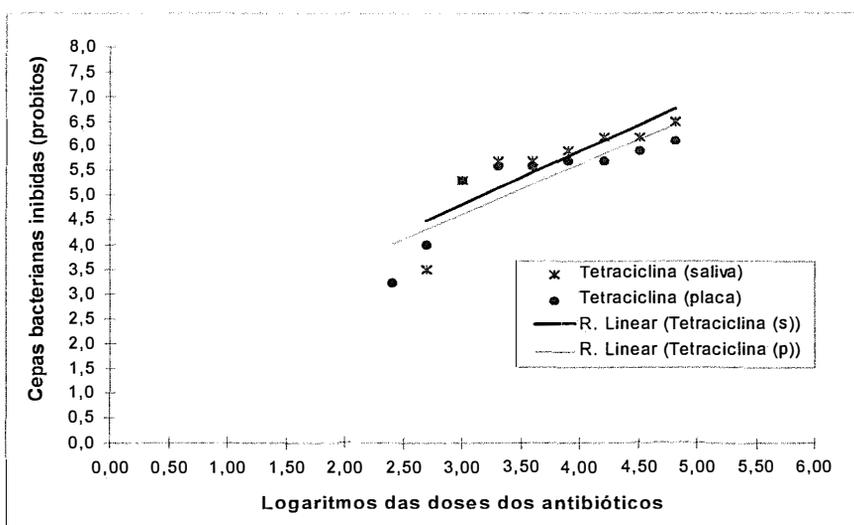
8a



8b



8c



No caso do *Staphylococcus aureus*, o número pequeno de cepas isoladas da placa, foi o que impossibilitou o traçado das retas (figuras 12abc). Vale a pena citar que o número de observações foi também pequeno nos casos *Streptococcus mutans* - amoxicilina (figura 10a) e *Streptococcus sobrinus* - tetraciclina (figura 11c), e, embora nestes casos a reta tenha sido estimada, não representa uma tendência, mas um intervalo desconhecido entre apenas dois pontos, o que oferece pouca confiabilidade às conclusões sobre a inclinação das retas traçadas. Conhecendo apenas os extremos, não se pode saber como seriam as respostas à variações menores de doses de um ponto a outro.

As inclinações das retas estimadas a partir das inibições das cepas de *Streptococcus oralis* com variações nas doses de amoxicilina, estão ilustradas na figura 8a e correspondem a valores de b de 2,9 e 2,6, respectivamente, para a saliva e placa. Para a eritromicina, os coeficientes angulares são iguais, analogamente, a 0,2 e 0,1 (figura 8b), e, para a tetraciclina, 1,1 e 1,0 (figura 8c). Pode-se considerar que, para essa espécie, a amoxicilina foi o antibiótico mais potente, acompanhado da tetraciclina e, finalmente, da eritromicina.

Para os estreptococos do grupo sanguis, as retas seguiram um perfil semelhante, variando mais significativamente apenas nas respostas dos microrganismos da placa dental em relação à saliva para a amoxicilina.

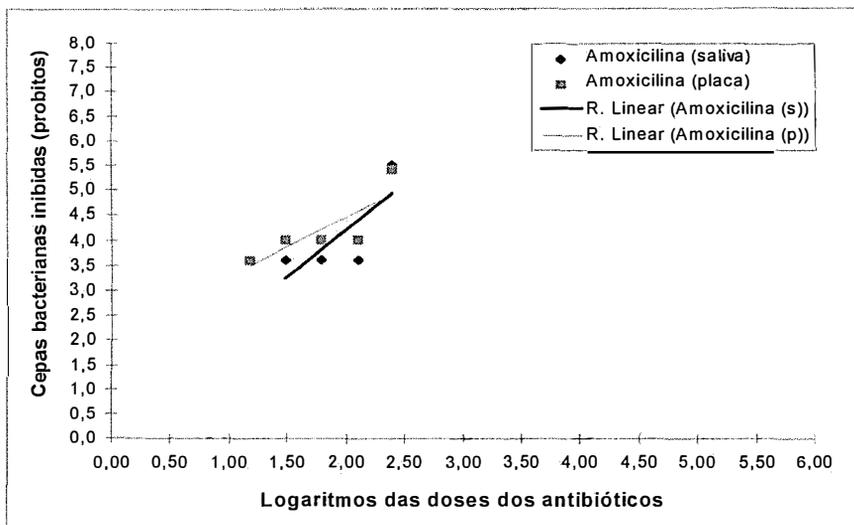
As inclinações para este antibiótico foram de 1,9, para a reta correspondente às bactérias originárias da saliva e de 1,2, para o traçado correspondente aos organismos da placa dental (figura 9a). Seguindo a mesma ordem, os valores para a eritromicina resultaram em 0,2 e 0,1 (figura 9b). A tetraciclina apresentou um b igual a 0,5 para as cepas da saliva, e de 0,8, para as da placa (figura 9c).

Outra vez os antibióticos puderam ser classificados na mesma ordem, com a amoxicilina sendo considerada a mais eficiente e a eritromicina, a menos. A tetraciclina ficou com a posição intermediária.

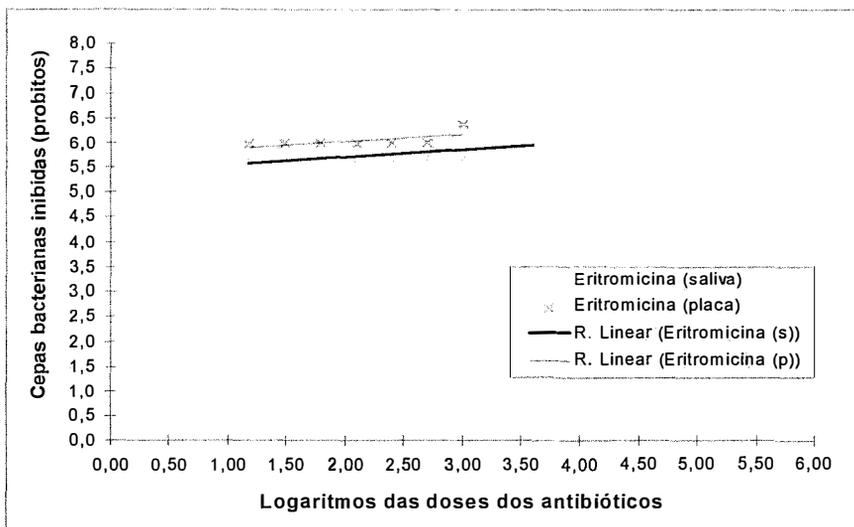
A potência dos antibióticos em relação ao *Streptococcus mutans* e principalmente ao *Streptococcus sobrinus* não puderam ser adequadamente avaliadas (figuras 10ab, 11abc). A razão para este fato se encontra na intensa resposta à estreitas faixas de variação nas concentrações dos antibióticos. O exemplo mais extremo seria o teste *Streptococcus sobrinus* da saliva - eritromicina (figura 11b): com uma concentração de 0,031 μ g/mL, apenas um nível acima do inicial, de 0,015 μ g/mL, 100% das cepas foram inibidas, de uma só vez. Para que a resposta pudesse ser analisada com maior consistência, seria preciso observar o efeito de doses intermediárias. Dentro dos grupos correspondentes às duas espécies, somente puderam ser traçadas as linhas representativas da prova *Streptococcus mutans* - tetraciclina. Para as bactérias presentes na saliva, o b foi de 1,4, enquanto para as da placa dental, de 1,9. Esses índices indicam uma potência similar à da amoxicilina em relação à outras espécies microbianas.

Figuras 9a, 9b e 9c:
Regressões lineares estimadas a partir da correlação entre os números de cepas de estreptococos do grupo sanguis inibidas, plotados como probitos, e os logaritmos de diferentes doses de antibióticos multiplicadas por 1000.

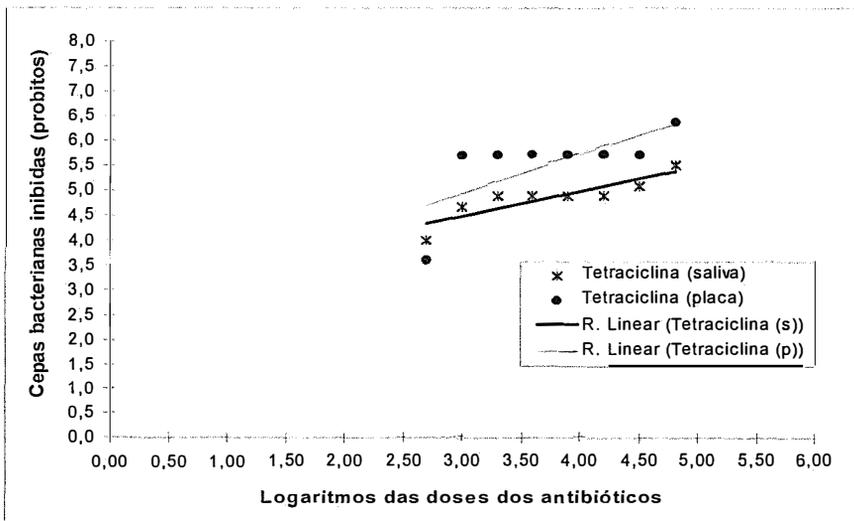
9a



9b



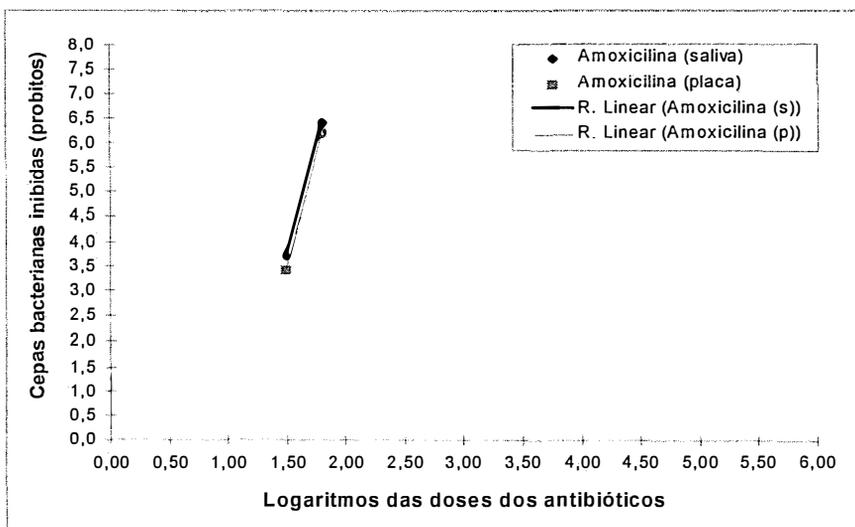
9c



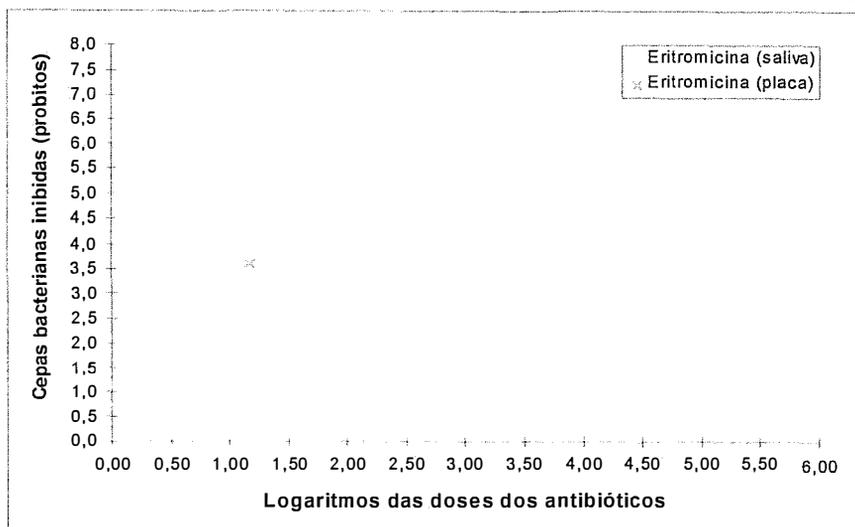
Figuras 10a, 10b e 10c:

Regressões lineares estimadas a partir da correlação entre os números de cepas de *S. mutans* inibidas, plotados como probitos, e os logaritmos de diferentes doses de antibióticos multiplicadas por 1000.

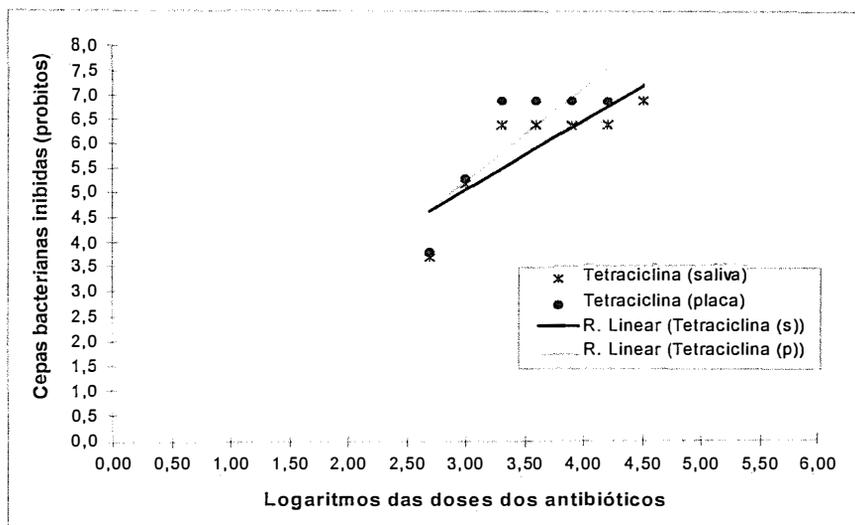
10a



10b



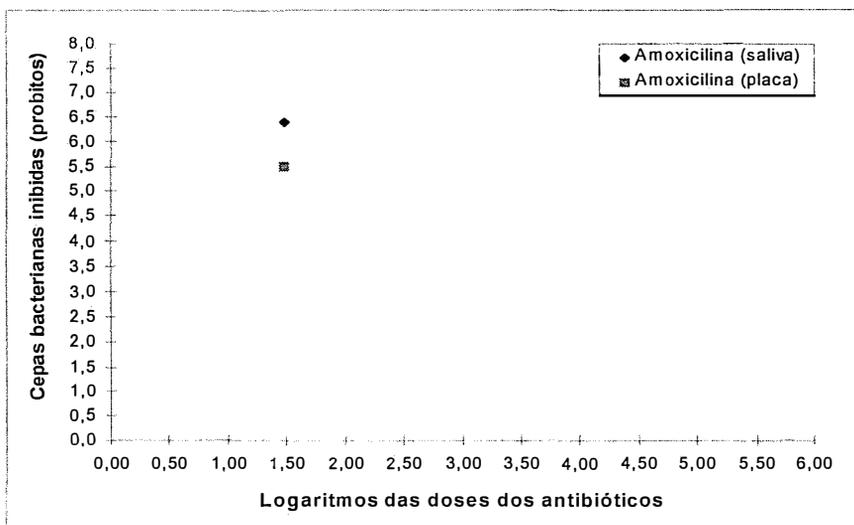
10c



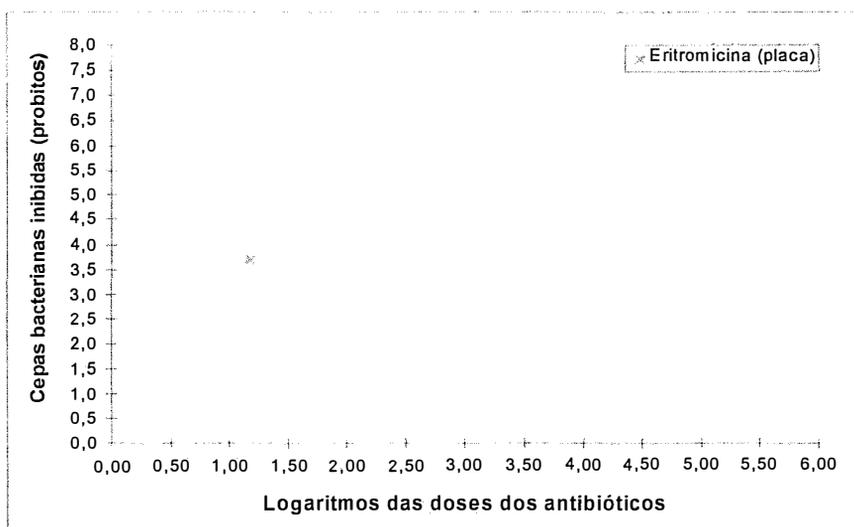
Figuras 11a, 11b e 11c:

Regressões lineares estimadas a partir da correlação entre os números de cepas de *S. sobrinus* inibidas, plotados como probitos, e os logaritmos de diferentes doses de antibióticos multiplicadas por 1000.

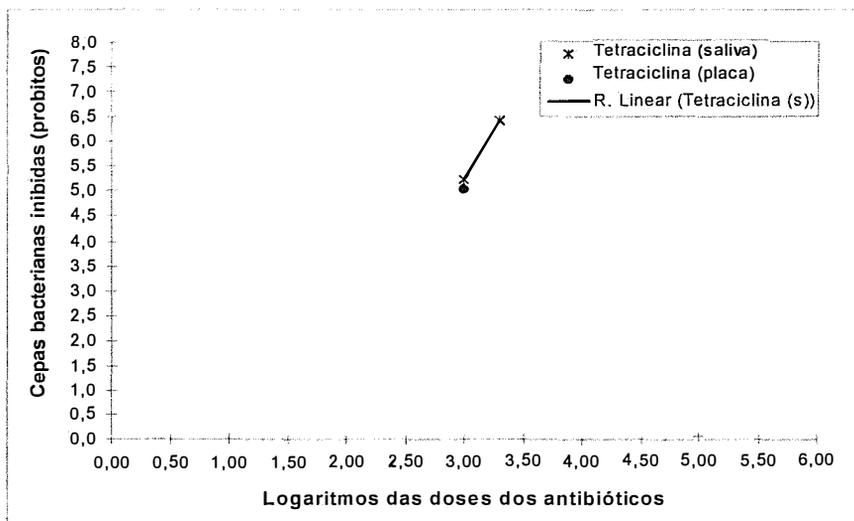
11a



11b



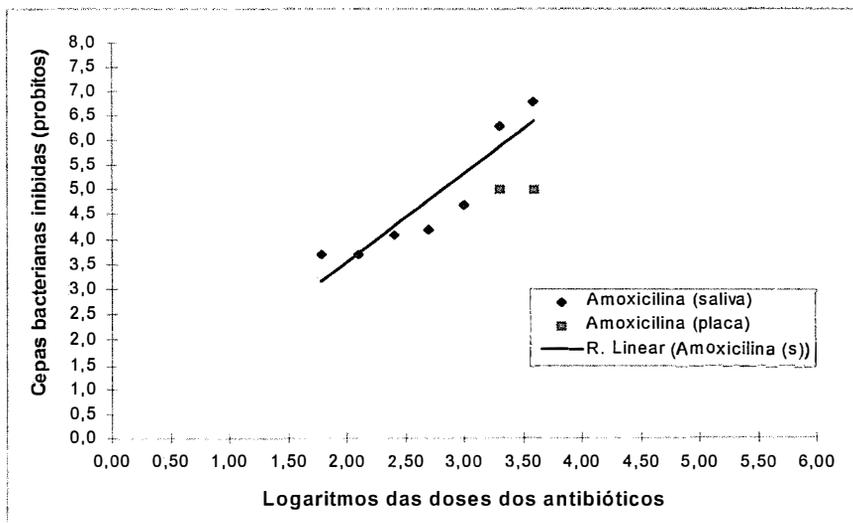
11c



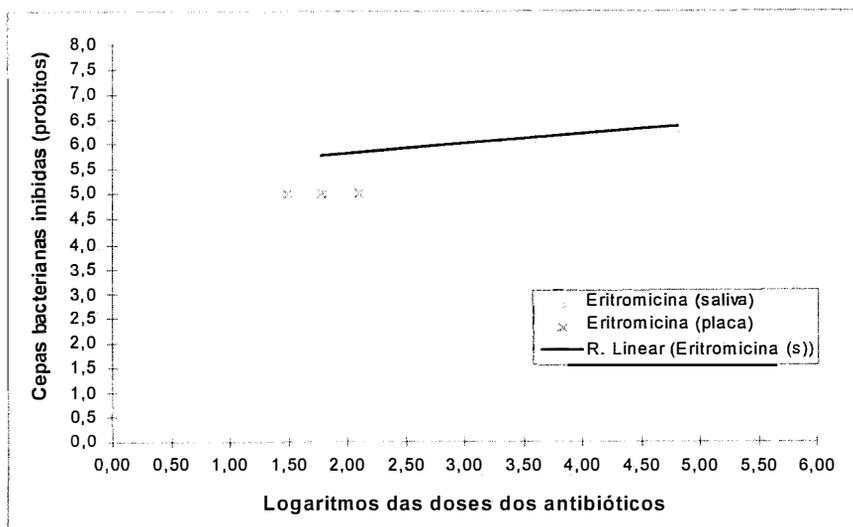
Figuras 12a, 12b e 12c:

Regressões lineares estimadas a partir da correlação entre os números de cepas de *S. aureus* inibidas, plotados como probitos, e os logaritmos de diferentes doses de antibióticos multiplicadas por 1000.

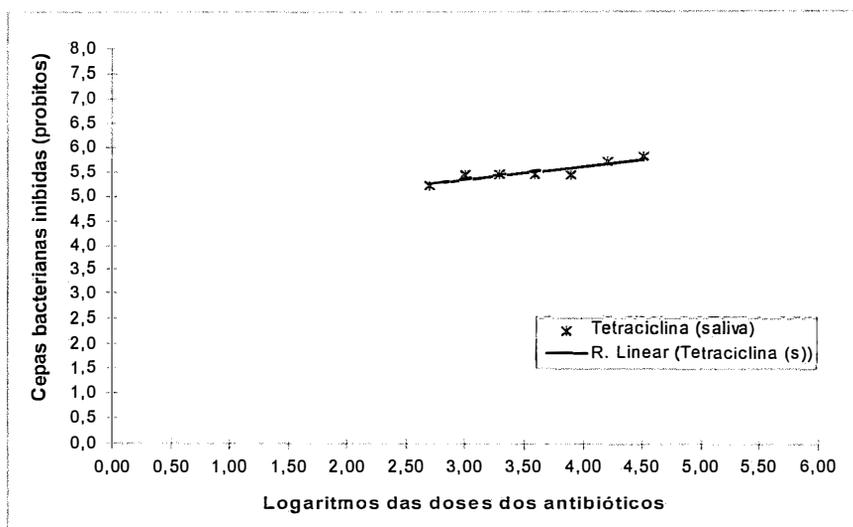
12a



12b



12c



Os resultados descritos para o *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* sugerem um padrão de suscetibilidade à ação dos antibióticos testados, aparentemente maior que o das outras espécies.

Finalmente, os gráficos que representam os experimentos com os *Staphylococcus aureus* provenientes da saliva (figuras 12abc), permitiram calcular um valor de b de 1,8 para a amoxicilina, de 0,3 para a tetraciclina e de 0,2 para a eritromicina, o que posicionou os três, segundo a potência, nessa mesma ordem. O número de apenas duas colônias isoladas da placa dental foi considerado insuficiente para o traçado de uma curva de correlação.

DISCUSSÃO

Os antibióticos têm salvado inúmeras vidas desde sua descoberta. Incontáveis são as aplicações destes fármacos nas ciências biológicas, em especial na área médica e odontológica, meio em que têm sido pesquisados extensivamente e reconhecidos como agentes terapêuticos essenciais, por um grande número de estudiosos. Na Odontologia, seu uso é freqüente, seja no tratamento de infecções orais, seja como agente profilático, contra microrganismos capazes de provocar distúrbios locais ou sistêmicos (GENCO, 1981; BARCO, 1991; HAY et al., 1992). Embora considerados, quase por unanimidade, imprescindíveis às medidas preventivas contra moléstias microbianas na prática odontológica, alguns autores questionaram o procedimento (GUNTHEROTH, 1984; PALLASCH, 1989) considerando as reações anafiláticas e os efeitos colaterais mais deletérios do que os riscos de infecções.

Se de um lado a ciência busca a obtenção de medicamentos cada vez mais efetivos, capazes de combater qualquer tipo de doença infecciosa, de outro, a eficiência dos quimioterápicos já industrializados, e em geral utilizados em larga escala, vem sendo superada pela competência genético-bioquímica dos patógenos, que desenvolvem continuamente mecanismos de defesa contra o arsenal terapêutico ora empregado (MOTTI & AMATO NETO, 1992).

O método de identificação das cepas microbianas orais resistentes aos antibióticos mais utilizados pelo cirurgião-dentista, embora simples na sua execução, seguiu neste trabalho critérios de padronização considerados fundamentais para a viabilização de análises comparativas. Esta padronização parece importante na identificação de drogas mais eficientes para a determinação de esquemas de tratamento e de espécies bacterianas refratárias às terapêuticas antimicrobianas rotineiras.

Segundo MONTELLI (1988), o conhecimento dos padrões atuais de resistência das bactérias envolvidas em infecções de um determinado centro de tratamento médico ou odontológico, possibilita ao terapeuta uma escolha mais segura do medicamento, mesmo quando ainda não dispõe do antibiograma desejado, e propicia a monitoração da variação de sensibilidade dos microrganismos à drogas de uso mais antigo ou mais recente. Permite ademais o estabelecimento racional do rodízio de drogas nos estabelecimentos ambulatoriais. Os dados referentes às medidas de sensibilidade aos antibióticos obtidos nos laboratórios de análise podem servir para a comparação com dados de outros laboratórios, o que contribui no controle de qualidade das drogas e dos métodos de mensuração. Além disso, as informações sobre as infecções bacterianas de determinada região geográfica podem contribuir para um melhor equacionamento de medidas saneadoras.

Desde que o ciclo de vida bacteriano é relativamente curto e as gerações se multiplicam rapidamente, aumentam as chances de surgirem novas recom-

binações genéticas que transmitam um caráter de alguma forma impediendo a ação precípua do antibiótico. FREITAS (1991), salienta que as bases genéticas da patogenicidade de um microrganismo somente podem ser expressas, completamente, durante seu crescimento *in vivo*, mas a experiência mostra que os resultados obtidos com sistemas *in vitro* têm sido de grande valia para o entendimento dos fenômenos que ocorrem *in vivo*. O aumento da virulência microbiana, por meio de passagens sucessivas em animais, e a sua perda, através de culturas laboratoriais, são bem conhecidos (BROWN & WILLIAMS, 1985). As bactérias, assim como outros microrganismos, estão em interações constantes com o meio em que crescem e do qual dependem, dentre outras funções orgânicas, para a composição química da parede ou membrana celular (TAGG & RAGLAND, 1991). Esta composição determina o comportamento bacteriano frente ao hospedeiro e seus mecanismos imunológicos e aos medicamentos antimicrobianos, como os antibióticos. A capacidade de uma bactéria de apresentar certas adaptações diante de modificações químicas decorrentes do meio de crescimento, relacionada especialmente com os aspectos estruturais do seu envoltório, é conhecida como plasticidade fenotípica (WILLIAMS, 1988). Por possuírem tal plasticidade, as bactérias podem variar a resposta aos agentes físicos, químicos ou biológicos, tanto *in vitro* como *in vivo*. A reativação de um gene previamente reprimido para a produção de beta-lactamase, em virtude da presença de um indutor, no caso um antibiótico beta-lactâmico, é um exemplo clássico dessa capacidade adaptativa, a qual ocorre principalmente entre os bacilos gram-negativos e é chamada de “derepressão enzimática” (BERMUDEZ et al., 1985).

Observando os graus de sensibilidade de uma mesma espécie bacteriana em relação aos três antibióticos testados, verifica-se uma flutuação significativa na dose inibitória, indicação clara de que a presença de uma determinada substância química no meio de cultura é realmente capaz de influenciar mais ou menos expressivamente a viabilidade do microrganismo. Por outro lado, cepas diferentes de uma mesma espécie exibiram habilidades distintas de suportar concentrações maiores de cada antibiótico, indicação de um caráter genético próprio, que tanto pode ter surgido durante o crescimento no meio que continha o medicamento, como ter sido resultado de sua evolução fenotípica durante as gerações anteriores *in vivo*. Este caráter pode ter sido mantido através das gerações como uma herança genética.

Existem diversos outros mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos já observados e descritos na literatura. KINDER et al. (1986) consideraram a produção da penicilinase beta-lactamase um fator importante de resistência microbiana à penicilina, observando uma proporção entre a exposição à droga e a diminuição da sensibilidade. NORD et al. (1988) e RODRIGUEZ-NORIEGA et al. (1988) além de salientarem a importância da beta-lactamase dentre os mecanismos de defesa dos microrganismos, observaram a capacidade de bloquear a penetração do fármaco através das membranas celulares e de modificar a interação penicili-

na-proteína como outros fatores de resistência. HELOVUO et al. (1991) relataram uma alta frequência de isolamento de bactérias produtoras de penicilinas, especialmente entre os estafilococos coagulase-negativa e os bacilos entéricos. Os plasmídios têm sido apontados como os fatores de resistência mais comumente encontrados em bactérias gram-negativas, embora possam ocorrer também em algumas espécies gram-positivas. Estas pequenas moléculas de DNA foram estudadas por GOLDSTEIN & MACRINA (1977) e é possível que sejam semelhantes ou idênticas às estudadas mais tarde por ROBERTS & MONCLA (1988), que denominaram TetM as pequenas seqüências específicas de moléculas de DNA, isoladas de cepas anaeróbias resistentes à tetraciclina. As formas conhecidas de transmissão dessas moléculas entre bactérias da mesma espécie, ou até mesmo entre espécies distintas são: transformação, transdução e conjugação (GALE et al., 1981). Outros caracteres são mais raros, como o fator intrínseco EF-Tu, presente apenas nos *E. faecalis* (MIELE et al., 1994) e extremamente conservado entre as eubactérias (LUDWIG et al., 1990) e os presentes nos *Streptococcus defectivus*, um estreptococo nutricionalmente deficiente, resistente à terapêutica antimicrobiana. Finalmente, a literatura apresenta mecanismos de resistência mais recentemente reconhecidos, como as proteínas ligadoras de penicilinas (PLP), produção de enzimas cloranfenicol-acetil-transferases inativadoras do cloranfenicol e fosfo-transferases, adenil-transferases e acetil-transferases, inibidoras dos aminoglicosídios e promotoras de alterações na permeabilidade da parede e da membrana celular e dos respectivos sítios de interação com antibióticos. Pode ocorrer ainda a modificação de sítios de ação da droga, como os RNA e proteínas ribossomais, DNA-girases, RNA-polimerases; o aumento na produção de metabólitos ou a mudança na via metabólica, quando o medicamento atua competindo com algum metabólito, e o fenômeno da tolerância microbiana, até então não muito bem compreendido, que possibilita aos microrganismos sobreviverem à altas doses de antibióticos, apesar de inibidos (FREITAS, 1991).

Vale afirmar novamente as diferenças observadas no comportamento microbiano, especialmente entre as faixas mais extremas de concentração dos medicamentos para algumas espécies em particular. Das 29 cepas de *Staphylococcus aureus* encontradas nas amostras de saliva, 23 foram inibidas com o uso de eritromicina numa concentração de 0,062µg/mL, mas dentre aquelas ainda ativas, 3 somente foram inibidas com uma concentração de 128,000µg/mL, ou seja, foi necessária uma quantidade 2064 vezes maior do antibiótico para obter a inibição das 3 mais resistentes e, conseqüentemente, de todas as cepas encontradas. Os 4 últimos *Streptococcus oralis* originários da placa dental dos indivíduos estudados foram inibidos apenas após o acréscimo de uma dose 512 vezes maior de tetraciclina que a utilizada para inibir a primeira cepa. Os valores variaram de 0,250µg/mL a 128,000µg/mL.

Se essas diferenças são significativas *in vitro*, possivelmente ainda mais o serão *in vivo*, porque é fato comprovado a variação na concentração dos

antibióticos que atingem os sítios de ação no organismo humano (MANDELL et al., 1991). Além das barreiras naturais, como o meio ácido do estômago ou a microbiota intestinal, nas administrações orais ou anais, as interações químicas com os fluidos tissulares ou plasma sanguíneo e líquido cefalorraquidiano, há a possibilidade de interações medicamentosas com outros fármacos ou alimentos ingeridos durante a fase terapêutica.

Cada vez mais se considera influente na ação do medicamento, o estado de saúde ou morbidez em que se encontra o paciente, a potencialidade dos seus recursos imunológicos e as condições dos tecidos lesados. Um microrganismo provavelmente sucumbirá mais facilmente se tanto a droga quanto os mecanismos de defesa do hospedeiro concorrerem para sua falência, do que se estiver apenas sob a agressão do fármaco. DUFFIN et al. (1992) e FURINI et al. (1993) evidenciaram a relação entre as lesões teciduais cardíacas e o estabelecimento de processos infecciosos locais, comprovando os modelos experimentais de GLAUSER et al. (1983), que obtiveram sucesso no tratamento dessas patologias, não pela inibição direta do microrganismo, mas de sua capacidade de adesão aos tecidos.

Em favor destas considerações está também o trabalho de MGHIR et al. (1994), que alcançaram uma potencialização significativa na eficácia da temafloxacina, aplicada no tratamento de endocardites experimentais em coelhos, com a remoção do envoltório de polissacarídeos presentes nas vegetações do endocárdio. Esta remoção pode ser obtida com o uso de enzimas coadjuvantes ao tratamento, como as dextranases, permitindo que o medicamento atinja o sítio de ação nas estruturas celulares bacterianas.

As capacidades de adesão e de infiltração microbiana através dos tecidos, se analisadas por um determinado prisma, funcionam como um escudo, protegendo o microrganismo da ação dos antibióticos. Parecem estar associadas à virulência, e interferir de certo modo no resultado do tratamento. São habilidades que conferem maior sobrevivência à bactéria, o que talvez possa ser traduzido como uma forma de resistência. Contudo, deve ser lembrado que as influências exercidas pelo hospedeiro sobre as reações entre antibióticos e bactérias somente podem ser percebidas nos testes *in vivo*. No entanto, de acordo com BAZERQUE (1978), a resistência depende tanto da droga como do microrganismo, mas não do enfermo.

Um aspecto extremamente relevante na interpretação das pesquisas bacteriológicas diz respeito à identificação e à classificação dos microrganismos que estão sendo estudados.

Se observadas as espécies bacterianas em conjunto, ao invés organismos isolados, torna-se imediatamente aparente o fato de as espécies bacterianas não eram todas intrinsecamente sensíveis a todos os antibióticos. Algumas são ine-

rentemente resistentes a algumas drogas. GREENWOOD (1989), defende esta asserção e demonstra a predominância de espécies gram-negativas resistentes aos agentes antibacterianos mais comumente usados, em relação às espécies gram-positivas e outros microrganismos. GOLDSTEIN & MACRINA (1977), WILLIAMS et al. (1979), KINDER et al. (1986), BANSAL et al. (1990), FIEHN & WESTERGAARD (1990) destacaram também a importância dos gram-negativos dentre as espécies resistentes estudadas. Inversamente, SUTTER & FINEGOLD (1976) observaram a ineficiência do metronidazol contra gram-positivos, e SKLAVOUNOS et al. (1986) bem como LARSEN (1991), encontraram grande prevalência de gram-positivos em pacientes com processos orofaciais e periodontais, tratados previamente com antibióticos. KONEMAN et al. (1993) explicam que as bactérias gram-positivas possuem a parede celular, uma estrutura robusta, mais resistentes aos efeitos da dessecação, do calor, da luz solar e da ação de substâncias químicas que as bactérias gram-negativas não têm. Apesar disso, são mais sensíveis a alguns antibióticos específicos, que agem inibindo a síntese da parede celular, como as penicilinas e cefalosporinas.

Embora as bactérias gram-negativas aparentemente demonstrem maior tendência ao desenvolvimento de formas resistentes, o fenômeno é fundamentalmente dependente das interações químicas entre antibiótico e bactéria. Isto significa que, para cada grupo de medicamentos, há um número variável de espécies gram-positivas e gram-negativas sensíveis ou resistentes.

A relevante participação dos estreptococos do grupo viridans nos casos de endocardite bacteriana (GLEISER, 1982; LEVINER et al., 1984; BARREIRO & SCASSO, 1989; HEIMDAHL et al., 1990; AMERICAN HEART ASSOCIATION, 1991; TERPENNING et al., 1994), o envolvimento cada vez mais freqüente dos *Staphylococcus aureus* nesse e em outros processos infecciosos hospitalares letais (NASCIMENTO et al., 1988; LEME et al., 1989; KNOX & HUNTER, 1991; MANSUR et al., 1992; FANG et al., 1993; OWEN, 1994), e o fato de a cavidade oral, o campo de trabalho dos cirurgiões-dentistas, se encontrar naturalmente repleta desses microrganismos, foram os principais motivos que nortearam estas investigações. Para estudar consistentemente as ações recíprocas entre cada um dos três antibióticos mais utilizados na rotina clínica e as espécies bacterianas selecionadas para o estudo, foi imperativo o reconhecimento preciso de cada cepa presente no material coletado.

KILLIAN et al. (1989) evidenciaram a importância do reconhecimento exato das espécies microbianas, em especial as do grupo viridans, refratário a uma classificação satisfatória, lembrando que pelo menos até aquela data ainda não havia um consenso internacional sobre sua nomenclatura.

Conseqüentemente, muitos sinônimos são aplicados aos mesmos organismos. Para agravar o problema, várias espécies são geneticamente heterogêneas e há falta de traços fenotípicos para a distinção. A Lista Aprovada de Nomes

Bacterianos, publicada em 1980 (SHERMAN et al., 1980), incluiu além de algumas espécies do grupo mutans, as seguintes seis espécies de estreptococos normalmente encontradas na cavidade oral: *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus constellatus* e *Streptococcus intermedius*. Subseqüentemente, demonstrou-se que os últimos dois nomes, juntamente com o nome "*Streptococcus milleri*", utilizado particularmente por laboratórios europeus, são sinônimos recentes do *S. anginosus*. O nome "*Streptococcus mitior*" é outro que tem sido freqüentemente confundido com "*S. sanguis* II", ou "*S. sanguis* I:A", ou "*S. sanguis* biótipo B", ou ainda "*S. sanguis* sorotipo II", enquanto alguns autores têm considerado o *S. mitis* sinônimo de "*S. mitior*", nome não incluído na Lista Aprovada e portanto sem identidade formal. Já os estreptococos do grupo mutans e os *S. salivarius* compreendem um grupo mais homogêneo, com características bem definidas.

Os estreptococos estão atualmente subdivididos em quatro grupos: mutans, salivarius, milleri, oralis. O grupo mutans compreende as espécies: *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. cricetus*, *S. rattus*, *S. ferus*, *S. macacae*, *S. downei*. O grupo salivarius: *S. salivarius*, *S. vestibularis*. O grupo milleri: *S. constellatus*, *S. intermedius*, *S. anginosus*. Finalmente, o grupo oralis é composto por: *S. sanguis*, *S. gordonii*, *S. parasanguis*, *S. oralis*, *S. mitis* e *S. crista* (MARSH & MARTIN, 1992).

O aspecto taxonômico torna-se nitidamente importante quando a causa de uma determinada doença é atribuída a um agente etiológico e, na verdade, a patologia é provocada por outro. DOUGLAS et al. (1993) ilustram bem o problema em relação à endocardite bacteriana. De acordo com as novas diretrizes taxonômicas, cepas designadas como "*mitior* dextrano-positivo", deveriam ser denominadas *S. oralis*. Mesmo algumas cepas "*S. mitior*" dextrano-negativas, deveriam ainda ser chamadas de *S. oralis*, porque foi reportado um índice de 22% de *S. oralis*, não produtores de dextrano (KILLIAN et al., 1989).

Como o *S. sanguis*, o *S. oralis* e, possivelmente, o *S. gordonii*, têm sido descritos como os agentes etiológicos mais freqüentemente isolados nos casos de endocardite, pode-se presumir que apresentem características patogênicas especiais. Sabe-se que os três produzem dextrano extracelular a partir da sacarose e há evidências sugestivas de que o dextrano promove a adesão de bactérias a trombos no endocárdio de coelhos, em modelos experimentais de endocardite (BADDOUR et al., 1989). Algumas cepas de *S. sanguis* parecem ser capazes de agregar plaquetas humanas *in vitro* mais eficientemente que outras (DOUGLAS et al., 1990). Certas cepas desta mesma espécie (MANNING et al., 1994), assim como cepas de *S. gordonii* (LOWRANCE et al., 1988) apresentam além da capacidade de agregar plaquetas humanas e de ratos, a habilidade de aderir à fibronectina e fibrinogênio, iniciando a formação de coágulos, consideração importante na patogenia da endocardite.

DOUGLAS et al. (1993) acrescentam que as atividades glicolíticas observadas na espécie *S. oralis*, de modo semelhante ao que ocorre com o *S. sanguis* biótipos 2 e 3 (BEIGHTON et al., 1991), podem favorecer o desenvolvimento de cepas no plasma ou em vegetações trombóticas, o que não ocorre com outros estreptococos orais.

Contudo, BEIGHTON et al. (1994) estudando pacientes oncológicos neutropênicos, concluíram que os estreptococos mais eficientes na obtenção de nutrientes derivados de glicoproteínas do hospedeiro são, depois dos *S. oralis*, os *S. mitis*.

Os *S. mutans* são também, segundo BAYLISS et al. (1983), responsáveis por uma grande parcela dos casos de endocardite. Juntamente com *S. sanguis*, *S. milleri*, enterococos e, especialmente, *S. bovis* provocam mais de 63% das endocardites. Os *Staphylococcus aureus*, por sua vez, são apontados isoladamente como os causadores de quase 19% dos casos de endocardite, principalmente das formas agudas, que levam o paciente à morte.

Julgando fundamentadas estas investigações, procurou-se seguir os esquemas de identificação e classificação para as cepas oriundas das amostras de saliva e de placa dental, propostos por SHKLAIR & KEENE (1976), KILLIAN et al. (1989), DOUGLAS et al. (1993) e BEIGHTON et al. (1994).

Quanto aos *Staphylococcus aureus*, não houve dificuldades relativas à identificação. O tamanho relativamente grande das colônias, atingindo além de 1mm após 48 horas de incubação a 37°C, caracteriza o aspecto macroscópico, e a cultura das cepas no meio seletivo Ni não deixa dúvidas quanto à identidade da espécie (ITO et al., 1969). Os *S. aureus* produzem um halo bem nítido no ágar Ni, o que demonstra a ação da enzima lecitinase.

Os estreptococos compreendem uma ampla proporção da microbiota oral residente, em média 28% do total dos organismos da placa dental supragengival, 29% do sulco gengival, 45% da língua, 46% da saliva e 52% da mucosa palatina, sendo que dentre as espécies que compõem o grupo, algumas, são potencialmente patogênicas oportunistas. De forma contrária, os estafilococos não costumam ser isolados em grande número da cavidade oral, embora alguns constituintes deste grupo possam ser encontrados em amostras de placa dental, próteses, em certas doenças periodontais e em indivíduos com problemas imunológicos. Estas bactérias, em geral, não são consideradas membros da microbiota oral residente, mas podem aparecer transitoriamente. Em contraste, são comumente encontradas em superfícies do corpo humano próximas à boca, como mucosa labial, pele e mucosa nasal (MARSH & MARTIN, 1992).

Esses dados estão de acordo com nossos achados (tabela 8) que demonstram uma alta frequência de isolamento dos estreptococos e talvez possam explicar a ampla diferença encontrada entre as amostras de saliva e de placa dental,

no que se refere ao número de cepas de *S. aureus* isoladas. Foram encontradas 29 cepas nas amostras de saliva e apenas 2 cepas nas de placa dental coletadas dos 38 indivíduos. É possível que na coleta de saliva, as bactérias tenham sido carreadas dos lábios para dentro dos tubos de ensaio, pois observou-se muitas vezes o contato dos lábios com a borda do tubo, na tentativa de depositar o material, sem que este vertesse pela parede externa do recipiente. De qualquer modo, parece possível que essas mesmas cepas pudessem penetrar na cavidade oral, mesmo que temporariamente, durante um ato cotidiano, como o de levar o alimento à boca ou esfregar a língua sobre os lábios. No trabalho de SALVADOR (1981), observa-se que 74,2% das amostras de saliva colhidas de um grupo de alunos universitários, por deposição em tubos de ensaio, apresentaram cepas de *S. aureus*, enquanto em amostras colhidas da orofaringe e fossas nasais por meio de zaragatoas, a incidência de *S. aureus* foi, respectivamente, de 52,2% e 39,0%.

Uma outra possível explicação para a baixa incidência de *S. aureus* encontrada na placa dental, reside no fato de que essa espécie não é considerada parte freqüente da microbiota comensal normal (MacFARLANE & SAMARANAYAKE, 1989), mas sim associada a processos patológicos da cavidade oral (SKLAVOUNOS et al., 1986). Além disso, os estreptococos do grupo que constitui primordialmente a placa dentária, ou biofilme, são produtores de bacteriocinas capazes de inibir o *S. aureus*. As duas cepas isoladas das amostras de placa poderiam ser as únicas resistentes à essas bacteriocinas. Ainda pode ser considerado o fato de que as cepas do grupo mutans multiplicam-se em pH ácido, aquém de 5,5, enquanto as de *S. aureus*, embora acidogênicas, não são acidúricas.

Um dos aspectos extensivamente discutidos em função dos riscos de endocardite infecciosa é a incidência e intensidade das bacteriemias (FANG et al., 1993; WATANAKUNAKORN & PANTELAKIS, 1993).

Diversos são os estudos que relacionam os episódios de bacteriemia e endocardite microbiana com intervenções clínicas na cavidade oral (AMERICAN HEART ASSOCIATION, 1991; TERPENNING et al., 1994; FERNANDES, 1994; SENTILHES & BERNARD, 1993). Esses pesquisadores chegaram a considerar de origem dentária um quarto das bacteriemias que resultaram em quadros de endocardite.

Realmente, a possibilidade de que microrganismos da cavidade oral atinjam a corrente circulatória parece existir. SILVER et al. (1979) demonstraram que o simples ato de escovação dos dentes pode provocar um aumento no isolamento de bactérias em amostras de sangue, coletadas durante e logo após o procedimento. Até mesmo no ato fisiológico da mastigação é provável que alguns microrganismos penetrem nos vasos sanguíneos (COBE, 1954). À diversas interven-

ções clínicas, principalmente as praticadas pelos cirurgiões-dentistas, foram atribuídas as ocorrências de bacteriemias, como: raspagem periodontal (BALCH et al., 1988); irrigação do sulco gengival (YAMALIK et al., 1992); extrações simples (HALL et al., 1993); tratamento endodôntico e cirurgia do terceiro molar (HEIMDAHL et al., 1990); remoção de suturas (GIGLIO et al., 1992); tratamento ortodôntico (HOBSON & CLARK, 1993) e outras, mas muitos desses trabalhos questionaram a potencialidade que essas bacteriemias teriam de provocar a doença.

SILVER et al. (1979) ponderam as chances de contaminação das amostras de sangue por bactérias da pele durante a punção. Além disso, o método de isolamento também é capaz de influenciar sensivelmente o número de organismos relacionados a cada procedimento (HEIMDAHL et al., 1990), pois células fagocitárias e substâncias antimicrobianas presentes no sangue podem evitar ou prejudicar o crescimento de algumas espécies. Os autores recomendam o método da filtração lítica para evitar estes problemas e observam que obtiveram um sucesso muito maior no isolamento de organismos do grupo viridans com técnicas de cultivo anaeróbio.

Talvez de forma análoga ao que ocorre com o sangue, o método de isolamento dos microrganismos orais possa estar sujeito à flutuações. Deve ser lembrado que na cavidade oral existem linhas de defesa celulares e substâncias salivares antimicrobianas. O emprego de diluições sucessivas do material coletado parece não ter apresentado inconvenientes no isolamento das espécies selecionadas para o estudo, permitindo a identificação de um número elevado de colônias. A microaerobiose pareceu mais apropriada, uma vez que todos os microrganismos estudados são considerados anaeróbios facultativos (BIER, 1985), e desta forma conseguiu-se evitar o crescimento tanto dos aeróbios como dos anaeróbios estritos. Para o *S. aureus*, no entanto, o oxigênio pareceu favorecer o crescimento das colônias o que levou à opção pelo método aeróbio de cultura.

Embora haja uma tendência explícita no meio médico em relacionar os casos de endocardite bacteriana às bacteriemias decorrentes de procedimentos operatórios odontológicos, diversos pesquisadores têm discordado radicalmente desta idéia. GUNTHEROTH (1984), aponta trabalhos demonstrando que num grupo de 1322 pacientes, a endocardite se desenvolveu em 96% dos casos, sem nenhuma relação com tratamentos dentários. Calcula ainda que se reconhecidamente a frequência de hemoculturas positivas é de 38% após a mastigação, 25% após a escovação e 11% na presença de algum processo infeccioso oral, no período de um mês, um indivíduo com problemas dentários culminando com uma extração, estaria exposto cumulativamente a 5376 minutos de bacteriemia, apenas 6 dos quais atribuídos à extração do dente. As chances, portanto, de uma endocardite se desenvolver a partir da extração de um elemento dental em relação à contaminações "fisiológicas" seriam de 1:1000. Além disso, hemoculturas de pacientes com endocardite avançada, antes da era dos antibióticos, apresentavam em torno de 700 colônias por mililitro, enquanto após uma extração sabe-se que o número fica em

torno de 10 colônias por mililitro. VIEIRA & MODESTO (1994) são acordes com este ponto de vista, e acrescentam que inúmeras desarmonias sistêmicas, não relacionadas à cavidade oral, devem ser consideradas fontes potenciais de endocardites.

É interessante atentar para o fato de que a introdução de um microrganismo diretamente na corrente circulatória, durante um ato fisiológico como o da mastigação, parece improvável uma vez que os organismos considerados agentes etiológicos nas endocardites não possuem motilidade e o fluxo sanguíneo é de dentro para fora, no caso do rompimento de um vaso, com um gradiente considerável de pressão (BENNETT & BEESON, 1954). Uma via mais provável de entrada seria a linfática (BARNES & TRUETA, 1941), que não permitiria picos tão abruptos de microrganismos na corrente sanguínea, como os necessários para produzir endocardites. Nos modelos experimentais em coelhos, o número de colônias necessário para provocar a doença pode chegar a 10^8 por mililitro (DURACK, 1975).

Há trabalhos que apontam ampla variedade de procedimentos médicos, potencialmente capazes de produzir bacteriemias (EVERETT & HIRSCHMANN, 1977). O descaso ou desconhecimento dos riscos latentes das bacteriemias leva freqüentemente profissionais da área da saúde a negligenciarem os cuidados preventivos (SENTILHES & BERNARD, 1993).

Um outro aspecto a ser ponderado quanto às chances de endocardites, são os fatores de risco apresentados pelos pacientes (TAN & GILL, 1992; DUFFIN et al., 1992), cada vez mais comuns, devido principalmente à evolução nas técnicas cirúrgicas do coração e colocação de próteses cardíacas (HURST et al., 1990).

O ambiente hospitalar tem se revelado propenso a riscos de infecções graves (NASCIMENTO et al., 1988; LEME et al., 1989). O uso persistente de antibióticos nesses meios favorece a seleção de cepas bacterianas resistentes (MANSUR et al., 1992), sujeitas à transmissão entre pacientes e profissionais da saúde, inclusive cirurgiões-dentistas, quando não são tomados cuidados adequados de anti-sepsia e controle de infecção (MARTIN & HARDY, 1991). Com o advento da AIDS, da alta incidência de hepatite B e outras possibilidades de contaminações cruzadas nos consultórios dentários, tem-se dado ênfase aos métodos de controle de infecção, com a adoção de protocolos cada vez mais exigentes (FERREIRA, 1995).

Essas considerações estabelecem a premissa de que, embora de magnitude e importância discutíveis, atos operatórios odontológicos podem induzir bacteriemia, fenômeno ominoso, considerado o primeiro de uma série de eventos a exibir potencial patogênico. A princípio qualquer doença infecciosa poderia se desenvolver a partir de uma bacteriemia, sob a dependência óbvia de uma série de condições. Mas, uma vez patente a possibilidade, surge uma outra questão: a ne-

cessidade ou não de se impedir ou controlar a presença dos microrganismos que invadem o sistema circulatório.

Muitos autores recomendam enfaticamente a profilaxia antimicrobiana, especialmente quando há algum risco de endocardite (ÁVILA-CAMPOS et al., 1988; ROBBINS et al., 1991; WAHL & WAHL, 1993; GONÇALVES & ROZENBAUM, 1994), sendo a principal fonte de protocolos para regimes profiláticos nos últimos tempos as recomendações propostas pela AMERICAN HEART ASSOCIATION (AMERICAN HEART ASSOCIATION, 1991).

Suas decisões, no entanto, são veementemente contestadas por PALLASCH (1989), que pondera sobre os riscos da administração da droga em relação ao benefício efetivo que ela propicia. As possibilidades de danos causados pelos antibióticos poderiam ser maiores que a proteção que proporcionam. O autor refere-se essencialmente ao perigo e à incidência dos choques anafiláticos pelo uso das penicilinas injetáveis, um dos regimes recomendados pela AHA. HALL et al. (1993) reforçam as dúvidas sobre a eficiência da antibioticoterapia sobre a redução dos níveis de bactérias no sangue. Admitem no entanto, a interferência dos fármacos na evolução da moléstia.

De modo geral, parece haver um consenso quase unânime favorável à administração de antimicrobianos na profilaxia da endocardite, nas situações consideradas de alto risco. De qualquer forma, não devem ser esquecidos os cuidados pré-operatórios básicos, como anti-sepsia pré-cirúrgica, escovação, uso de anti-sépticos orais, profilaxia mecânica para remoção da placa dental, tratamentos endodônticos e de cáries, que minimizam o número de microrganismos na cavidade oral, reduzindo a frequência e intensidade das bacteriemias (GLEISER, 1982). É importante também que os profissionais das áreas da saúde conheçam e saibam utilizar os recursos para a identificação dos pacientes que apresentem fatores de médio risco e alto risco (BARREIRO & SCASSO, 1989; BLUMBERG et al., 1992).

Quando a decisão de utilizar o antibiótico como agente terapêutico é tomada, há praticamente unanimidade entre os pesquisadores quanto a conveniência ou mesmo necessidade de um teste de sensibilidade do agente infeccioso, quando possível. O terapeuta deve conhecer profundamente as propriedades dos antibióticos disponíveis, suas prováveis interações com seu alvo e o hospedeiro, e as espécies comumente envolvidas no processo, com os respectivos padrões de sensibilidade aos medicamentos. Se o quadro é de uma infecção séria e não é possível a coleta de material séptico para cultura e teste de sensibilidade, a escolha do antimicrobiano deverá ser baseada nestes conhecimentos.

Para ALONSO VERRI (1993), os agentes etiológicos mais freqüentes nas patologias infecciosas bucais e os que mais comumente provocam complicações

sistêmicas após atos cirúrgicos na cavidade oral são os estreptococos, considerados anaeróbios facultativos, e mais raramente os estafilococos, considerados aeróbios ou anaeróbios facultativos (BIER, 1985). Levando em conta as características fisiológicas e o padrão de sensibilidade desses microrganismos, além de apresentarem boa secreção salivar, os antibióticos indicados para uso odontológico foram organizados na seguinte ordem decrescente de importância: penicilinas, eritromicinas, espiramicinas, clindamicina, ampicilina, cefalotina, novobiocinas, derivados do clo-ranfenicol, tetraciclinas e rifampicina. ITO et al. (1979) estão de acordo com estas considerações e acrescentam que embora as tetraciclinas exerçam ação bacteriostática, característica considerada negativa em determinadas circunstâncias, têm sido extensivamente empregadas na rotina odontológica, especialmente no tratamento de problemas periodontais. Lembram ainda que os antibióticos podem ser classificados não apenas segundo seu espectro contra aeróbios ou anaeróbios, mas também com base na sua estrutura química, ação biológica, origem, mecanismo de ação e espectro de ação, contra gram-positivos ou gram-negativos.

SANS & NEWMAN (1990) consideram anaeróbias, de 85 a 100% das infecções orofaciais inespecíficas, sendo 30 a 60% destas provocadas por anaeróbios estritos e, por isso, recomendam como antibióticos de primeira escolha, derivados das penicilinas, como ampicilina, amoxicilina, ou associações destas drogas a inibidores das β -lactamases. Como agente de segunda escolha, sugerem o éster etoxicarboniloxietel da ampicilina que, administrado oralmente, produz níveis plasmáticos equivalentes aos obtidos com a amoxicilina ou a ampicilina por via intramuscular. O metronidazol ou a clindamicina são indicados como a terceira ou mesmo segunda opção e os derivados da tetraciclina são preferidos antes das eritromicinas. Os autores argumentam que as eritromicinas não são particularmente efetivas contra anaeróbios estritos nos níveis obtidos por via oral, embora por via intramuscular possam atingir tais níveis. Admitem, no entanto, que quando a infecção for provocada por estreptococos ou estafilococos, pode-se considerar a eritromicina como uma alternativa aceitável às penicilinas. HELOVUO et al. (1991) encontraram maior sensibilidade dos estafilococos produtores e não produtores de penicilinase à eritromicina, isolados de sítios necróticos em superinfecções, do que à penicilina V, amoxicilina, tetraciclina e outros.

Penicilina V é a droga indicada por PETERSON (1990) como de primeira escolha no tratamento ou prevenção das infecções odontogênicas e das endocardites sépticas, seguidas pela cefalosporina ou eritromicina, nos casos de reações alérgicas à penicilina. Observa, contudo, que 5 a 15% dos pacientes alérgicos à penicilina também o são à cefalosporina, e a eritromicina tem seu poder limitado pela dose que deve ser restrita devido aos efeitos colaterais. As opções seguintes são: clindamicina, metronidazol, nos casos de abscessos crônicos e, talvez em combinação com a penicilina nas infecções sérias, e tetraciclina. A escolha da penicilina V à amoxicilina ou à ampicilina, como primeira opção, é justificada por

PETERSON (1990), em função da maior eficiência contra estreptococos e anaeróbios estritos orais.

MORAES (1988), recomenda o uso prioritário da penicilina V e G, e, nos casos em que estas estejam contra-indicadas ou sejam ineficientes contra os agentes etiológicos infecciosos, as cefalosporinas, rifamicinas, eritromicina, ou a lincomicina, com ressalvas. As tetraciclinas são indicadas somente como último recurso.

Essa conduta parece não ser suportada pelos trabalhos de KINDER et al. (1986), que encontraram para a penicilina G uma ampla gama de cepas resistentes, incluindo os estreptococos. Com relação à penicilina V encontra-se uma pequena, mas talvez importante, inferioridade à amoxicilina no controle das bacteriemias pós-cirúrgicas, nas investigações de HALL et al. (1993). A incidência de bacteriemias foi menor para a amoxicilina e para a ampicilina, no transcorrer de extrações dentárias, embora após 10 minutos a diferença não tenha sido significativa. A concentração sérica da penicilina V durante o ato cirúrgico foi de 9,2mg/L enquanto a da amoxicilina foi de 13,7mg/L.

Para a prevenção da endocardite bacteriana associada a procedimentos odontológicos, o COMMITTEE OF THE NATIONAL HEART FOUNDATION OF NEW ZEALAND publicou, em 1985, orientado pelas normas da BSAC de 1982 e da AHA, 1984, as recomendações do uso preferencial da amoxicilina e da clindamicina, como segunda opção (HAY et al., 1992). A eritromicina foi preterida por provocar náuseas, vômito e diarreia, quando administrada em altas doses, geralmente necessárias para a obtenção de um nível sérico adequado e por ter uma ação bacteriostática.

De um modo geral, para a prevenção da endocardite bacteriana, as penicilinas, em especial a amoxicilina, têm sido os antibióticos mais indicados, administrados em diversas formas e regimes (LEVINER et al., 1984; HURST et al., 1990; AMERICAN HEART ASSOCIATION, 1991; WAHL & WAHL, 1993; FERNANDES, 1994). São ainda aspectos polêmicos, no entanto, a avaliação da relação risco/benefício, especialmente quando o regime profilático envolve as penicilinas injetáveis, com potencial considerável para choques anafiláticos fatais e a determinação precisa dos fatores de risco, cujas chances de propiciar a instalação de uma endocardite séptica e morte superariam os prejuízos da administração de antibióticos (PALLASCH, 1989). Além disso, alguns autores também relatam altos índices de resistência à esses antibióticos (SUTTER & FINEGOLD, 1976; BALCH et al., 1988; TAYLOR & CARTER, 1986).

Nos cuidados relativos aos processos infecciosos orofaciais, conforme discutido, há ainda diferentes condutas na eleição dos antimicrobianos mais adequados. Um dos motivos parece estar associado às dificuldades técnicas na identificação do agente etiológico. LEWIS et al. (1988-90) afirmam que muitas pesquisas falharam no reconhecimento das bactérias causadoras dos processos infecciosos agudos da cavidade oral. Embora sabidamente de origem polimicrobiana, provavelmente a

utilização de técnicas aeróbias de cultura, tenha obscurecido durante muito tempo a alta proporção de bactérias anaeróbias nos processos supurativos. Com o uso de métodos exclusivamente anaeróbios conseguiu-se isolar um número muito maior de cocos gram-positivos e bacilos gram-negativos, anaeróbios estritos, CO₂ dependentes, o que possivelmente sugeriu uma mudança na orientação terapêutica, como a indicação de associações antibióticas ou agentes de largo espectro, antes desconsideradas em favor da redução de efeitos colaterais ou emergência de cepas resistentes. Atualmente, o emprego, por exemplo, de penicilinas associadas ao metronidazol, tanto no combate a focos infecciosos já estabelecidos, como na prevenção da endocardite e outras infecções hospitalares, é cada vez mais freqüente (MacFARLANE & SAMARANAYAKE, 1989; MOTTI & AMATO NETO, 1992).

A escolha da amoxicilina, da eritromicina e da tetraciclina para os testes de determinação das concentrações inibitórias mínimas deveu-se, portanto, ao fato de serem agentes indicados e utilizados freqüentemente nas profilaxias das endocardites bacterianas e no tratamento da maior parte dos processos infecciosos orofaciais. O cuidado em rejeitar indivíduos que haviam se submetido à antibioticoterapia prévia, por um período de dois meses, tomado na seleção dos componentes do grupo experimental, deveu-se à intenção de evitar a flutuação induzida de cepas bacterianas resistentes (BERMUDEZ et al., 1985; KINDER et al., 1986), o que poderia provocar discrepâncias entre as amostras.

Ainda com respeito à antibioticoterapia, encontrou-se um outro ponto de divergência: o tempo de duração da terapêutica medicamentosa. Sobre este aspecto também há um temor quanto ao aparecimento de organismos resistentes. CRAWFORD (1990) e muitos outros, recomendam na Odontologia, aparentemente com bases empíricas, um período mínimo de 5 a 7 dias para a antibioticoterapia, levando em conta a remissão dos sintomas e a severidade da infecção. O período não deve ser diminuído porque há risco de uma possível reversão do quadro e seleção de cepas resistentes (MORAES, 1988), e não deve ser ampliado, sob pena de superinfecção ou distúrbios provocados pelos efeitos colaterais (BAZERQUE, 1978). Segundo MARSH & MARTIN (1992), ao contrário, o tempo de tratamento deve ser o mínimo suficiente para que se obtenha a cura.

FANG et al. (1993) não encontraram relação entre a administração breve ou prolongada de antimicrobianos e o desenvolvimento de endocardites infecciosas em pacientes ambulatoriais, enquanto GLAUSER et al. (1983), observaram uma dependência significativa do tempo de exposição a níveis bactericidas de uma dose única de amoxicilina, e do tamanho do inóculo, sobre o aparecimento de endocardites experimentais. WILLIAMS et al. (1979), verificaram que períodos de tratamento longos, com baixas dosagens de tetraciclina, favorecem nitidamente o aparecimento de cepas gram-negativas resistentes, e RAMS et al. (1990) constataram que a administração sistêmica de doxiciclina, um derivado da tetraciclina, durante 20 dias pode conduzir à elevação, pelo menos temporária, do número de bacilos entéricos, leveduras e estafilococos, organismos muitas vezes associados a

casos de superinfecção (TAVARES, 1994). Investigando o mesmo antibiótico, FIEHN & WESTERGAARD (1990) comprovaram o aumento no número de cepas resistentes em grupos que receberam o medicamento em períodos de 1 a 52 semanas. O número de resistentes foi de 10 a 20 vezes superior aos encontrados em indivíduos que não estavam recebendo o medicamento e foi maior nas primeiras semanas de tratamento, retornando aos níveis normais 6 meses após o término.

Esses dados levam à suposição de que, embora a eclosão de cepas resistentes esteja subordinada ao grupo químico do antibiótico e às espécies microbianas, parece haver uma relação entre a frequência, a intensidade e o período de exposição ao fármaco e a resistência. Poder-se-ia inferir que determinadas concentrações eliminariam algumas bactérias e não outras menos sensíveis. Elevando-se a dose, alguns organismos mais sucumbiriam, mas ainda alguns, imunes à droga, sobreviveriam mesmo às concentrações máximas atingidas a nível sistêmico. Então, sob dosagens letais todas as bactérias sensíveis desapareceriam, tanto em regimes curtos, como prolongados, desde que a concentração adequada atingisse os sítios em que elas se encontrassem, com desvantagens para os regimes longos, responsáveis geralmente por efeitos colaterais mais significativos e maiores riscos de superinfecções. Sob dosagens sub-letais, por períodos curtos, haveriam maiores probabilidades de seleção de organismos mais resistentes e reativação de processos infecciosos estabelecidos e, por períodos mais longos, somar-se-iam a estes problemas, efeitos colaterais mais severos, maiores chances de superinfecção e perda da eficiência do medicamento na clínica terapêutica ao longo do tempo. Os regimes com administrações relativamente breves mas francamente eficientes, em relação à dosagem, parecem mais adequados. Esta hipótese está em acordo com as condutas adotadas pela AMERICAN HEART ASSOCIATION (1991), que recomenda 2 doses de amoxicilina, uma de 3,0g, 6 vezes maior que a habitual, e outra de 1,5g, na prevenção da endocardite bacteriana, para pacientes considerados de risco.

O'CONNOR et al. (1990), concluíram que exposições curtas à altas doses, 8µg/mL de minociclina, eliminam substancialmente os patógenos sensíveis ao antibiótico, enquanto exposições à doses moderadas parecem favorecer a incidência de resistentes, confirmando os achados de LOWY et al. (1983), para a penicilina, em que doses restritas selecionavam cepas tolerantes, ao passo que nos regimes com doses elevadas, ocorria a eliminação tanto das tolerantes como das não tolerantes.

Segundo bem evidenciou FREITAS (1991), o conhecimento da concentração bactericida mínima (CBM) em adição à concentração inibitória mínima (CIM), é de grande importância clínica na instituição adequada do antibiótico e sua dose, principalmente quando a infecção é provocada por cepas tolerantes, capazes de sobreviver à concentrações iguais ou 16 vezes maiores que a concentração inibi-

tória mínima, ou quando o paciente possui defesas significativamente diminuídas, como os que se submeteram à terapia antitumoral, portadores de endocardites ou da síndrome da imunodeficiência adquirida.

A cognição precisa, no entanto, da menor concentração de um determinado antibiótico capaz de inibir o crescimento microbiano, é, na maior parte das vezes, suficiente para a adoção de medidas terapêuticas adequadas, contribuindo sensivelmente no controle e cura das moléstias infecciosas (BAZERQUE, 1978; FONSECA, 1988; NEWMAN & KORNMAN, 1990; TAVARES, 1994).

Existem diversos métodos para a medida da sensibilidade dos microrganismos aos agentes antimicrobianos. O mais utilizado pelos laboratórios na prática diária é a prova da sensibilidade com discos de papel, padronizada e conhecida como prova de Bauer-Kirby (BAUER et al., 1966; ROCHA et al., 1972), popularizada pela facilidade e rapidez com que é executada e pelo baixo custo. A prova de sensibilidade por diluição em caldo foi, no entanto, a primeira a ser desenvolvida e aplicada e, apesar das limitações técnicas e de custo, é a que apresenta maior precisão e serviu de base para o desenvolvimento de todas as outras, inclusive a da diluição em ágar, utilizada neste estudo.

KONEMAN et al. (1993) explicam que a prova de Bauer-Kirby, apesar de bastante útil, é sujeita a falhas e restrições, porque inicialmente exige um grande cuidado no preparo dos meios, algumas vezes adaptados para certos tipos de organismos, do inóculo e também depende de um alto controle industrial na produção dos discos, que devem apresentar concentrações bem definidas dos antibióticos. Ainda mais: não são aplicáveis a microrganismos de crescimento lento porque o antibiótico pode deteriorar e fornecer leituras imprecisas; por este motivo não são aplicáveis também para anaeróbios; necessitam de correções na correlação entre o diâmetro da zona de inibição e os valores da CIM, para os antibióticos que se difundem lentamente em ágar; fornecem valores correlacionados apenas com as concentrações de antibiótico atingidas no soro, não em locais específicos como abscessos ou urina; geralmente não são fabricados discos com todos os tipos de antibióticos produzidos, mas sim de medicamentos representativos de um determinado grupo, o que pode fornecer resultados errôneos. Além disso, o método requer uma calibração rigorosa e constante, para que haja confiabilidade e possibilidade de comparação dos resultados entre os laboratórios, sendo ainda dependente do NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS, 1983), que emite periodicamente uma tabela, sujeita à revisões contínuas, responsável pela correlação aproximada entre o diâmetro das zonas de inibição e os valores das concentrações inibitórias mínimas. Uma outra prova de sensibilidade, mais precisa, é a microtécnica de diluição em caldo, executada com *kits* comerciais, sendo portanto mais onerosa. Finalmente uma outra técnica, a de diluição em ágar, segue os mesmos princípios da técnica de diluição em caldo e apresenta a mesma precisão com algumas vantagens: em cada ciclo de inoculação pode-se avaliar um total de 32 a 36 organismos, tem custo relativamente baixo, pode ser facilmente submetida a ri-

goroso controle de qualidade, e os resultados são diretamente interpretados como valores de CIM, em microgramas por mililitro ($\mu\text{g}/\text{mL}$). O método pode ainda ser bem adaptado à automação, já existindo atualmente dispositivos de leitura eletrônicos e programas para a interpretação por computadores.

Dos três antibióticos, a eritromicina inibiu mais cepas bacterianas, em menores concentrações *in vitro*, seguida da amoxicilina, e da tetraciclina, considerando-se o mesmo peso para cada um dos sais disponíveis e empregados nos testes laboratoriais. Estes achados foram confirmados estatisticamente com a aplicação do teste de Page (DANIEL, 1978). Para todos os microrganismos testados os antibióticos puderam ser classificados nesta ordem, à níveis de significância que variaram de 0,050 a 0,001 (vide resultados e apêndice).

É preciso salientar, contudo, que a potência — a proporção do agente químico antibiótico específico em cada miligrama do sal — variou conforme o sal. No preparo dos meios, tomou-se o cuidado de calcular a quantidade exata do antibiótico na sua forma pura, baseada na potência fornecida pelo fabricante. Portanto, os números expressos pelas CIM refletem exatamente a quantidade do agente ativo específico. Fica claro, entretanto, que podem ocorrer variações na pureza dos sais e na quantidade de excipiente no processo de fabricação das formas farmacêuticas, fatores que influenciam os níveis plasmáticos do agente ativo e, por conseguinte, os resultados do tratamento.

Se levarmos em conta os valores médios das concentrações inibitórias mínimas para 99,9% ou mais do inóculo (CIM_{100}), podemos verificar (tabela 6) que a amoxicilina demonstrou melhor desempenho contra o grupo viridans, com valores de $0,26\mu\text{g}/\text{mL}$, variando, entre as espécies, num intervalo de $0,06\mu\text{g}/\text{mL}$ a $0,50\mu\text{g}/\text{mL}$, seguida pela eritromicina, com $2,27\mu\text{g}/\text{mL}$ ($0,03 - 8,00\mu\text{g}/\text{mL}$) e tetraciclina, com $76,75\mu\text{g}/\text{mL}$ ($2,00 - 128,00\mu\text{g}/\text{mL}$). As cepas de *S. oralis* foram as maiores responsáveis pela elevação da média obtida com a eritromicina, demonstrando menores índices de sensibilidade. Para o *Staphylococcus aureus*, as CIM apresentaram valores absolutos para a amoxicilina: $8,00\mu\text{g}/\text{mL}$. O segundo melhor resultado foi para a tetraciclina, com o índice de $32,25\mu\text{g}/\text{mL}$ ($0,50 - 64,00\mu\text{g}/\text{mL}$), ficando o pior grau de efetividade representado pela eritromicina: $64,12$ ($0,25 - 128,00\mu\text{g}/\text{mL}$).

BAKER et al. (1985), utilizando método semelhante, mas inóculo de 10^7 ufc, encontraram valores de CIM da eritromicina para o *S. mutans* com uma média em torno de $1,500\mu\text{g}/\text{mL}$, comparativamente maiores que os deste trabalho (tabela 7), de $0,029\mu\text{g}/\text{mL}$, tanto para organismos originários da saliva como da placa dental. Com a tetraciclina os resultados se inverteram, alcançando índices de $2,200\mu\text{g}/\text{mL}$ e $4,985\mu\text{g}/\text{mL}$, para placa dental e saliva, respectivamente, contra uma média aproximada de $1,870\mu\text{g}/\text{mL}$ relatada por aqueles autores. A explicação para este fato pode estar associada ao uso indiscriminado da tetraciclina no Brasil. O valor médio da CIM para a mesma espécie, em relação à penicilina G, foi de

0,072µg/mL, mais próximos aos deste trabalho, de 0,066µg/mL para a amoxicilina, um antibiótico do mesmo grupo farmacológico. Como não houve uma tendência uniforme para os três grupos experimentais, é possível que as discrepâncias tenham sido antes resultado das diferentes sensibilidades dos organismos testados que da execução do método, embora não se possa excluir a possibilidade de erros nesta fase. Os índices inibitórios de amoxicilina obtidos para esta espécie (CIM₁₀₀), de 0,120µg/mL, assemelham-se ainda aos de CHRAÏBI et al. (1990), que por meio de um método de microdiluição observaram CIM₁₀₀ de 0,195µg/mL, mas os testes de sensibilidade foram realizados também com inóculos um pouco menores, de 10⁷ ufc. Assim como o estabelecimento da infecção é diretamente dependente do tamanho do inóculo, pelo menos no caso da endocardite, como demonstrou GLAUSER et al. (1983), é provável que o número de ufc esteja relacionado à quantidade de antibiótico necessária para inibi-las. Esta idéia reforça a necessidade da padronização desta e de outras variáveis, e de pesquisas que estabeleçam fatores de correção, a fim de viabilizar o estabelecimento de comparações mais precisas.

Confrontando os dados, relativos ao grupo de estreptococos, com os achados de KINDER et al. (1986), verifica-se que para a tetraciclina os resultados foram completamente desiguais: CIM₁₀₀ de 76,75µg/mL (tabela 6), contra 4,000µg/mL, para as testadas por aqueles autores. Como os dois antibióticos possuem espectros semelhantes, pode-se comparar a CIM encontrada para a amoxicilina, de 0,263µg/mL, com 64,000µg/mL para a ampicilina, testada nesse trabalho, cujo método foi também o da diluição em ágar.

Para o *S. sanguis* da placa dental, CIM médias (tabela 7), de 0,296µg/mL de amoxicilina, e de 0,263µg/mL de eritromicina, situaram-se próximas às descritas por NEWMAN et al. (1979), respectivamente de 0,110µg/mL e 0,350µg/mL. A sensibilidade à tetraciclina, por outro lado, apresentou valores de CIM muito diferentes: 22,042µg/mL, contra apenas 1,090µg/mL relatados no trabalho, corroborando a hipótese do uso indiscriminado. CHRAÏBI et al. (1990), também encontraram valores próximos, em média 0,146µg/mL, para a amoxicilina. Examinando as tabelas 6 e 7 pode-se verificar que esta espécie foi a que registrou as maiores concentrações inibitórias, dos três antibióticos pesquisados, para todos os estreptococos isolados. O fato reveste-se de importância quando relacionado à alta incidência de *S. sanguis* nos casos de endocardite infecciosa. Vale a pena lembrar também que dos 38 indivíduos ora estudados, 13 (34%) apresentaram *S. sanguis* na saliva e 12 (32%), na placa dental (tabela 8).

Os resultados para o grupo de estreptococos expostos à tetraciclina (tabela 6), aproximaram-se aos de WALKER & GORDON (1990), que verificaram CIM maiores que 32,00µg/mL, para os organismos isolados de sítios com doença periodontal refratária, tanto antes como após tratamento com clindamicina. Para a eritromicina, no entanto, o resultado não foi coincidente, uma vez que as cepas demonstraram resistência à concentrações iguais ou maiores que 32,00µg/mL, dis-

crepância não explicada, nem pelos próprios pesquisadores. As CIM para a amoxicilina foram 4 vezes maiores que as encontradas neste trabalho.

Embora o *Staphylococcus aureus* venha sendo apontado como responsável por um número crescente de infecções hospitalares, inclusive pela endocardite bacteriana, e alguns autores atestem o envolvimento cada vez mais freqüente de cepas resistentes aos antibióticos comumente empregados em processos sépticos de tal natureza, diagnosticados também na clínica odontológica (SALVADOR, 1981; MONTELLI, 1988; NASCIMENTO et al., 1988; LEME et al., 1989; MARTIN & HARDY, 1991), foi encontrada apenas uma referência às CIM para a tetraciclina e para a ampicilina na literatura pesquisada. ITO et al. (1980) encontraram a CIM₁₀₀ de 8,00µg/mL para a amoxicilina e de 128,00µg/mL para a tetraciclina. No presente trabalho os valores obtidos foram relativamente próximos: 8,00µL/mL para os organismos originários da saliva e da placa dental, frente à amoxicilina e, 64,00µg/mL para os organismos da saliva e 0,5µg/mL para os da placa, frente à tetraciclina. Tão somente um trabalho foi achado com referência à eritromicina, apresentando ampla margem de variação nas concentrações inibitórias mínimas (MANDELL et al., 1991): de 0,005µg/mL a 100,000µg/mL. Os valores obtidos para as CIM₁₀₀ relativos à esse antibiótico foram altos, variando de 0,250µg/mL para as cepas provenientes da placa, a 128,000µg/mL para as da saliva. Na placa dental, embora as concentrações inibitórias também tenham sido elevadas, representam a sensibilidade de apenas 2 cepas viáveis, isoladas durante o processamento microbiológico.

De acordo com publicações de 1983 do NCCLS apud BAKER et al. (1985), devem ser consideradas sensíveis as cepas que exibam concentrações inibitórias mínimas duas a quatro vezes abaixo dos níveis séricos e teciduais obtidos através das vias e doses normais de administração. Isto provavelmente porque há uma inativação de parte do antibiótico ministrado, durante o trajeto biológico percorrido até o sítio alvo, como ligação com proteínas plasmáticas, degradação enzimática, etc. Nas tabelas 1a a 5b podem ser identificadas as proporções de cepas sensíveis e resistentes, delimitadas pelas linhas tracejadas, posicionadas com base nos parâmetros mais rigorosos do NCCLS, ou seja, quatro vezes abaixo dos níveis séricos obtidos.

Os níveis séricos dos antibióticos estudados, correspondentes às doses mais utilizadas por via oral, em µg/mL, são, respectivamente, para a amoxicilina, a eritromicina (estolato) e a tetraciclina: 4,0–4,7 (250mg), 7,0–7,5 (500mg); 1,0–1,5 (250mg), 4,0–4,2 (500mg); 1,5–2,5 (250mg), 3,0–4,3 (500mg). O percentual de ligação às proteínas séricas são, na mesma ordem, de: 20%, 70%, 20–25% (NORRIS et al., 1990; SANZ & NEWMAN, 1990; MANDELL et al., 1991).

Calculando-se as concentrações limítrofes frente às quais pode-se distinguir o caráter de resistência ou sensibilidade, com base nos parâmetros propostos pelo NCCLS e nas concentrações séricas para doses orais de 500mg, determina-se

a classificação das cepas. Verifica-se então, que chegam a ser alarmantes os índices de cepas consideradas resistentes encontrados neste trabalho. Para o grupo de estreptococos, somente a amoxicilina seria eficiente na inibição de todos os microrganismos. E seria eficiente mesmo com doses de 250mg. Os *S. aureus* representariam um grande problema, tanto no caso de uma infecção estabelecida quanto na necessidade de uma indicação profilática, pois mostraram-se resistentes a todos os antimicrobianos testados. Sabendo-se que a endocardite pode ser provocada por esta espécie (PALLASCH, 1989; KNOX & HUNTER, 1991; MANSUR et al., 1992; FANG et al., 1993; OWEN, 1994), presente na cavidade oral transitoriamente ou por períodos mais prolongados, talvez fosse necessário reavaliar as recomendações da AHA (AMERICAN HEART ASSOCIATION, 1991) frente ao tratamento de algumas infecções que se desenvolvem nesse local. Não se deve esquecer no entanto que são adotados os parâmetros mais rigorosos, definidos pelo Comitê. Se utilizados os valores mínimos, o quadro pode se alterar significativamente. Um número maior de cepas poderiam ser consideradas sensíveis à eritromicina, transformando-a numa opção cada vez mais indicada que a amoxicilina. Esta, por sua vez, seria eficiente para quase a totalidade dos *S. aureus* (aproximadamente 96%). A tetraciclina ainda continuaria ser uma escolha incerta para todos os microrganismos estudados.

Deve-se também levar em conta, que embora os níveis séricos obtidos pela eritromicina, na forma de estolato, sejam eficientes contra os *S. mutans*, *S. sobrinus*, e mesmo contra os *S. aureus* isolados da placa dental, *in vitro*, apenas 20 a 35% do peso representam a base ativa que se dissocia no soro, e 70% do antibiótico livre pode se ligar às proteínas plasmáticas (MANDELL et al., 1991), fatores capazes de influenciar negativamente o comportamento do medicamento *in vivo*. Pode-se observar que uma proporção muito grande das cepas sensíveis à eritromicina foram inibidas na menor concentração testada (figuras 3ab e 4ab) ou na seguinte (figuras 5ab, 6ab e 7ab), o que prudentemente implicaria num estudo mais aprofundado empregando diluições maiores e intervalos menores para a observação minuciosa das interações entre essas cepas e o antimicrobiano.

Considerando todas essas observações foi retomado o tratamento estatístico, segundo uma nova abordagem: a análise da relação entre dose do medicamento e resposta microbiológica.

O teste de hipótese baseado no método de Page classificou os antibióticos por meio de tabelas de postos de inibição, como pode ser visto no apêndice. Deve-se compreender que a atribuição de postos aos medicamentos se baseou na regra “quem inibiu mais primeiro”, ou seja, atingiram pontuações mais elevadas os antibióticos que inibiram maior número de cepas nas menores concentrações. Com base nesta premissa, a eritromicina pareceu alcançar os melhores índices, *in vitro*. É preciso considerar, contudo, que já nas menores concentrações a eritromicina foi capaz de eliminar a maioria dos germes, não sendo possível avaliar seu comportamento em relação à incrementos de dose. De forma oposta, a tetraciclina pareceu

iniciar sua ação em concentrações mais elevadas, atingindo picos nas faixas entre 0,500 e 2,000µg/mL. A amoxicilina atuou numa posição intermediária. Fica claro, conseqüentemente, que os três antibióticos estudados atuam cada um à sua maneira, seguindo curvas dose-resposta distintas.

A análise que utilizou probitos em função dos logaritmos das doses dos antibióticos, permitiu a estimação de retas representativas da relação entre os dois fatores. A inclinação das retas reflete a “tendência” de um determinado medicamento para causar uma resposta mais ou menos intensa, com a mesma variação das doses. Assim, simplesmente observando os gráficos das figuras 8a a 12c, percebe-se que as retas referentes à amoxicilina invariavelmente se apresentam mais verticalizadas que as referentes à tetraciclina, que, por sua vez, se apresentam mais verticalizadas que as traçadas para a eritromicina. Torna-se aparente, então, a maior potência da amoxicilina, seguida pela tetraciclina e, por fim, pela eritromicina, entendendo como potência a inibição de um maior número de bactérias diante de uma mesma variação de concentração. Não se conseguiu encontrar um paralelismo entre as retas traçadas a partir das cepas originárias da saliva e as da placa dental. No entanto, elas parecem seguir trajetórias semelhantes, salvo pequenas variações, atribuídas aos erros inerentes do método. Também não foi possível concluir que houvessem respostas distintas das bactérias presentes nos dois materiais.

Mas convém não esquecer que podem haver outras variáveis influenciando os mecanismos biológicos durante uma terapêutica antimicrobiana. No caso, a concentração sérica alcançada por cada antibiótico é determinante no sucesso ou fracasso do tratamento. Quando se leva em conta este fator, as outras considerações teóricas ficam à mercê de uma reavaliação. A amoxicilina é capaz de alcançar rapidamente altas concentrações no plasma sanguíneo, enquanto os dois outros antimicrobianos não oferecem esta propriedade com a mesma magnitude, embora a exata concentração sérica dependa também da formulação dos sais e das características individuais do paciente (SANZ & NEWMAN, 1990; MANDELL et al., 1991). Num período de duas horas a amoxicilina pode atingir o dobro do nível sérico encontrado para a tetraciclina e de duas a oito vezes o nível de eritromicina ativa no soro humano.

Reavaliando a literatura consultada firma-se a hipótese de que a resistência microbiana aos antibióticos é um fenômeno sujeito à modificações temporais e muitas vezes intimamente relacionado à exposições prévias. O sucesso terapêutico, portanto, parece depender de avaliações constantes da sensibilidade dos agentes envolvidos nos processos infecciosos aos antimicrobianos disponíveis hoje e futuramente.

Assim, mediante uma amostra representativa de estudantes da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo foi possível definir o perfil de sensibilidade microbiana e o grau de eficiência dos antibióticos mais utilizados atualmente na clínica odontológica. Embora o grupo de voluntários estudado tenha sido restrito e demonstrado um padrão definido de vida, sendo todos integrantes de uma classe socioeconômica e cultural semelhante, com hábitos alimentares muito próximos, idades variando num intervalo de apenas três anos, e com praticamente o mesmo acesso à assistência médica e odontológica, pode ser possível a extrapolação dos dados a outros grupos populacionais. Espera-se, não obstante, que esses dados possam ser de alguma utilidade na orientação das condutas profiláticas e terapêuticas que envolvam agentes antimicrobianos em nossa instituição, no auxílio às medidas saneadoras da região e como referência para a análise e comparação de outros estudos.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados experimentais foi possível concluir que:

1. Considerando apenas as condições *in vitro* do estudo, pode-se classificar os antibióticos segundo as respectivas capacidades de inibição em menores concentrações para todos os microrganismos estudados na seguinte ordem hierárquica decrescente: eritromicina, amoxicilina e tetraciclina.
2. Com relação à potência, representada pela magnitude da resposta inibitória em função da variação de concentração dos antibióticos, frente aos microrganismos estudados, *in vitro*, a classificação se expressa como: amoxicilina, tetraciclina e eritromicina.
3. Considerando a potência, associada aos parâmetros propostos pelo NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS) e aos níveis séricos atingidos em média por cada antibiótico, a ordem, para o uso terapêutico *in vivo*, se estabelece como: amoxicilina, eritromicina e tetraciclina.
4. Observou-se para os antibióticos e microrganismos isolados da saliva e placa dental do grupo de indivíduos estudados, um diferencial significativo de sensibilidade, sendo o exemplo mais extremo o de algumas cepas resistentes à concentrações 2064 vezes maiores do que as necessárias para a inibição de outras do mesmo grupo.
5. Os resultados observados com os experimentos realizados com microrganismos originários da saliva (planctônicos) e da placa (sésseis) foram muito próximos.
6. A terapêutica antimicrobiana deve ser sempre que possível precedida de um teste de sensibilidade do(s) microrganismo(s) causal(ais) aos antibióticos que poderão ser utilizados, preferencialmente de um teste que determine a concentração inibitória mínima. A fórmula química do medicamento a ser testado deve ser a mesma que aquela a ser empregada no tratamento.
7. Devido às diferenças nos mecanismos de ação entre os antimicrobianos, cada um atuando em espectros nitidamente distintos de concentrações, sugere-se que para este tipo de experimento se realizem testes pilotos que caracterizem as diluições apropriadas à cada medicamento. Uma seqüência de concentrações em escala de progressão aritmética, alternativamente à escala baseada em progressão geométrica, pode ser preferível em alguns casos para uma determinação mais precisa do “ponto de ruptura”.

RESUMO / SUMMARY

RESUMO

Procurou-se estudar *in vitro* a sensibilidade de cepas de *Streptococcus oralis*, estreptococos do grupo sanguis, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Staphylococcus aureus* provenientes da placa dental e da saliva frente aos antibióticos amoxicilina, eritromicina e tetraciclina. O objetivo do estudo foi o de estabelecer a capacidade de inibição desses antibióticos, determinando-se a ordem de eficácia nas menores concentrações testadas. As amostras que serviram para o cultivo dos microrganismos foram coletadas de um grupo homogêneo de 38 pessoas, estudantes de Odontologia, com idade de 17 a 25 anos, de ambos os sexos e que não estavam fazendo uso de antibióticos nos dois meses que antecederam a colheita das amostras. Essas amostras foram cultivadas em meios apropriados para o desenvolvimento das espécies microbianas em estudo e as cepas isoladas e identificadas foram submetidas à avaliação da concentração inibitória mínima dos três antibióticos, estabelecendo-se a seguinte ordem hierárquica decrescente de eficiência *in vitro*: eritromicina, amoxicilina e tetraciclina. Quando se analisou a magnitude de resposta inibitória de cada fármaco em função da variação de concentração, ou seja, sua potência *in vitro*, a ordem foi: amoxicilina, tetraciclina e eritromicina. Considerando-se conjuntamente a potência, os parâmetros propostos pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards e os níveis séricos atingidos em média por cada antibiótico, a ordem para o uso terapêutico *in vivo* seria: amoxicilina, eritromicina e tetraciclina. Dentre todos os microrganismos estudados foram observadas cepas resistentes à concentrações 2064 vezes maiores que as necessárias para inibir as menos resistentes. Os resultados observados nos experimentos com saliva e com placa dental foram muito semelhantes. Os dados experimentais e a literatura consultada permitiram concluir ainda que a escala e os intervalos de diluição podem exigir ajustes, de acordo com a espécie microbiana pesquisada e a terapêutica antimicrobiana deve ser sempre que possível precedida de um teste de sensibilidade, preferencialmente um que determine a concentração inibitória mínima dos medicamentos que poderão ser utilizados na terapêutica.

SUMMARY

We studied the *in vitro* sensitivity of strains of *Streptococcus oralis*, streptococci of the sanguis group, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* and *Staphylococcus aureus* from dental plaque and saliva to 3 antibiotics: amoxicillin, erythromycin and tetracycline. The objective of this study was to establish the inhibitory capacity of these antibiotics, determining the order of efficacy at the smallest concentration tested. Samples for the culture of the microorganisms were collected from a homogeneous group of 38 male and female dental students, 17-25 years old, and who had not used antibiotics during the preceding 2 months. The samples were cultured in appropriate media for the development of the microbial species under study and the strains isolated and identified were submitted to evaluation of minimum inhibitory concentration of the 3 antibiotics, establishing the following hierarchical decreasing order of efficiency *in vitro*: erythromycin, amoxicillin and tetracycline. When analyzing the magnitude of inhibitory response of each antibiotic in terms of concentration variation, i.e., the *in vitro* potency, the order was: amoxicillin, tetracycline, and erythromycin. Considering this potency, the parameters proposed by the National Committee For Clinical Laboratory Standards and the mean blood level reached by each antibiotic, the order for *in vivo* therapeutic use would be: amoxicillin, erythromycin, and tetracycline. Among the microorganisms studied, strains resistant to concentrations 2064-fold greater than those necessary to inhibit the least resistant strains were found. The results of the experiments with saliva were similar to those carried out with dental plaque. These results of the experiments with saliva were similar to those carried out with dental plaque. These data and the literature permit the conclusion that the scale and concentration can require adjustment according to the microbial species studied. When possible, antimicrobial therapy ought to always be preceded by a test for sensitivity, preferably one that determines the minimum inhibitory concentration of the medication which can be used for therapy.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABU-FANAS, S.H.; DRUCKER, D.B.; HULL, P.S.; REEDER, J.C.; GANGULI, L.A. Identification, and susceptibility to seven antimicrobial agents, of 61 gram-negative anaerobic rods from periodontal pockets. *J. Dent.*, v. 19, n. 1, p. 46-50, 1991.
2. ALONSO VERRI, R. Processos infecciosos agudos. Ribeirão Preto, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP, 1993. /Mimeografado/
3. AMERICAN HEART ASSOCIATION - Council On Dental Therapeutics - Preventing bacterial endocarditis: a statement for the dental professional. *J. Am. Dent. Assoc.*, v. 122, n. 2, p. 87-92, 1991.
4. ASSUMPTÃO, R.M.V.; MORITA, T. Manual de soluções reagentes e solventes (padronização, preparação, purificação). São Paulo, Edgard Blücher, 1968.
5. AVILA-CAMPOS, M.J.; FARIAS, L.M.; CARVALHO, M.A.R.; DAMASCENO, C.A.V.; CISALPINO, E.O.; COSTA, J.E. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: susceptibilidade a antimicrobianos. *Rev. Latinoam. Microbiol.*, v. 30, n. 4, p. 307-11, 1988.
6. AZEVEDO, R.V.P.O. Emprego da bacteriocinotipagem (mutacinotipagem) no rastreamento epidemiológico de estreptococos do "grupo mutans". São Paulo, 1988. Tese (Doutoramento) - Instituto de Ciências Biomédicas, USP.
7. BADDOUR, L.M.; CHRISTENSEN, G.D.; LOWRANCE, J.H.; SIMPSON, W.A. Pathogenesis of experimental endocarditis. *Rev. Infect. Dis.*, v. 11, n. 3, p. 452-63, 1989.
8. BAKER, P.J.; EVANS, R.T.; SLOTS, J.; GENCO, R.J. Antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria from the human oral cavity. *J. Dent. Res.*, v. 64, n. 10, p. 1233-44, 1985.
9. BALTCH, A.L.; PRESSMAN, H.L.; SCHAFFER, C.; SMITH, R.P.; HAMMER, M.C.; SHAYEGANI, M.; MICHELSEN, P. Bacteremia in patients undergoing oral procedures. Study following parenteral antimicrobial prophylaxis as recommended by the American Heart Association, 1977. *Arch. Intern. Med.*, v. 148, n. 5, p. 1084-88, 1988.
10. BANSAL, G.S.; NEWMAN, H.N.; WILSON, M. The survival of subgingival plaque bacteria in an amine fluoride-containing gel. *J. Clin Periodontol.*, v. 17, n. 7, p. 414-8, 1990.
11. BARCO, C.T. Prevention of infective endocarditis: a review of the medical and dental literature. *J. Periodontol.*, v. 62, n. 8, p. 510-23, 1991.
12. BARNES, J.M.; TRUETA, J. Absorption of bacteria, toxins and snake venoms from the tissues. *Lancet*, v. 1, p. 623-6, 1941.
13. BARREIRO, E.; SCASSO, J. Endocardite bacteriana. *Odont. Postgrad.*, v. 2, n. 3-4, p. 18-20, 1989.
14. BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, v. 45, n. 4, p. 493-96, 1966.
15. BAYLISS, R.; CLARKE, C.; OAKLEY, C.M.; SOMERVILLE, W.; WHITFIELD, A.G.W.; YOUNG, S.E.J. The microbiology and pathogenesis of infective endocarditis. *Br. Heart J.*, v. 50, n. 6, p. 513-9, 1983.
16. BAZERQUE, P. Farmacologia odontológica. 2. ed. Buenos Aires, Mundi, 1978.
17. BEIGHTON, D.; CARR, A.D.; OPPENHEIM, B.A. Identification of viridans streptococci associated with bacteremia in neutropenic cancer patients. *J. Med. Microbiol.*, v. 40, n. 3, p. 202-4, 1994.

18. BEIGHTON, D.; HARDIE, J.M.; WHILEY, R.A. A scheme for the identification of viridans streptococci. *J. Med. Microbiol.*, v. 35, n. 6, p. 367-72, 1991.
19. BENNETT JR., I.L.; BEESON, P.B. Bacteremia: a consideration of some experimental and clinical aspects. *Yale J. Biol. Med.*, v. 26, p. 241-62, 1954.
20. BERMUDEZ, L. E.; DIAS, L.M.; BRAZ NETO, E.; VIDAL, E. Evidência "in vitro" da produção de beta-lactamase por bactérias isoladas em pacientes com câncer. *Rev. Bras. Patol. Clin.*, v. 21, n. 2, p. 40-2, 1985.
21. BIER, O. Microbiologia e imunologia. 24. ed. São Paulo, Melhoramentos, 1985.
22. BIRAL, R.R. Estreptococos de placas dentais humanas e seu significado em relação à cárie. Piracicaba, 1968. Tese (Doutoramento) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, SP.
23. BLUMBERG, E.A.; ROBBINS, N.; ADIMORA, A.; LOWY, F.D. Persistent fever in association with infective endocarditis. *Clin. Infect. Dis.*, v. 15, n. 6, p. 983-90, 1992.
24. BOTHA, S.J.; SENEKAL, R.; STEYN, P.L.; COETZEE, W.J.C. Anaerobic bacteria in orofacial abscesses. *J. Dent. Assoc. S. Afr.*, v. 48, n. 8, p. 445-9, 1993.
25. BROWN, M.R.W.; WILLIAMS, P. The influence of environment on envelope properties of bacteria in infections. *Ann. Rev. Microbiol.*, v. 39, p. 527-56, 1985.
26. CAMARGO, L.F.A.; STRABELLI, T.M.; RIBEIRO, F.G.; MENDES, C.M.F.; UIP, D.E.; BELLOTI, G.M.; PILEGGI, F.J.C. Bacteriemias hospitalares no instituto do coração do hospital das clínicas da FMUSP: estudo retrospectivo de quatro anos consecutivos. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo*, v. 49, n. 4, p. 168-72, 1994.
27. CARLSSON, J. Presence of various types of non-haemolytic streptococci in dental plaque and in other sites of oral cavity in man. *Odontol. Rev.*, v. 18, n. 1, p. 55-74, 1967.
28. CHRAÏBI, D.I.; GIROND, S.; MICHEL, G. Evaluation of the activity of four antimicrobial agents using an in vitro rapid micromethod against oral streptococci and various bacterial strains implicated in periodontitis. *J. Periodont. Res.*, v. 25, n. 4, p. 201-6, 1990.
29. COBE, H.M. Transitory bacteremia. *Oral Surg.*, v. 7, p. 609-15, 1954.
30. CRAWFORD, J.J. Oral infections and antibiotic management. In: NEWMAN, M.G.; KORNMAN, K.S. Antibiotic/antimicrobial use in dental practice. Chicago, Quintessence, 1990, cap.1, p.22-35.
31. CROOK, D.W.; CUCHURAL JR., G.J.; JACOBUS, N.V.; TALLY, F.P. Antimicrobial resistance in oral and colonic bacteroides. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.*, v. 57, p. 55-64, 1988.
32. DAJANI, A.S.; BAWDON, R.E.; BERRY, M.C. Oral amoxicillin as prophylaxis for endocarditis: what is the optimal dose? *Clin. Infect. Dis.*, v. 18, n. 2, p. 157-60, 1994.
33. DANIEL, W.W. Applied nonparametric statistics. Boston, Houghton Mifflin Company, 1978. cap.7, p.232-6.
34. DAVEY, A.L.; ROGERS, A.H. Multiple types of the bacterium *Streptococcus mutans* in the human mouth and their intra-family transmission. *Arch. Oral Biol.*, v. 29, n. 6, p. 435-60, 1984.
35. DEBELIAN, G.J.; OLSEN, I.; TRONSTAD, L. Profiling of *Propionibacterium acnes* recovered from root canal and blood during and after endodontic treatment. *Endod. Dent. Traumatol.*, v. 8, n. 6, p. 248-54, 1992.

36. de STOPPELAAR, J.D.; van HOUTE, J.; BACKER DIRKS, O. The relationship between extracellular polysaccharide-producing streptococci and smooth surface caries in 13-years-old children. *Caries Res.*, v. 3, n. 2, p. 190-9, 1969.
37. de STOPPELAAR, J.D.; van HOUTE, J.; de MOOR, C.E. The presence of dextran-forming bacteria, resembling *Streptococcus bovis* and *Streptococcus sanguis*, in human dental plaque. *Arch. Oral Biol.*, v. 12, n. 10, p. 1199-201, 1967.
38. DOUGLAS, C.W.I. The essential features of microorganisms and the rationale for antimicrobial therapy. *Br. Dent. J.*, v. 172, n. 9, p. 339-43, 1992.
39. DOUGLAS, C.W.I.; BROWN, P.R.; PRESTON, F.E. Platelet aggregation by oral streptococci. *FEMS Microbiol. Lett.*, v. 60, n. 1-2, p. 63-7, 1990.
40. DOUGLAS, C.W.I.; HEATH, J.; HAMPTON, K.K.; PRESTON, F.E. Identity of viridans streptococci isolated from cases of infective endocarditis. *J. Med. Microbiol.*, v. 39, n. 3, p. 179-82, 1993.
41. DOUGLAS, C.W.I.; PEASE, A.A.; WHILEY, R.A. Amylase-binding as a discriminator among oral streptococci. *FEMS Microbiol. Lett.*, v. 66, n. 1, p. 193-7, 1990.
42. DUFFIN, P. R.; McGIMPSEY, J. G.; PALLISTER, M. L.; MCGOWAN, D. A. Dental care of patients susceptible to infective endocarditis. *Br. Dent. J.*, v. 173, n. 164, p. 169-72, 1992.
43. DURACK, D.T. Experimental bacterial endocarditis. IV. Structure and evolution of very early lesion. *J. Pathol.*, v. 115, n. 3, p. 81-9, 1975.
44. EVERETT, E.D.; HIRSCHMANN, J.V. Transient bacteremia and endocarditis prophylaxis. A review. *Medicine*, v. 56, n. 1, p. 61-77, 1977.
45. FACINELLI, B.; GIOVANETTI, E.; VARALDO, PE.; CASOLARI, P. Antibiotic resistance in foodborne listeria [letter]. *Lancet*, v. 338, n. 8777, p. 1272, 1991.
46. FANG, G.; KEYS, T.F.; GENTRY, L.O.; HARRIS, A.A.; RIVERA, N.; GETZ, K.; FUCHS, P.C.; GUSTAFSON, M.; WONG, E.S.; GOETZ, A.; WAGENER, M.M.; YU, V.L. Prosthetic valve endocarditis resulting from nosocomial bacteremia - a prospective, multicenter study. *Ann. Intern. Med.*, v. 119, n. 7, p. 560-7, 1993.
47. FELDER, R.S.; NARDONE, D.; PALAC, R. Prevalence of predisposing factors for endocarditis among an elderly institutionalized population. *Oral Surg.*, v. 73, n. 1, p. 30-4, 1992.
48. FERNANDES, A.V. Profilaxia da endocardite infecciosa. *J. Assoc. Bras. Odontol. Reg. Uberlândia*, v. 19, p. 2, 1994.
49. FERREIRA, R.A. Barrando o invisível. *Rev. Assoc. Paul. Cirur. Dent.*, v. 49, n. 6, p. 417-27, 1995.
50. FIEHN, N.E.; WESTERGAARD, J. Doxycycline-resistant bacteria in periodontally diseased individuals after systemic doxycycline therapy and in healthy individuals. *Oral Microbiol Immunol.*, v. 5, n. 4, p. 219-22, 1990.
51. FONSECA, A.L. Antibióticos na clínica diária. 3. ed. Rio de Janeiro, EPUME, 1988.
52. FRANCIOLI, P.; ETIENNE, J.; HOIGNÉ, R.; THYS, J.; GERBER, A. Treatment of streptococcal endocarditis with a single daily dose of ceftriaxone sodium for 4 weeks. Efficacy an outpatient feasibility. *J. Am. Med. Assoc.*, v. 267, n. 2, p. 264-67, 1992.

53. FRANKLIN, C.D. The aetiology, epidemiology, pathogenesis and changing pattern of infective endocarditis, with a note on prophylaxis. *Br. Dent. J.*, v. 172, n. 10, p. 369-73, 1992.
54. FREITAS, C.C. O fenômeno da tolerância bacteriana aos antibióticos. *Arq. Bras. Med.*, v. 65, n. 5a, p. 70s-74s, 1991.
55. FURINI, C.J.; FRIEDRICH, C.L.; GRESSLER, J.F.; BASSO, M.A.R.; RODRIGUES, A.L.; POERNER, S.C. Endocardite infecciosa: análise de 28 episódios. *Saúde-UFSM*, v. 19, n. 1-2, p. 47-54, 1993.
56. GALE, E.F.; CUNDLIFFE, E.; REYNOLDS, P.E.; RICHMOND, M.H.; WARING, M.J. The molecular basis of antibiotic action. 2. ed. London, John Wiley & Sons, 1981.
57. GENCO, R.J. Antibiotics in the treatment of human periodontal diseases. *J. Periodontol.*, v. 52, n. 9, p. 545-58, 1981.
58. GENCO, R.J. Using antimicrobial agents to manage periodontal diseases. *J. Am. Dent. Assoc.*, v. 122, n. 10, p. 30-8, 1991.
59. GIGLIO, J. A.; ROWLAND, R. W.; DALTON, H. P.; LASKIN, D. M. Suture removal-induced bacteremia: a possible endocarditis risk. *J. Am. Dent. Assoc.*, v. 123, n. 8, p. 65-70, 1992.
60. GLAUSER, M.P.; BERNARD, J.P.; MOREILLON, P.; FRANCIOLI, P. Successful single-dose amoxicillin prophylaxis against experimental streptococcal endocarditis: evidence for two mechanisms of protection. *J. Infect. Dis.*, v. 147, n. 3, p. 568-75, 1983.
61. GLEISER, R. Reconhecimento e profilaxia de pacientes suscetíveis à endocardite bacteriana. *Odontol. Mod.*, v. 9, n. 9, p. 18-20, 1982.
62. GODOY, C.V.F.; MENDES, C.M.F.; MIMIÇA, I.; OLIVEIRA, M.; SUASSUNA, I.; UZEDA, M. Estudo da suscetibilidade "in vitro" a um novo antimicrobiano (imipinem) de patógenos isolados de pacientes hospitalares em vários centros. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v. 31, n. 3, p. 169-76, 1989.
63. GOLDSTEIN, J.; MACRINA, F. L. Extrachromosomal control of antibiotic resistance. *J. Endod.*, v. 3, n. 7, p. 269-73, 1977.
64. GONÇALVES, A.J.R.; ROZENBAUM, R. Endocardite Infecciosa - parte 2. *J. Bras. Med.*, v. 67, n. 5-6, p. 85-110, 1994.
65. GREENSTEIN, G.; BERMAN, C.; JAFFIN, R. Chlorhexidine. An adjunct to periodontal therapy. *J. Periodontol.*, v. 57, n. 6, p. 370-7, 1986.
66. GREENWOOD, D. Antimicrobial chemotherapy. 2. ed. Oxford, Courier International, 1989.
67. GUNTHEROTH, G. W. How important are dental procedures as a cause of infective endocarditis? *Am. J. Cardiol.*, v. 54, n. 7, p. 797-801, 1984.
68. HALL, G.; HEDSTRÖM, S.Å.; HEIMDAHL, A.; NORD, C.E. Prophylactic administration of penicillins for endocarditis does not reduce the incidence of postextraction bacteremia. *Clin. Infect. Dis.*, v. 17, n. 2, p. 188-94, 1993.
69. HAY, D. R.; CHAMBERS, S. T.; ELLIS-PEGLER, R. B.; JONES, M. R.; LESLIE, P. N.; NEUTZE, J. M. Prevention of infective endocarditis associated with dental treatment and other medical interventions. *N. Z. Dent. J.*, v. 88, n. 393, p. 99-101, 1992.

70. HEIMDAHL, A.; HALL, G.; HEDBERG, M.; SANDBERG, H.; SÖDER, P.; TUNÉR, K.; NORD, C.E. Detection and quantitation by lysis-filtration of bacteremia after different oral surgical procedures. *J. Clin. Microbiol.*, v. 28, n. 10, p. 2205-9, 1990.
71. HELOVUO, H.; FORSSELL, K.; HAKKARAINEN, K. Oral mucosal soft tissue necrosis caused by superinfection. Report of three cases. *Oral Surg.*, v. 71, n. 5, p. 543-8, 1991.
72. HOBSON, R.S.; CLARK, J.D. Infective endocarditis associated with orthodontic treatment: a case report. *Br. J. Orthodont.*, v. 20, n. 3, p. 241-44, 1993.
73. HORNE, D.; TOMASZ, H.D. Tolerant response of *Streptococcus sanguis* to beta-lactams and other cell wall inhibitors. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v. 11, n. 5, p. 888-96, 1977.
74. HURST, J.W.; LOGUE, R.B.; RACKLEY, C.E.; SCHLANT, R.C.; SONNENBLICK, R.H.; WALLACE, A.G.; WENGER, N.K. O coração. 6.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1990.
75. ITO, I.Y.; ALBUQUERQUE Jr., R.F.; ALONSO VERRI, R. Estreptococos: modificação na técnica de identificação das cepas isoladas da cavidade oral. In: 15 Jornada Odontológica de Ribeirão Preto - USP, Ribeirão Preto, 1993. Programas e resumos. Ribeirão Preto, FORP, 1993. p. 5
76. ITO, I.Y.; BARACCHINI, O.; SALVADOR, S.L.S.; MIRANDA, V.C. Antibióticos e seu emprego. In: ALONSO VERRI, R.; MAIA CAMPOS, G.; ROCHA BARROS, V.M.; LOPES, R.A. Prática Odontológica. Rio de Janeiro, EPUME, 1979. p. 75-94.
77. ITO, I.Y.; COSTA, A.; BARACCHINI, O. Emprego de gema de ovo no isolamento de *Staphylococcus aureus*. *An. Microbiol.*, v. 16, p. 189-92, 1969.
78. ITO, I.Y.; ZELANTE, F.; FANTINATO, V. Comportamento de cepas de *Staphylococcus aureus* ante nove antibióticos, relacionando-se as concentrações inibitórias mínimas com os níveis séricos preconizados. *An. Farm. Quim. S. Paulo*, v. 20, n. 1/2, p. 243-8, 1980.
79. KAYE, D. Prophylaxis for infective endocarditis: an update. *Ann. Int. Med.*, v. 104, n. 3, p. 419-23, 1986.
80. KILLIAN, M.; MIKKELSEN, L.; HENRICHSEN, J. Taxonomic study of viridans streptococci: description of *Streptococcus gordonii* sp. nov. and emended descriptions of *Streptococcus sanguis* (White and Niven 1946), *Streptococcus oralis* (Bridge and Sneath 1982), and *Streptococcus mitis* (Andrewes and Horder 1906). *Int. J. Syst. Bacteriol.*, v. 39, n. 4, p. 471-84, 1989.
81. KINDER, S.A.; HOLT, S.C.; KORMAN, K.S. Penicillin resistance in the subgingival microbiota associated with adult periodontitis. *J. Clin. Microbiol.*, v. 23, n. 6, p. 1127-33, 1986.
82. KING, K.; HARKNESS, J.L. Infective endocarditis in the 1980s. Part I. Aetiology and diagnosis. *Med. J. Aust.*, v. 144, n. 10, p. 536, 1986.
83. KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; DOWELL JR., S.D.; SOMMERS, H.M. Diagnóstico microbiológico. Texto e atlas colorido. 2. ed. São Paulo, Panamericana, 1993.
84. KNOX, K.W.; HUNTER, N. The hole of oral bacteria in the pathogenesis of infective endocarditis. *Aust. Dent. J.*, v. 36, n. 4, p. 286-92, 1991.

85. KREUZPAINTNER, G.; HORSTKOTTE, D.; HEYLL, A.; LÖSSE, B.; STROHMEYER, G. Increased risk of bacterial endocarditis in inflammatory bowel disease. *Am. J. Med.*, v. 92, n. 4, p. 391-5, 1992.
86. 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, n. 1, p. 89-95, 1991.
87. LEME, I.L.; SESSO, R.C.C.; CASTELO FILHO, A.; BEGLIOMINI, S.R.; DRAIBE, S.; AJZEN, H. Perfil de sensibilidade de 147 cepas de "S. aureus" isoladas de pacientes em diálise peritoneal ambulatorial contínua. *Rev. Paul. Med.*, v. 107, n. 4,5,6, p. 219-22, 1989.
88. LEVINER, E.; TZUKERT, A.; WOLF, A.; SHAULI, S.; SELA, M.N. Hospital personnel with penicillin-resistant *Streptococcus viridans*. *Oral Surg.*, v. 58, n. 4, p. 394-6, 1984.
89. LEWIS, M.A.; MacFARLANE, T.W.; McGOWAN, D.A. A microbiological and clinical review of the acute dentoalveolar abscess. *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.*, v. 28, n. 6, p. 359-66, 1990.
90. LEWIS, M.A.; MacFARLANE, T.W.; McGOWAN, D.A. Reliability of sensitivity testing of primary culture of acute dentoalveolar abscess. *Oral Microbiol. Immunol.*, v. 3, n. 4, p. 177-80, 1988.
91. LOWRANCE, J.H.; HASY, D.L.; SIMPSON, W.A. Adherence of *Streptococcus sanguis* to conformationally specific determinants in fibronectin. *Infect. Immun.*, v. 56, n. 9, p. 2279-85, 1988.
92. LOWY, F.D.; NEUHAUS, E.G.; CHANG, D.S.; STEIGBIGEL, N.H. Penicillin therapy of experimental endocarditis induced by tolerant *Streptococcus sanguis* and nontolerant *Streptococcus mitis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v. 23, n. 1, p. 67-73, 1983.
93. LUDWIG, W.; WEIZENEGGER, M.; BETZL, E.; LEIDEL, E.; LUDVIGSEN, A.; MÖLLENHOFF, D.; WENZIG, P.; SCHLEIFER, K.H. Complete nucleotide sequences of seven eubacterial genes coding for the elongation factor Tu: functional, structural and phylogenetic evaluations. *Arch. Microbiol.*, v. 153, n. 3, p. 241-7, 1990.
94. LUNDBERG, C.; NORD, C. Streptococcal throat infections: still a complex clinical problem. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.*, v. 57, p. 7-11, 1988.
95. MacFARLANE, T.W.; SAMARANAYAKE, L.P. Clinical oral microbiology. London, Hartnolls, 1989.
96. MAGNUSSON, I.; MARKS, R.G.; CLARK, W.B.; WALKER, C.B.; LOW, S.B.; McARTHUR, W.P. Clinical, microbiological and immunological characteristics of subjects with "refractory" periodontal disease. *J. Clin Periodontol.*, v. 18, n. 5, p. 291-9, 1991.
97. MANDELL, G.L.; SANDE, M.A. Fármacos antimicrobianos. In: GILMAN, A.G.; RALL, T.W.; NIES, A.S.; TAYLOR, P. As bases farmacológicas da terapêutica. 8. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1991, cap.46, p.707-27, cap.48, p.741-59.
98. MANFORD, M.; MATHARU, J.; FARRINGTON, K. Infective endocarditis in a district general hospital. *J. R. Soc. Med.*, v. 85, n. 5, p. 262-6, 1992.
99. MANNING, J.E.; HUME, E.B.H.; HUNTER, N.; KNOX, K.W. An appraisal of the virulence factors associated with streptococcal endocarditis. *J. Med. Microbiol.*, v. 40, n. 2, p. 110-114, 1994.

100. MANSUR, A.J.; GRINBERG, M.; LEMOS DA LUZ, P.; BELLOTTI, G. The complications of infective endocarditis. *Arch. Intern. Med.*, v. 152, n. 12, p. 2428-32, 1992.
101. MARSH, P.D.; MARTIN, M.V. Oral microbiology. 3. ed. London, Chapman & Hall, 1992.
102. MARTIN, M.V.; HARDY, P. Two cases of oral infection by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Br. Dent. J.*, v. 170, n. 2, p. 63-4, 1991.
103. MGHIR, A.S.; CREMIEUX, A.C.; JAMBOU, R.; MUFFAT-JOLY, M.; POCIDALO, J.J.; CARBON, C. Dextranase enhances antibiotic efficacy in experimental viridans streptococcal endocarditis. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v. 38, n. 5, p. 953-8, 1994.
104. MIELE, A.; GOLDSTEIN, B.P.; BANDERA, M.; JARVIS, C.; RESCONI, A.; WILLIAMS, R.J. Differential susceptibilities of enterococcal species to elfamycin antibiotics. *J. Clin. Microbiol.*, v. 32, n. 8, p. 2016-18, 1994.
105. MIRANDA, V.C. Verificação de estreptococos em placa dental, sulco gengival e língua, de crianças com denteição mista e permanente. Suas relações com o índice de cárie e flúor. Araraquara, 1977. Tese (Livre Docência) - Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP.
106. MONTELLI, A.C. Evolução da sensibilidade bacteriana aos antimicrobianos no Brasil (1980-1986). *Rev. Bras. Med.*, v. 45, n. 4, p. 103-6, 1988.
107. MORAES, S.C. Antibióticos em odontologia. In: FONSECA, A.L. Antibióticos na clínica diária. 3. ed. Rio de Janeiro, EPUME, 1988. cap.33, p.441-54.
108. MORISHIMA, T.; SASAKI, J. Transient bacteremia after tooth extraction. *Dent. Japan*, v. 32, p. 131-2, 1995.
109. MOTTI, E.F.; AMATO NETO, V. Padrões de resistência a antimicrobianos em bacilos gram-negativos isolados de pacientes em unidade de terapia intensiva. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo*, v. 47, n. 3, p. 131-7, 1992.
110. NASCIMENTO, L.O.T.; MENDES, C.M.F.; SAVAIA, M.A.; ROCHA, A.S. Avaliação da resistência bacteriana numa unidade de terapia intensiva: análise de 29 antibióticos. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo*, v. 43, n. 6, p. 272-8, 1988.
111. NCCLS - NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, Publication M7-T, 1983.
112. NEWMAN, H. N. Focal infection revisited - the dentist as physician. *J. Dent. Res.*, v. 71, n. 11, p. 1854, 1992.
113. NEWMAN, M.G.; HULEM, C.; COLGATE, J.; ANSELMO, C. Antibacterial susceptibility of plaque bacteria. *J. Dent. Res.*, v. 58, n. 7, p. 1722-32, 1979.
114. NEWMAN, M.G.; KORNMAN, K.S. Antibiotic/antimicrobial use in dental practice. Chicago, Quintessence, 1990.
115. NIKIFORUK, G. Understanding Dental Caries - 1 Etiology and Mechanisms - Basic and Clinical Aspects. Basel, Karger, 1985. cap. 5, p. 126.
116. NIVEN Jr., C.F.; SMILEY, K.L.; SHERMAN, J.M. The hydrolysis of arginine by streptococci. *J. Bacteriol.*, v. 43, n. 6, p. 651-60, 1942.

117. NORD, C.E.; HEIMDAHL, A.; TUNER, K. Beta-lactamase producing anaerobic bacteria in the oropharynx and their clinical relevance. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.*, v. 57, p. 50-4, 1988.
118. NORRIS, S.; NIGHTINGALE, C. H.; MANDELL, G.L. Table of antimicrobial agent pharmacology. In: MANDELL, G.L.; DOUGLAS, R.G.; BENNETT, J.E. Principles and practice of infectious diseases. 3. ed. New York, Churchill Livingstone, 1990. cap.38, p.434-60.
119. O'CONNOR, B.C.; NEWMAN, H.N.; WILSON, M. Susceptibility and resistance of plaque bacteria to minocycline. *J. Periodontol.*, v. 61, n. 4, p. 228-33, 1990.
120. OLIVEIRA, C.M. Isolamento e caracterização de Streptococcus de placa dental. Rio de Janeiro, 1974. Tese (Doutoramento) - Instituto de Microbiologia, UFRJ.
121. OWEN, M.K. Prevalence of oral methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an institutionalized veterans population. *Spec. Care Dentist.*, v. 14, n. 2, p. 75-9, 1994.
122. PALLASCH, T.J. A critical appraisal of antibiotic prophylaxis. *Int. Dent. J.*, v. 39, n. 3, p. 183-96, 1989.
123. PETERSON, L.J. Antibiotics for oral and maxillofacial infections. In: NEWMAN, M.G.; KORNMAN, K.S. Antibiotic/antimicrobial use in dental practice. Chicago, Quintessence, 1990. cap.13, p.158-71.
124. RAMS, T.E.; BABALOLA, O.O.; SLOTS, J. Subgingival occurrence of enteric rods, yeasts and staphylococci after systemic doxycycline therapy. *Oral Microbiol. Immunol.*, v. 5, n. 3, p. 166-8, 1990.
125. RIBEIRO, F.M.; RIOS-GONÇALVES, A.J.; GOUVEIA, W. Estafilococos. Uma crescente etiologia na endocardite infecciosa. *Arq. Bras. Med.*, v. 67, n. 1, p. 19-21, 1993.
126. RITZAU, M.; HILLERUP, S.; BRANEBJERG, P. E.; ERSBEL, B.K. Does metronidazole prevent alveolitis sicca dolorous? A double-blind, placebo controlled clinical study. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, v. 21, n. 5, p. 299-302, 1992.
127. ROBBINS, S.L.; COTRAN, R.S.; KUMAR, V. Robbins patologia estrutural e funcional. 4.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1991.
128. ROBERTS, M.C.; MONCLA, B.J. Tetracycline resistance and TetM in oral anaerobic bacteria and *Neisseria perflava*-N. sicca. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v. 32, n. 8, p. 1271-3, 1988.
129. ROCHA, H.; ZULIANI, M.E.; TRABULSI, L.R. Antibiograma. *Rev. Microbiol.*, v. 3, n. 1, p. 51-60, 1972.
130. RODRIGUEZ-NORIEGA, E.; GARCIA-GARCIA, A.; PONCE de LEON, A.; QUINTERO-PEREZ, N.P.; PLASCENCIA-HERNANDEZ, A.; ORTIZ-COVARRUBIAS, A. Streptococcal infections and their sequelae in the upper respiratory tract. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.*, v. 57, p. 12-9, 1988.
131. SALVADOR, S.L.S. Incidência de Staphylococcus aureus nas fossas nasais, orofaringe e saliva de indivíduos sadios. Caracterização das cepas por meio da fagotipagem e da resistência a antibióticos e ao íon mercúrio. São Paulo, 1981. Tese (Doutoramento) - Instituto de Ciências Biomédicas, USP.
132. SANDRE, R.M.; SHAFRAN, S.D. Infective endocarditis: review of 135 cases over 9 years. *Clin. Infect. Dis.*, v. 22, n. 1, p. 276-86, 1996.

133. SANZ, M.; NEWMAN, M.G. Individual drugs. In: NEWMAN, M.G.; KORNMAN, K.S. Antibiotic/antimicrobial use in dental practice. Chicago, Quintessence, 1990. cap. 5, p. 68-88.
134. SENTILHES, C.; BERNARD, H. Prophylaxie de l'endocardite infectieuse. *Rev. Odonto-Stomatol.*, v. 22, n. 4, p. 325-32, 1993.
135. SHERMAN, V.B.D.; MCGOWAN, V.; SNEATH, P.H.A. Approved lists of bacterial names. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, v. 30, n. 3, p. 225-420, 1980.
136. SHKLAIR, I.L.; KEENE, H.J. A biochemical scheme for the separation of the five varieties of *Streptococcus mutans*. *Arch. Oral Biol.*, v. 19, n. 11, p. 10-79, 1976.
137. SILVER, J. G.; MARTIN A. W.; McBRIDE, B. C. Experimental transient bacteraemias in human subjects with clinically healthy gingivae. *J. Clin. Periodontol.*, v. 6, n. 1, p. 33-6, 1979.
138. SIMMONS, N.A.; CAWSON, R.A.; CLARKE, C.A.; EYKYN, S.J.; GEDDES, A.M.; LITTLER, W.A.; MCGOWAN, D.A.; OAKLEY, C.M.; SHANSON, D.C. Prophylaxis of infective endocarditis (letter). *Lancet*, v. 1, n. 8492, p. 1267, 1986.
139. SKLAVOUNOS, A.; LEGAKIS, N.J.; IOANNIDOU, H.; PATRIKIOU, A. Anaerobic bacteria in dentoalveolar abscesses. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, v. 15, n. 3, p. 288-91, 1986.
140. SMITH, A.J.; ADAMS, D. The dental status and attitudes of patients at risk from infective endocarditis. *Br. Dent. J.*, v. 174, n. 2, p. 59-64, 1993.
141. SOLÉ-VERNIN, C. Preservação de culturas microbianas por processos simples, com especial referência aos estreptococos. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v. 3, n. 1, p. 1-8, 1961.
142. SOLÉ-VERNIN, C.; UTHIDA-TANAKA, A.M. A prova de Moore conjugada ao antibiograma na identificação das amostras hospitalares e não hospitalares de *S. aureus*. *Hospital*, v. 75, n. 6, p. 163-206, 1969.
143. STEERS, E.; FOLTZ, E.L.; GRAVES, V.S. An inocula replicating apparatus for continue testing of bacterial susceptibility to antibiotics. *Antibiot. Chemother.*, v. 9, n. 5, p. 307-11, 1959.
144. SUASSUNA, I.; ALVES, E.M. Estudo comparativo da sensibilidade bacteriana. *Arq. Bras. Med.*, v. 65, n. 1, p. 79-81, 1991.
145. SUTTER, V.L.; FINEGOLD, S.M. Susceptibility of anaerobic bacteria to 23 antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v. 10, n. 4, p. 736-52, 1976.
146. TABAQCHALI, S. Anaerobic infections in the head and neck region. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.*, v. 57, p. 24-34, 1988.
147. TAGG, J.R.; RAGLAND, N.L. Application of BLIS typing to studies of the survival on surfaces of salivary streptococci and staphylococci. *J. Appl. Bacteriol.*, v. 71, n. 4, p. 339-42, 1991.
148. TAN, S. Y.; GILL, G. Selection of dental procedures for antibiotic prophylaxis against infective endocarditis. *J. Dent.*, v. 20, n. 6, p. 375-6, 1992.
149. TAVARES, W. Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos. São Paulo, Atheneu, 1994.

150. TAYLOR, C.O.; CARTER, J.B. Buccal cellulitis in an infant due to ampicillin-resistant *Hemophilus influenzae*. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v. 44, n. 3, p. 234-6, 1986.
151. TERPENNING, M.; WOOLFOLK, M.; LOESCHE, W. Infective endocarditis of oral origin. *J. Dent. Res.*, v. 73, n. 7, p. 238, 1994.
152. THURMOND, J.M.; BROWN, A.T.; SIMS, R.E.; FERRETTI, G.A.; RAYBOULD, T.P.; LILLICH, T.T. Oral *Candida albicans* in bone marrow transplant patients given chlorhexidine rinses: occurrence and susceptibilities to the agent. *Oral Surg.*, v. 72, n. 3, p. 291-5, 1991.
153. van der BIJL, P. Prevention of infective endocarditis: an update. *J. Dent. Assoc. S. Afr.*, v. 47, n. 3, p. 101-3, 1992.
154. van PALENSTEIN-HELDERMAN, W. H.; IJSSELDIJK, M.; HUIS in't VELD, J.H.J. A selective medium for two major subgroups of the bacterium *Streptococcus mutans* isolated from human dental plaque and saliva. *Arch. Oral Biol.*, v. 28, n. 7, p. 599-603, 1983.
155. VAUGHN, R.H.; LEVINE, M. Differentiation of the "intermediate" coli-like bacteria. *J. Bacteriol.*, v. 44, n. 4, p. 487-505, 1942.
156. VIEIRA, A. R.; MODESTO, A. Foco dentário. *J. Bras. Med.*, v. 66, n. 6, p. 182-5, 1994.
157. WADE, W.G.; ADDY, M. In vitro activity of a chlorhexidine-containing mouthwash against subgingival bacteria. *J. Periodontol.*, v. 60, n. 9, p. 521-5, 1989.
158. WAHL, M.J.; WAHL, P.T. Prevention of infective endocarditis: an update for clinicians. *Quintessence Int.*, v. 24, n. 3, p. 171-5, 1993.
159. WALKER, C.; GORDON, J. The effect of clindamycin on the microbiota associated with refractory periodontitis. *J. Periodontol.*, v. 1, n. 11, p. 692-8, 1990.
160. WATANAKUNAKORN, C.; PANTELAKIS, J. Alpha-hemolytic streptococcal bacteremia: a review of 203 episodes during 1980-1991. *Scand. J. Infect. Dis.*, v. 25, n. 4, p. 403-8, 1993.
161. WHITTENBURY, R. Hydrogen peroxide formation and catalase activity in the lactic acid bacteria. *J. Gen. Microbiol.*, v. 35, n. 1, p. 13-26, 1964.
162. WHYMAN, R.A.; MacFADYEN, E.E. Dens in dente associated with infective endocarditis. *Oral Surg.*, v. 78, n. 1, p. 47-50, 1994.
163. WILLIAMS, B.L.; OSTERBERG, S.K.Å.; JORGENSEN, J. Subgingival microflora of periodontal patients on tetracycline therapy. *J. Clin. Periodontol.*, v. 6, n. 4, p. 210-21, 1979.
164. WILLIAMS, P. Role of the cell envelope in bacterial adaptation to growth *in vivo* infections. *Biochemie*, v. 70, n. 8, p. 987-1011, 1988.
165. YAMALIK, M.K.; YÜCETAS, S.; ABBASOGLU, U. Effects of various antiseptics on bacteremia following tooth extraction. *J. Nihon Univ. Sch. Dent.*, v. 34, n. 1, p. 28-33, 1992.
166. YANOSKY, A. Rheumatic heart disease Rheumatic fever. /Internet, <http://www.amhrt.org/pubs/scipub/endoasc.htm>, Nov., 1995./
167. ZEBRAL, A.A.; ETHER, S.S. Quimioprofilaxia na prevenção da endocardite bacteriana de origem dentária. *Odontol. Mod.*, v. 15, n. 1, p. 26-39, 1988.

168. ZEBRAL, A.A.; ETHER, S.S.; VIEIRA, M.M. Novas recomendações para a quimioprofilaxia na prevenção das endocardites bacterianas de origem dentária. *Odontol. Mod.*, v. 19, n. 2, p. 23-30, 1992.

APÊNDICE

Cepas de *Streptococcus oralis*, originárias da saliva, inibidas por diferentes concentrações de três antibióticos e postos atribuídos a cada inibição.

Antibióticos/ Cepas	Amoxicilina	Postos	Eritromicina	Postos	Tetraciclina	Postos
1	0,015	1,5	0,015	1,5	0,500	3
2	0,015	1,5	0,015	1,5	1,000	3
3	0,031	2	0,015	1	1,000	3
4	0,031	2	0,015	1	1,000	3
5	0,062	2	0,015	1	1,000	3
6	0,062	2	0,015	1	1,000	3
7	0,062	2	0,015	1	1,000	3
8	0,062	2	0,015	1	1,000	3
9	0,062	2	0,015	1	1,000	3
10	0,062	2	0,015	1	1,000	3
11	0,125	2	0,015	1	2,000	3
12	0,125	2	0,015	1	2,000	3
13	0,125	2	0,015	1	8,000	3
14	0,125	1	1,000	2	16,000	3
15	0,125	1	2,000	2	64,000	3
16	0,250	1	4,000	2	128,000	3
TOTAIS	—	28	—	20	—	48

$$L = 20 + (2*28) + (3*48) = 220$$

$$\alpha = 0,001$$

Cepas de *Streptococcus oralis*, originárias da placa dental, inibidas por diferentes concentrações de três antibióticos e postos atribuídos a cada inibição.

Antibióticos/ Cepas	Amoxicilina	Postos	Eritromicina	Postos	Tetraciclina	Postos
1	0,015	1,5	0,015	1,5	0,250	3
2	0,015	1,5	0,015	1,5	0,500	3
3	0,031	2	0,015	1	0,500	3
4	0,031	2	0,015	1	0,500	3
5	0,031	2	0,015	1	0,500	3
6	0,031	2	0,015	1	1,000	3
7	0,031	2	0,015	1	1,000	3
8	0,031	2	0,015	1	1,000	3
9	0,031	2	0,015	1	1,000	3
10	0,031	2	0,015	1	1,000	3
11	0,031	2	0,015	1	1,000	3
12	0,062	2	0,015	1	1,000	3
13	0,062	2	0,015	1	1,000	3
14	0,062	2	0,015	1	1,000	3
15	0,062	2	0,015	1	1,000	3
16	0,062	2	0,015	1	1,000	3
17	0,062	2	0,015	1	1,000	3
18	0,062	2	0,015	1	1,000	3
19	0,062	2	0,015	1	1,000	3
20	0,125	2	0,015	1	2,000	3
21	0,125	2	0,015	1	2,000	3
22	0,125	2	0,015	1	2,000	3
23	0,250	2	0,015	1	8,000	3
24	0,250	2	0,031	1	32,000	3
25	0,250	1	0,500	2	32,000	3
26	0,250	1	2,000	2	64,000	3
27	0,250	1	2,000	2	64,000	3
28	0,250	1	4,000	2	128,000	3
29	0,250	1	4,000	2	128,000	3
30	0,250	1	4,000	2	128,000	3
31	0,500	1	4,000	2	128,000	3
TOTAIS	—	54	—	39	—	93

$$L = 39 + (2*54) + (3*93) = 426$$

$$L = 426; k = 3; b = 31$$

$$z = \frac{L - [bk(k+1)^2 / 4]}{\sqrt{b(k^3 - k)^2 / 144(k-1)}}$$

$$z \approx 3,43$$

$$\alpha = 0,003$$

Cepas de *Streptococcus* do grupo sanguis, originárias da saliva, inibidas por diferentes concentrações de três antibióticos e postos atribuídos a cada inibição.

Antibióticos/ Cepas	Amoxicilina	Postos	Eritromicina	Postos	Tetraciclina	Postos
1	0,031	2	0,015	1	0,500	3
2	0,250	2	0,015	1	0,500	3
3	0,250	2	0,015	1	1,000	3
4	0,250	2	0,015	1	1,000	3
5	0,250	2	0,015	1	1,000	3
6	0,250	2	0,015	1	2,000	3
7	0,250	2	0,015	1	32,000	3
8	0,250	2	0,015	1	64,000	3
9	0,250	2	0,015	1	64,000	3
10	0,500	2	0,015	1	128,000	3
11	0,500	1	4,000	2	128,000	3
12	0,500	1	4,000	2	128,000	3
13	0,500	1	8,000	2	128,000	3
TOTAIS	—	23	—	16	—	39

$$L = 16 + (2*23) + (3*39) = 179$$

$$\alpha < 0,001$$

Cepas de *Streptococcus* do grupo sanguis, originárias da placa dental, inibidas por diferentes concentrações de três antibióticos e postos atribuídos a cada inibição.

Antibióticos/ Cepas	Amoxicilina	Postos	Eritromicina	Postos	Tetraciclina	Postos
1	0,015	1,5	0,015	1,5	0,500	3
2	0,031	2	0,015	1	1,000	3
3	0,250	2	0,015	1	1,000	3
4	0,250	2	0,015	1	1,000	3
5	0,250	2	0,015	1	1,000	3
6	0,250	2	0,015	1	1,000	3
7	0,250	2	0,015	1	1,000	3
8	0,250	2	0,015	1	1,000	3
9	0,500	2	0,015	1	1,000	3
10	0,500	2	0,015	1	64,000	3
11	0,500	1	1,000	2	64,000	3
12	0,500	1	2,000	2	128,000	3
TOTAIS	—	21,5	—	14,5	—	36

$$L = 14,5 + (2*21,5) + (3*36) = 165,5$$

$$\alpha < 0,001$$

Cepas de *Streptococcus mutans*, originárias da saliva, inibidas por diferentes concentrações de três antibióticos e postos atribuídos a cada inibição.

Antibióticos/ Cepas	Amoxicilina	Postos	Eritromicina	Postos	Tetraciclina	Postos
1	0,031	2	0,015	1	0,500	3
2	0,031	2	0,015	1	0,500	3

3	0,031	1,5	0,031	1,5	0,500	3
4	0,062	2	0,031	1	1,000	3
5	0,062	2	0,031	1	1,000	3
6	0,062	2	0,031	1	1,000	3
7	0,062	2	0,031	1	1,000	3
8	0,062	2	0,031	1	1,000	3
9	0,062	2	0,031	1	1,000	3
10	0,062	2	0,031	1	1,000	3
11	0,062	2	0,031	1	1,000	3
12	0,062	2	0,031	1	1,000	3
13	0,062	2	0,031	1	1,000	3
14	0,062	2	0,031	1	1,000	3
15	0,062	2	0,031	1	1,000	3
16	0,062	2	0,031	1	1,000	3
17	0,062	2	0,031	1	1,000	3
18	0,062	2	0,031	1	1,000	3
19	0,062	2	0,031	1	1,000	3
20	0,062	2	0,031	1	2,000	3
21	0,062	2	0,031	1	2,000	3
22	0,062	2	0,031	1	2,000	3
23	0,062	2	0,031	1	2,000	3
24	0,062	2	0,031	1	2,000	3
25	0,062	2	0,031	1	2,000	3
26	0,062	2	0,031	1	2,000	3
27	0,062	2	0,031	1	2,000	3
28	0,062	2	0,031	1	2,000	3
29	0,062	2	0,031	1	2,000	3
30	0,062	2	0,031	1	2,000	3
31	0,062	2	0,031	1	2,000	3
32	0,125	2	0,031	1	32,000	3
33	0,125	2	0,031	1	32,000	3
34	0,125	2	0,031	1	64,000	3
TOTAIS	—	67,5	—	34,5	—	102

$$L = 34,5 + (2*67,5) + (3*102) = 475,5$$

$$L = 475,5; k = 3; b = 34$$

$$z = \frac{L - [bk(k+1)^2 / 4]}{\sqrt{b(k^3 - k)^2 / 144(k-1)}}$$

$$z \approx 4,09$$

$$\alpha < 0,001$$

Cepas de *Streptococcus mutans*, originárias da placa dental, inibidas por diferentes concentrações de três antibióticos e postos atribuídos a cada inibição.

Antibióticos/ Cepas	Amoxicilina	Postos	Eritromicina	Postos	Tetraciclina	Postos
1	0,031	2	0,015	1	0,500	3
2	0,031	2	0,015	1	0,500	3
3	0,062	2	0,015	1	0,500	3
4	0,062	2	0,031	1	0,500	3
5	0,062	2	0,031	1	1,000	3
6	0,062	2	0,031	1	1,000	3
7	0,062	2	0,031	1	1,000	3
8	0,062	2	0,031	1	1,000	3
9	0,062	2	0,031	1	1,000	3
10	0,062	2	0,031	1	1,000	3
11	0,062	2	0,031	1	1,000	3
12	0,062	2	0,031	1	1,000	3
13	0,062	2	0,031	1	1,000	3
14	0,062	2	0,031	1	1,000	3
15	0,062	2	0,031	1	1,000	3

16	0,062	2	0,031	1	1,000	3
17	0,062	2	0,031	1	1,000	3
18	0,062	2	0,031	1	1,000	3
19	0,062	2	0,031	1	1,000	3
20	0,062	2	0,031	1	1,000	3
21	0,062	2	0,031	1	1,000	3
22	0,062	2	0,031	1	2,000	3
23	0,062	2	0,031	1	2,000	3
24	0,062	2	0,031	1	2,000	3
25	0,062	2	0,031	1	2,000	3
26	0,062	2	0,031	1	2,000	3
27	0,062	2	0,031	1	2,000	3
28	0,062	2	0,031	1	2,000	3
29	0,062	2	0,031	1	2,000	3
30	0,062	2	0,031	1	2,000	3
31	0,062	2	0,031	1	2,000	3
32	0,125	2	0,031	1	2,000	3
33	0,125	2	0,031	1	2,000	3
34	0,125	2	0,031	1	2,000	3
35	0,125	2	0,031	1	32,000	3
TOTAIS	—	70	—	35	—	105

$$L = 35 + (2*70) + (3*105) = 490$$

$$L = 490; k = 3; b = 35$$

$$z = \frac{L - [bk(k+1)^2 / 4]}{\sqrt{b(k^3 - k)^2 / 144(k-1)}}$$

$$z \approx 4,18$$

$$\alpha < 0,001$$

Cepas de *Streptococcus sobrinus*, originárias da saliva, inibidas por diferentes concentrações de três antibióticos e postos atribuídos a cada inibição.

Antibióticos/ Cepas	Amoxicilina	Postos	Eritromicina	Postos	Tetraciclina	Postos
1	0,031	1,5	0,031	1,5	1,000	3
2	0,031	1,5	0,031	1,5	1,000	3
3	0,031	1,5	0,031	1,5	1,000	3
4	0,031	1,5	0,031	1,5	1,000	3
5	0,031	1,5	0,031	1,5	1,000	3
6	0,031	1,5	0,031	1,5	1,000	3
7	0,031	1,5	0,031	1,5	1,000	3
8	0,031	1,5	0,031	1,5	2,000	3
9	0,031	1,5	0,031	1,5	2,000	3
10	0,031	1,5	0,031	1,5	2,000	3
11	0,031	1,5	0,031	1,5	2,000	3
12	0,062	2	0,031	1	4,000	3
TOTAIS	—	18,5	—	17,5	—	36

$$L = 17,5 + (2*18,5) + (3*36) = 162,5$$

$$\alpha < 0,001$$

Cepas de *Streptococcus sobrinus*, originárias da placa dental, inibidas por diferentes concentrações de três antibióticos e postos atribuídos a cada inibição.

Antibióticos/ Cepas	Amoxicilina	Postos	Eritromicina	Postos	Tetraciclina	Postos
1	0,031	2	0,015	1	1,000	3
2	0,031	1,5	0,031	1,5	1,000	3
3	0,031	1,5	0,031	1,5	1,000	3
4	0,031	1,5	0,031	1,5	1,000	3

5	0,031	1,5	0,031	1,5	1,000	3
6	0,031	1,5	0,031	1,5	2,000	3
7	0,031	1,5	0,031	1,5	2,000	3
8	0,062	2	0,031	1	2,000	3
9	0,062	2	0,031	1	2,000	3
10	0,062	2	0,031	1	2,000	3
TOTAIS	—	17	—	13	—	30

$$L = 13 + (2*17) + (3*30) = 137$$

$$\alpha < 0,001$$

Cepas de *Staphylococcus aureus*, originárias da saliva, inibidas por diferentes concentrações de três antibióticos e postos atribuídos a cada inibição.

Antibióticos/ Cepas	Amoxicilina	Postos	Eritromicina	Postos	Tetraciclina	Postos
1	0,062	1,5	0,062	1,5	0,500	3
2	0,062	1,5	0,062	1,5	0,500	3
3	0,062	1,5	0,062	1,5	0,500	3
4	0,250	2	0,062	1	0,500	3
5	0,250	2	0,062	1	0,500	3
6	0,500	2,5	0,062	1	0,500	2,5
7	1,000	3	0,062	1	0,500	2
8	1,000	3	0,062	1	0,500	2
9	1,000	3	0,062	1	0,500	2
10	1,000	3	0,062	1	0,500	2
11	1,000	3	0,062	1	0,500	2
12	2,000	3	0,062	1	0,500	2
13	2,000	3	0,062	1	0,500	2
14	2,000	3	0,062	1	0,500	2
15	2,000	3	0,062	1	0,500	2
16	2,000	3	0,062	1	0,500	2
17	2,000	3	0,062	1	0,500	2
18	2,000	3	0,062	1	1,000	2
19	2,000	3	0,062	1	1,000	2
20	2,000	2	0,062	1	16,000	3
21	2,000	2	0,062	1	16,000	3
22	2,000	2	0,062	1	16,000	3
23	2,000	2	0,062	1	32,000	3
24	2,000	2	0,500	1	64,000	3
25	2,000	2	1,000	1	64,000	3
26	2,000	1	8,000	2	64,000	3
27	4,000	1	128,000	3	64,000	2
28	4,000	1	128,000	3	64,000	2
29	8,000	1	128,000	3	64,000	2
TOTAIS	—	66	—	37,5	—	70,5

$$L = 37,5 + (2*66) + (3*70,5) = 381$$

$$L = 381; k = 3; b = 29$$

$$z = \frac{L - [bk(k+1)^2 / 4]}{\sqrt{b(k^3 - k)^2 / 144(k-1)}}$$

$$z \approx 2,17$$

$$\alpha = 0,02$$

Cepas de *Staphylococcus aureus*, originárias da placa dental, inibidas por diferentes concentrações de três antibióticos e postos atribuídos a cada inibição.

Antibióticos/ Cepas	Amoxicilina	Postos	Eritromicina	Postos	Tetraciclina	Postos
1	2,000	3	0,031	1	0,500	2
2	8,000	3	0,250	1	0,500	2
TOTAIS	—	6	—	2	—	4

$$L = 2 + (2*4) + (3*6) = 28$$

$$\alpha = 0,05$$

Identificação da amostra: Percentuais de inibição e probitos das cepas de *Streptococcus oralis*

Dose	x 1000	log	Amoxicilina				Eritromicina				Tetraciclina			
			Saliva		Placa		Saliva		Placa		Saliva		Placa	
			morte s (%)	Probito										
0,015	15	1,18	12,5	3,9	6,5	3,5	81,3	5,9	74,2	5,7	0,0	—	0,0	—
0,031	31	1,49	25,0	4,3	35,5	4,6	81,3	5,9	77,4	5,8	0,0	—	0,0	—
0,062	62	1,79	62,5	5,3	61,3	5,3	81,3	5,9	77,4	5,8	0,0	—	0,0	—
0,125	125	2,10	93,8	6,5	71,0	5,6	81,3	5,9	77,4	5,8	0,0	—	0,0	—
0,250	250	2,40	100,0	—	96,8	6,9	81,3	5,9	77,4	5,8	0,0	—	3,2	3,2
0,500	500	2,70			100,0	—	81,3	5,9	80,6	5,9	6,3	3,5	16,1	4,0
1,000	1000	3,00					87,5	6,2	80,6	5,9	62,5	5,3	61,3	5,3
2,000	2000	3,30					93,8	6,5	87,1	6,1	75,0	5,7	71,0	5,6
4,000	4000	3,60					100,0	—	100,0	—	75,0	5,7	71,0	5,6
8,000	8000	3,90									81,3	5,9	74,2	5,7
16,000	16000	4,20									87,5	6,2	74,2	5,7
32,000	32000	4,51									87,5	6,2	80,6	5,9
64,000	64000	4,81									93,8	6,5	87,1	6,1
128,000	128000	5,11									100,0	—	100,0	—

Identificação da amostra: Percentuais de inibição e probitos das cepas de estreptococos do grupo sanguis

Dose	x 1000	log	Amoxicilina				Eritromicina				Tetraciclina			
			Saliva		Placa		Saliva		Placa		Saliva		Placa	
			morte s (%)	Probito										
0,015	15	1,18	0,0	—	8,3	3,6	76,9	5,7	83,3	6,0	0,0	—	0,0	—
0,031	31	1,49	7,7	3,6	16,7	4,0	76,9	5,7	83,3	6,0	0,0	—	0,0	—
0,062	62	1,79	7,7	3,6	16,7	4,0	76,9	5,7	83,3	6,0	0,0	—	0,0	—
0,125	76,9	2,10	7,7	3,6	16,7	4,0	76,9	5,7	83,3	6,0	0,0	—	0,0	—
0,250	250	2,40	69,2	5,5	66,7	4,0	76,9	5,7	83,3	6,0	0,0	—	0,0	—
0,500	500	2,70	100,0	—	100,0	—	76,9	5,7	83,3	6,0	15,4	4,0	8,3	3,6
1,000	1000	3,00					76,9	5,7	91,7	6,4	38,5	4,7	75,0	5,7
2,000	2000	3,30					76,9	5,7	100,0	—	46,2	4,9	75,0	5,7
4,000	4000	3,60					92,3	6,4			46,2	4,9	75,0	5,7
8,000	8000	3,90					100,0	—			46,2	4,9	75,0	5,7
16,000	16000	4,20									46,2	4,9	75,0	5,7
32,000	32000	4,51									53,8	5,1	75,0	5,7
64,000	64000	4,81									69,2	5,5	91,7	6,4
128,000	128000	5,11									100,0	—	100,0	—

Identificação da amostra: Percentuais de inibição e probitos das cepas de *Streptococcus mutans*

Dose	x 1000	log	Amoxicilina		Eritromicina		Tetraciclina							
			Saliva	Placa	Saliva	Placa	Saliva	Placa						
			morte s (%)	Probito	morte s (%)	Probito	morte s (%)	Probito	morte s (%)	Probito				
0,015	15	1,18	0,0	—	0,0	—	5,9	3,4	8,6	3,6	0,0	—	0,0	—
0,031	31	1,49	8,8	3,7	5,7	3,4	100,0	—	100,0	—	0,0	—	0,0	—
0,062	62	1,79	91,2	6,4	88,6	6,2					0,0	—	0,0	—
0,125	76,9	2,10	100,0	—	100,0	—					0,0	—	0,0	—
0,250	250	2,40									0,0	—	0,0	—
0,500	500	2,70									8,8	3,7	11,4	3,8
1,000	1000	3,00									55,9	5,2	60,0	5,3
2,000	2000	3,30									91,2	6,4	97,1	6,9
4,000	4000	3,60									91,2	6,4	97,1	6,9
8,000	8000	3,90									91,2	6,4	97,1	6,9
16,000	16000	4,20									91,2	6,4	97,1	6,9
32,000	32000	4,51									97,1	6,9	100,0	—
64,000	64000	4,81									100,0	—		
128,000	128000	5,11												

Identificação da amostra: Percentuais de inibição e probitos das cepas de *Streptococcus sobrinus*

Dose	x 1000	log	Amoxicilina		Eritromicina		Tetraciclina							
			Saliva	Placa	Saliva	Placa	Saliva	Placa						
			morte s (%)	Probito	morte s (%)	Probito	morte s (%)	Probito	morte s (%)	Probito				
0,015	15	1,18	0,0	—	0,0	—	0,0	—	10,0	3,7	0,0	—	0,0	—
0,031	31	1,49	91,7	6,4	70,0	5,5	100,0	—	100,0	—	0,0	—	0,0	—
0,062	62	1,79	100,0	—	100,0	—					0,0	—	0,0	—
0,125	76,9	2,10									0,0	—	0,0	—
0,250	250	2,40									0,0	—	0,0	—
0,500	500	2,70									0,0	—	0,0	—
1,000	1000	3,00									58,3	5,2	50,0	5,0
2,000	2000	3,30									91,7	6,4	100,0	—
4,000	4000	3,60									100,0	—		
8,000	8000	3,90												
16,000	16000	4,20												
32,000	32000	4,51												
64,000	64000	4,81												
128,000	128000	5,11												

Identificação da amostra: Percentuais de inibição e probitos das cepas de *Staphylococcus aureus*

Dose	x 1000	log	Amoxicilina				Eritromicina				Tetraciclina			
			Saliva		Placa		Saliva		Placa		Saliva		Placa	
			morte s (%)	Probito										
0,015	15	1,18	0,0	—	0,0	—	0,0	—	0,0	—	0,0	—	0,0	—
0,031	31	1,49	0,0	—	0,0	—	0,0	—	50,0	5,0	0,0	—	0,0	—
0,062	62	1,79	10,3	3,7	0,0	—	79,3	5,8	50,0	5,0	0,0	—	0,0	—
0,125	76,0	2,10	10,3	3,7	0,0	—	79,3	5,8	50,0	5,0	0,0	—	0,0	—
0,250	250	2,40	17,2	4,1	0,0	—	79,3	5,8	100,0	—	0,0	—	0,0	—
0,500	500	2,70	20,7	4,2	0,0	—	82,8	6,0	—	—	58,6	5,2	100,0	—
1,000	1000	3,00	37,9	4,7	0,0	—	86,2	6,1	—	—	65,5	5,4	—	—
2,000	2000	3,30	89,7	6,3	50,0	5,0	86,2	6,1	—	—	65,5	5,4	—	—
4,000	4000	3,60	96,6	6,8	50,0	5,0	86,2	6,1	—	—	65,5	5,4	—	—
8,000	8000	3,90	100,0	—	100,0	—	89,7	6,3	—	—	65,5	5,4	—	—
16,000	16000	4,20	—	—	—	—	89,7	6,3	—	—	75,9	5,7	—	—
32,000	32000	4,51	—	—	—	—	89,7	6,3	—	—	79,3	5,8	—	—
64,000	64000	4,81	—	—	—	—	89,7	6,3	—	—	100,0	—	—	—
128,000	128000	5,11	—	—	—	—	100,0	—	—	—	—	—	—	—