

Sensibilidade "In Vitro" de Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae Isoladas da Cavidade Bucal Humana a Agentes Antimicrobianos

SILVANA SOLÉO FERREIRA DOS SANTOS*, ANTONIO OLAVO CARDOSO JORGE*

RESUMO

Bactérias das famílias Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae podem atuar como agravantes de alguns tipos de doenças periodontais. Além disso, a cavidade bucal pode servir como reservatório destes microrganismos, o que apresenta importância, principalmente em indivíduos debilitados ou imunocomprometidos. Neste trabalho estudou-se a sensibilidade in vitro destes microrganismos, isolados da cavidade bucal de 51 pacientes da clínica odontológica da Faculdade de Odontologia da Universidade de Taubaté, a dez agentes antimicrobianos enfatizando-se principalmente os mais utilizados na clínica odontológica.

UNITERMOS

Enterobacteriaceae; Pseudomonadaceae; cavidade bucal; antimicrobianos.

SANTOS, S.S.F., JORGE, A. O.C. In vitro antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae and Pseudomonadaceae isolated from oral cavity. *Pós-Grad. Rev. Fac. Odontol. São José dos Campos*, v.2, n.1, p.40-4, jan./jun., 1999.

ABSTRACT

The bacteria belonging to the Enterobacteriaceae and Pseudomonadaceae families showed, after studies, aggravating to some periodontal sicknesses. The oral cavity might serve as a reservoir of these microorganisms, which may compromise debilitated patients. In this research, was studied the in vitro antimicrobial susceptibility of these bacteria, isolated from the oral cavity of fifty one subjects coming from odontological clinic at University of Taubaté, to ten antimicrobial agents and among than some of the most used in odontological clinic.

UNITERMS

Enterobacteriaceae; Pseudomonadaceae; oral cavity; antibiotics.

Departamento de Odontologia — Faculdade de Odontologia - UNITAU - 12020-270 - Taubaté - SP

INTRODUÇÃO

Estudos realizados pela microbiologia tornaram conhecidas a patogenicidade de bactérias das famílias Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae para o organismo humano, porém, na cavidade bucal, estas bactérias não eram consideradas patogênicas. Entretanto, com os estudos de Sbits et al.¹⁰⁻¹³, estas bactérias passaram a ser consideradas como agravantes em alguns tipos de doenças bucais, como a doença periodontal severa do adulto e a periodontite refratária. Além destes microrganismos dificultarem os tratamentos periodontais convencionais, a cavidade bucal pode servir como reservatório dos mesmos, podendo comprometer gravemente a vida de pacientes debilitados, quer pela idade avançada, doenças ou tratamentos que provoquem imunossupressão⁴⁻⁸⁻⁹⁻¹³. Sabe-se também que bactérias da família Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae podem causar superinfecção periodontal, principalmente após uso de antibioticoterapia sistêmica¹⁻³⁻⁶.

Com o reconhecimento de que as doenças periodontais são o resultado da ação de microrganismos específicos, têm sido grande o interesse em associar terapia antimicrobiana ao tratamento convencional para aumentar a taxa de sucesso nos tratamentos periodontais²⁻¹⁴.

Diante do exposto, é de suma importância que o cirurgião dentista saiba quais agentes antimicrobianos podem ser usados eficazmente como auxiliares na terapia periodontal, considerando a real necessidade do uso de um antimicrobiano e os efeitos que este poderá exercer em toda a microbiota associada a doença.

Assim, o objetivo do presente trabalho foi verificar a sensibilidade *in vitro* de bactérias das famílias Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae isoladas da cavidade bucal a alguns antimicrobianos utilizados em odontologia.

MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados 65 amostras de microrganismos das famílias Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae, isolados da cavidade bucal humana de 51 pacientes que procuraram a clínica Odontológica da Faculdade de Odontologia da Universidade de Taubaté

(Santos, 1996) foi também testada a amostra padrão de *Klebsiella pneumoniae* ATCC 18833.

As amostras foram repicadas em ágar MacConkey e incubadas a 37°C por 24h. A seguir, os microrganismos foram diluídos em solução salina estéril a 0,9% até atingir concentração de 3 x 10⁸ células/mL (tubo nº 1 da escala de McFarland). Desta diluição foi semeado 0,1 mL em ágar Mueller-Hinton (duas placas) nas quais foram colocados discos de papel contendo antibióticos em concentrações conhecidas, que foram incubadas a 37°C por 24h e então medidos os halos de inibição. Os antibióticos testados foram: penicilina (PN), ampicilina (AP), cefalotina (CF), eritromicina (EI), tetraciclina (TT), cloranfenicol (CO), ácido nalidíxico (AN), sulfazotrim (SFT), trimetopim (TRI) e ciprofloxacina (CIP) todos da marca CECON.

RESULTADOS

Todos os microrganismos testados foram resistentes a penicilina e sensíveis a ciprofloxacina. Somente o gênero *Pseudomonas* foi resistente ao cloranfenicol. A tetraciclina e o sulfazotrim apresentaram, depois do cloranfenicol, o menor índice de resistência, seguidos pelo ácido nalidíxico e trimetopim. As cepas de *Pseudomonas aeruginosa* foram sensíveis somente à ciprofloxacina.

Cepas de Enterobacteriaceae apresentaram sensibilidade relativa a ampicilina, somente o gênero *Klebsiella* mostrou-se sensível à eritromicina, e apenas uma cepa de *Klebsiella pneumoniae* apresentou resistência à cefalotina. No geral, o gênero *Klebsiella* mostrou-se sensível a este antimicrobiano. A cepa padrão de *Klebsiella pneumoniae* mostrou sensibilidade semelhante as cepas de *Klebsiella pneumoniae* isoladas da cavidade bucal.

DISCUSSÃO

A maioria das doenças periodontais respondem favoravelmente à terapia periodontal convencional (mecânica/cirúrgica), mas algumas formas de periodontite têm sido refratárias à esta terapia, sendo nestes casos de grande importância o auxílio de agentes antimicrobianos adequados.

Para que um agente antimicrobiano possa ser útil, o patógeno deve ser conhecido, susceptível à droga e

ainda esta droga deveria demonstrar pouco ou nenhum efeito colateral. Slots & Rams⁹ (1990) sugerem que seja feita uma análise microbiológica pós tratamento periodontal da microflora subgingival. A análise deveria incluir patógenos periodontais convencionais bem como bacilos entéricos, pseudomonas e leveduras.

Esta análise deveria ser repetida um ou dois meses após a terapia antimicrobiana para podermos ter certeza de que os patógenos suspeitos foram eradicados ou significativamente suprimidos. Idealmente a composição da microflora pós tratamento deve ser aquela do periodonto saudável⁵.

Tabela 1 - Número de amostras bacterianas resistentes aos dez antimicrobianos testados

Microorganismos	Número de amostras	Antibióticos Resistência									
		PN	El	AP	CF	TRI	AN	TT	SFT	CO	CIP
Enterobacteriaceae	24	24	24	14	22	0	1	0	0	0	0
Klebsiella pneumoniae	13	13	13	11	1	1	1	1	1	0	0
Klebsiella oxytoca	8	8	8	6	0	0	0	0	0	0	0
Enterobacter sakazakii	4	4	4	4	3	0	0	0	0	0	0
Pseudomonas aeruginosa	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	0
Citrobacter freundii	3	3	3	0	3	0	0	0	0	0	0
Citrobacter amalonaticus	2	2	2	0	1	0	0	0	0	0	0
Senatia odorifera 1	2	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0
Kluyvera sp	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Enterobacter nigenus2	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0
Enterobacter aerogenes	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Senatia liquefaciens	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
K pneumoniae ATCC 18833	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Total	66	66	65	42	39	8	7	6	6	5	0

Devido à complexidade da microflora subgingival, os estudos existentes não conseguiram um antimicrobiano que fosse uniforme em este inibitório para todos os grupos bacterianos; para tanto existem vários estudos utilizando terapia com antimicrobianos combinados¹⁻²⁻⁹⁻¹⁴.

Um dos riscos do tratamento quimioterápico com informações insuficientes seria a dificuldade para controlar a seleção de patógenos resistentes. Os agentes antimicrobianos quando propriamente selecionados significam uma importante arma terapêutica para os cirurgiões-dentistas⁹.

O presente estudo confirmou os achados de, Slots et al.¹², Slots et al. e Listgarten et al.⁵ onde a ciprofloxacina mostrou-se o antimicrobiano mais eficaz contra bactérias das famílias Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae.

A ciprofloxacina é uma quinolona oral de amplo espectro exibindo atividade contra uma larga

faixa de bactérias facultativas Gram negativas e positivas, sendo esta droga particularmente útil no tratamento de infecções periodontais envolvendo Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae⁹.

Nos resultados do presente estudo, a tetraciclina mostrou-se eficiente contra Enterobacteriaceae (somente uma amostra de Klebsiella pneumoniae mostrou-se resistente) mas não para Pseudomonadaceae. Resultado semelhante foi apresentado por Slots et al.¹², mas resultados diferentes foram obtidos por Slots et al. onde 85-95% dos bacilos entéricos foram resistentes a tetraciclina e por Listgarten et al.⁵ que obteve aproximadamente 100% de resistência à tetraciclina pelos bacilos entéricos isolados de bolsas periodontais.

A propriedade das tetraciclinas de atingirem concentrações no fluido gengival duas a quatro vezes maiores que no sangue e demonstrarem alta atividade in vitro contra a maioria dos patógenos

periodontais; são algumas das razões pelas quais as tetraciclina são os antimicrobianos mais utilizados na terapia periodontal nos Estados Unidos², por outro lado, Rams et al.⁶ relataram que a terapia sistêmica prolongada com Doxiciclina (tetraciclina) pode favorecer um supercrescimento de bacilos entéricos.

O presente estudo demonstrou resistência de 100% à penicilina nas cepas avaliadas, resultados semelhantes foram apresentados por Slots & Rams⁹, onde 85-95% dos bacilos entéricos foram resistentes à penicilina. Um total de 98% das cepas testadas foram resistentes à eritromicina; segundo Slots & Rams⁹, a eritromicina parece ter aplicações limitadas no periodonto por não alcançar níveis inibitórios suficientes no fluido gengival. Estes dados mostram-se relevantes pois, a penicilina e a eritromicina são amplamente utilizadas pelos cirurgiões dentistas.

A família Enterobacteriaceae demonstrou alta resistência a ampicilina e a cefalotina, sendo eficazes somente para algumas espécies. Todos os microrganismos da família Enterobacteriaceae testados foram sensíveis ao cloranfenicol, 98% foram sensíveis ao sulfazotrim, 96% ao ácido nalidixico e 95% ao trimetopim, demonstrando bom nível inibitório para as bactérias da citada família. Estes antimicrobianos embora amplamente utilizados pela classe médica, são pouco usuais na prática

odontológica. Não tendo sido encontrados dados comparativos na literatura odontológica para estes antimicrobianos.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados do presente trabalho, podem ser inferidas seguintes conclusões:

a) a ciprofloxacina foi o único antimicrobiano testado capaz de inibir todos os microrganismos das famílias Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae;

b) os microrganismos da família Pseudomonadaceae foram sensíveis somente à ciprofloxacina;

c) a penicilina e a eritromicina foram os antimicrobianos menos eficazes contra os microrganismos testados;

d) o cloranfenicol foi capaz de inibir os microrganismos da família Enterobacteriaceae;

e) tetraciclina e sulfazotrim tiveram boa atividade inibitória contra os microrganismos da família Enterobacteriaceae (98%);

f) a eficácia dos outros antimicrobianos testados contra a família Enterobacteriaceae foi diminuindo na seguinte ordem: ácido nalidixico, trimetopim, ampicilina e cefalotina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 CHEN, C., SLOTS, J. The current status and future prospects of altering the pathogenic microflora of periodontal disease. *Curr. Opin. Periodontol.*, p.71-7, 1993.
- 2 GORDON M J., WALKER, C.B. Current status of systemic antibiotic usage in destructive periodontal disease. *J.Periodontol.*, v64, suppl8, p.760-71, Aug.1993.
- 3 HELOVUO, H., HAKKARAINEN, K., PAUNIO, K. Changes in the prevalence of subgingival enteric rods, staphylococci and yeasts after treatment with penicillin and erythromycin. *Oral Microbiol.Immunol.*, v8, n2, p. 75-9, Apr.1993.
- 4 HUTZLER, R.V. et al. Colonização de doentes hospitalizados por *Staphylococcus aureus* e bactérias Gram negativas. *Rev. Microbiol.*, v3, p.179-89, 1972.
- 5 LISTGARTEN, M A. et al. Microbial composition and pattern of antibiotic resistance in subgingival microbial samples from patients with refractory periodontitis. *J. Periodontol.*, v64, n3, p.155-61, Mar.1993.
- 6 RAMS, T.E., BABALOLA, O.O., SLOTS, J. Subgingival occurrence of enteric rods, yeasts and staphylococci after systemic doxycycline therapy. *Oral Microbiol. Immunol.*, v5, n3, p.166-8, June 1990.
- 7 SANTOS, S.S.F. Presença de Enterobacteriaceae e Pleiomorfofloraceae na cavidade bucal humana. Taubaté, 1996. 72p. Dissertação (Mestrado em Odontologia) Departamento de Odontologia, Universidade de Taubaté.
- 8 SEDGLEY, C.M., SAMARANAYAKE, L.P. Oral and oropharyngeal prevalence of Enterobacteriaceae in humans: a review. *J. Oral Pathol.Med.*, v23, p.104-13, 1994.
- 9 SLOTS, J., RAMS, T.E. Antibiotics in periodontal therapy: advantages and disadvantages. *J.Clin. Periodontol.* v17, n7, p.479-93, 1990.
- 10 SLOTS, J., RAMS, T.E. New view on periodontal microbiota in special patients. *J.Periodontol.*, v18, p.411-20, 1991.
- 11 SLOTS, J., FEIK, D., RAMS, T.E. Prevalence and antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae and Acinetobacter in human periodontitis. *Oral Microbiol. Immunol.*, v5, n3, p.149-54, June 1990.
- 12 SLOTS, J., FEIK, D., RAMS, T.E. In vitro antimicrobial sensitivity of enteric rods and pseudomonads from advanced adult periodontitis. *Oral Microbiol. Immunol.* v5, n5, p.298-301, Oct.1990.
- 13 SLOTS, J., RAMS, T.E., LISTGARTEN, M A. Yeasts, enteric rods and pseudomonads in the subgingival flora of severe adult periodontitis. *J.Periodontol.* v3, p.47-52, 1988.
- 14 WALKER, C.B. et al. Antibiotic susceptibilities of periodontal bacteria: in vitro susceptibilities to eight antimicrobial agents. *J.Periodontol.* 56 (suppl.), p. 67-74, 1985