

Prevalência e sensibilidade *in vitro* de enterobacteriaceae e pseudomonas isoladas da cavidade bucal e bolsa periodontal de pacientes com periodontite crônica*

SILVANA SOLÉO FERREIRA DOS SANTOS**, ****; JUSSARA CIA SANCHES LOBERTO**, ****; CLÉLIA APARECIDA PAIVA MARTINS***; ANTONIO OLAVO CARDOSO JORGE***, ****.

RESUMO

Periodontite crônica é a mais comum das formas de doença periodontal destrutiva em adultos, caracterizada por perda clínica de inserção em decorrência da destruição do ligamento periodontal e perda de osso de suporte. Microrganismos da família Enterobacteriaceae e gênero *Pseudomonas* estudados no presente trabalho apresentam fatores de virulência capazes de agravar o quadro de doença periodontal e seu controle pode ser um pré-requisito para uma terapia bem sucedida. Além de dificultar o tratamento periodontal convencional, reservatórios bucais destes microrganismos podem comprometer a vida de pacientes debilitados. Dos 88 indivíduos estudados neste trabalho, 43,18% apresentaram estas bactérias na cavidade bucal e 15,9% na bolsa periodontal, sendo mais prevalente em indivíduos do sexo masculino. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre a presença destes microrganismos e profundidade da bolsa periodontal, faixa etária, hábito de fumar ou presença de doença sistêmica. Foi verificada também a sensibilidade dos microrganismos isolados a 17 antimicrobianos, sendo que, todas as cepas testadas (n=65) foram sensíveis somente a ciprofloxacina quando consideramos o nível sérico atingido após dose usual de cada antimicrobiano.

UNITERMOS

Enterobacteriaceae; *Pseudomonas*; bolsa periodontal; periodontite crônica; antimicrobianos.

SANTOS, S.S.F. et al. Prevalence and *in vitro* sensibility of the Enterobacteriaceae and pseudomonads isolated from the oral cavity and periodontal pockets in patients with chronic periodontitis. **PGRO - Pós-Grad Rev Odontol**, v.5, n.2, p. 74-83, maio/ago 2002.

ABSTRACT

Chronic periodontitis is the most common form of destructive periodontal disease in adults. It is characterized by loss of clinical attachment due to destruction of the periodontal ligament and loss of the supporting bone. Studied microorganisms of the Enterobacteriaceae family and pseudomonads show virulence factors that are able to aggravate the periodontal disease picture and its control may be a requirement for a successful therapy. Besides making periodontal treatment difficult, oral reservoir of these microorganisms may jeopardize life of weakened patients by advanced age, diseases or treatments that cause immunosuppression. From the 88 individual studied in this work, 43,18% showed these bacteria on oral cavity and 15,9% on periodontal pockets, being the major prevalence on male individual. It was not found statistically significant difference among the presence of these microorganisms and the depth of periodontal pockets, age group, smoking habit and presence of systemic disease. It was also seen the isolated microorganisms sensibility to 17 antimicrobians substances and all the strains tested showed sensitivity only ciprofloxacin when the serical level of an usual of each antimicrobial was considered.

UNITERM

Enterobacteriaceae, Pseudomonads; periodontal pocket, chronic periodontitis; antimicrobians.

INTRODUÇÃO

Periodontite crônica é a mais comum das formas de doença periodontal destrutiva em adultos, caracterizada por perda clínica de inserção em de-

** Resumo de Tese de Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Odontologia – Área de Concentração em Biopatologia Bucal – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP - 12.245-000

** Aluna do Programa de Pós-Graduação (Nível Doutorado) - Área de Concentração em Biopatologia Bucal – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP - 12.245-000

*** Departamento de Biopatologia Bucal – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP - 12.245-000

**** Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté - UNITAU - 12.020-330

corrência da destruição do ligamento periodontal e perda de osso de suporte². Em alguns casos, esta perda de inserção pode progredir a despeito de um extensivo tratamento, caracterizando a periodontite refratária¹⁶. Esta pode ocorrer em situações onde a terapia convencional tem falhado em eliminar reservatórios de microrganismos infecciosos, ou resultar do aparecimento de patógenos oportunistas superinfectantes³.

Superinfecções são infecções que dificultam o tratamento de um processo já existente, podendo representar complicação de uma terapia antimicrobiana, que alterou a microbiota benéfica, causando desenvolvimento de patógenos residentes prejudiciais ou oportunistas²⁷.

A diversidade de espécies bacterianas presentes na microbiota subgengival, sua variação de indivíduo para indivíduo, a resposta do hospedeiro e o supercrescimento de espécies oportunistas em relação aos patógenos verdadeiros, são algumas das razões que dificultam o estabelecimento preciso da etiologia da doença periodontal²⁵. Nem todos os patógenos periodontais foram ainda identificados, sendo assim, tem crescido o interesse em espécies não encontradas comumente na placa subgengival como indicadores ou possíveis contribuintes para a patogênese da doença periodontal, particularmente em indivíduos que tem respondido pobremente ou não tem respondido ao tratamento periodontal⁶.

Enterobacteriaceae e gênero *Pseudomonas* apresentam fatores de virulência capazes de agravar o quadro de doença periodontal e têm sido implicados em casos de doenças periodontais refratárias^{4, 19, 20-4}. Além de dificultar tratamentos periodontais convencionais, reservatórios bucais destes microrganismos podem comprometer a vida de pacientes debilitados, quer pela idade avançada, doenças ou tratamentos que provoquem imunossupressão^{10, 14, 17, 20}. Estes microrganismos podem causar colapso periodontal e seu controle pode ser um pré-requisito para uma terapia periodontal bem sucedida²².

O objetivo do presente trabalho foi verificar a presença de Enterobacteriaceae e gênero *Pseudomonas* na cavidade bucal e bolsa periodontal de indivíduos com periodontite crônica, correlacionando a presença destes microrganismos na cavidade bucal e bolsa periodontal com o estado clíni-

co periodontal dos pacientes. Observou-se também a susceptibilidade *in vitro* destes microrganismos a agentes antimicrobianos isolados e combinados.

MATERIAL E MÉTODO

Para este estudo foram selecionados 88 pacientes, de ambos os sexos, que procuraram a clínica de Periodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade de Taubaté (UNITAU), com 25 anos de idade ou mais, apresentando quadro de periodontite crônica não tratada com pouca, moderada ou avançada perda de tecido periodontal de suporte (mínimo de dois sítios com profundidade de sondagem $\geq 5\text{mm}$)². Foram excluídos os indivíduos submetidos a tratamento com antimicrobianos nos seis meses que antecederam a coleta do material.

Os pacientes foram informados sobre a finalidade da pesquisa, bem como sobre os métodos de coleta das amostras e o projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa 64/99-PH/CEP. Após o consentimento foram feitos: anamnese, exame clínico periodontal utilizando o índice de doença periodontal (IDP) desenvolvido por Ramfjord²⁶ e preenchida a ficha clínica com dados necessários ao estudo.

Para cada paciente foi fornecido 10mL de solução fisiológica esterilizada (NaCl a 0,85%) tamponada com fosfato 0,1M, pH 7,2 (PBS), em um recipiente universal descartável, para que fosse feito enxágüe bucal por 60 segundos e o material retornado ao recipiente. A seguir, após a remoção da placa supragengival com compressa de gaze esterilizada e isolamento relativo com roletes de algodão, foram colocados três cones de papel esterilizados nº 30 (Áureo) em cada bolsa periodontal, até a profundidade de sondagem, por 30 segundos. Os cones, contendo o material coletado, foram colocados em tubos plásticos (Eppendorf) contendo 1mL de PBS. O material coletado foi mantido em gelo até ser levado ao laboratório, respeitando-se o período máximo de 3 horas entre a coleta e o processamento.

Cada amostra de enxágüe bucal foi centrifugada por 10 minutos (8000 x g) e o sobrenadante descartado. O depósito foi ressuspenso em 2,5mL de PBS e misturado em agitador de tubos (Vortex)

por 30 segundos, produzindo assim a suspensão de concentração final¹¹. As amostras de material subgengival foram homogeneizadas em Vortex durante 30 segundos e os cones removidos com auxílio de pinças esterilizadas. Cada amostra foi centrifugada por 10 minutos (8000 x g) e o sobrenadante descartado. O depósito foi ressuspenso em 0,6mL de PBS e misturado em Vortex por 30 segundos, produzindo assim a suspensão de concentração final.

De cada amostra (suspensão de concentração final) de enxágüe bucal e material subgengival, foi semeado 0,1mL em duplicata em ágar MacConkey (Difco), os quais foram incubadas por 24-48 horas a 37°C. Após crescimento, as colônias foram examinadas, contadas e feitos esfregaços corados pelo método de Gram. As colônias de bacilos Gram-negativos foram semeadas em ágar infuso cérebro-coração (B.H.I. - Difco) e incubadas por 24h a 37°C para obtenção de culturas puras. As cepas isoladas foram semeadas em ágar MacConkey e incubadas por 24h a 37°C e em seguida identificadas utilizando-se o sistema API 20 E (Bio-Merieux, França).

A concentração inibitória mínima (CIM) dos antimicrobianos foi determinada utilizando-se o método de diluição em ágar Mueller-Hinton (Difco). Os antimicrobianos foram esterilizados por filtração (Membrana millipore de 0,22µm) e adicionadas 0,1mL de cada diluição ao meio a 50°C (pour-plate). Foram preparadas séries de placas contendo concentrações de 2 a 256µg/mL de cada antimicrobiano, em diluições seqüenciais múltiplas de dois. As cepas bacterianas identificadas

foram semeadas com o auxílio de replicador de Steers e incubadas a 37°C por 24h. A leitura foi feita pela observação de presença ou ausência de crescimento de colônias na superfície do ágar^{8, 18}.

Foram testados em 58 cepas de Enterobacteriaceae, seis de *Pseudomonas* e uma de *Chryseomonas*, os seguintes antimicrobianos: amoxicilina, ampicilina, azitromicina, cefalexina, ciprofloxacina, clindamicina, doxiciclina, eritromicina, espiramicina (Rovamicina/Rodhia), metronidazol, norfloxacin, penicilina, tetraciclina e associações entre amoxicilina e clavulonato de potássio (Clavulin/Beecham), amoxicilina e metronidazol, espiramicina e metronidazol (Periodontil/Rodhia), sulfametoxazol e trimetoprim (Bactrim I.V./Roche).

RESULTADO

Dos 88 pacientes estudados, 38 apresentaram Enterobacteriaceae e/ou bactérias do gênero *Pseudomonas* na cavidade bucal e 14 na bolsa periodontal, conforme esquematizado no diagrama de Venn (Figura 1).

Na cavidade bucal, 89,58% das bactérias pertenciam à família Enterobacteriaceae, 8,34% ao gênero *Pseudomonas* e 2,08% ao gênero *Chryseomonas*. Na bolsa periodontal, 88,23% das bactérias pertenciam à família Enterobacteriaceae e 11,77% ao gênero *Pseudomonas*. *Enterobacter cloacae* foi o microrganismo mais prevalente na cavidade bucal e bolsa periodontal (Tabelas 1 e 2).

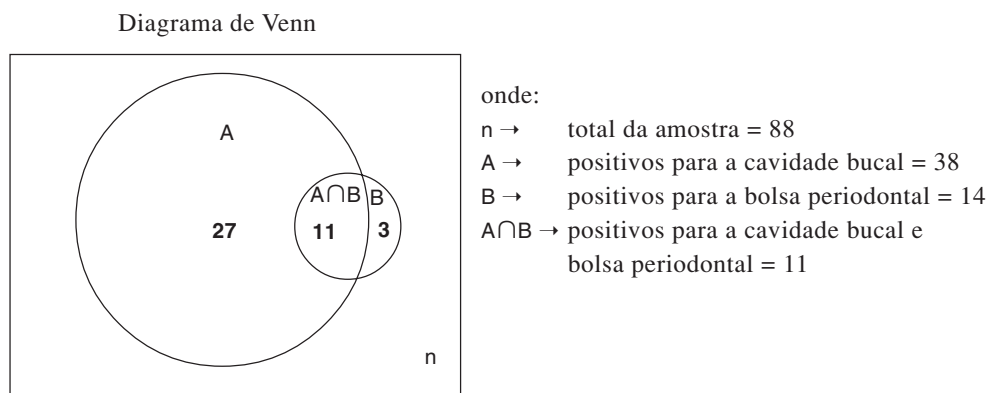


FIGURA 1 - Diagrama de Venn demonstrando esquematicamente a presença de Enterobacteriaceae e/ou bactérias do gênero *Pseudomonas* na cavidade bucal e bolsa periodontal.

Tabela 1 - Frequência de isolamento de Enterobacteriaceae e bactérias do gênero Pseudomonas da cavidade bucal de pacientes com periodontite crônica (n=48)

Espécie	Frequência de isolamento		Média de ufc/mL
	n	%	
<i>Enterobacter cloacae</i>	21	43,75	136,33
<i>Klebsiella oxytoca</i>	6	12,5	6,83
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	8,34	225,25
<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae</i>	3	6,25	12,6
<i>Enterobacter asburiae</i>	3	6,25	2,67
<i>Escherichia coli</i>	2	4,17	47
<i>Pantoea spp</i>	2	4,17	10
<i>Serratia liquefaciens</i>	2	4,17	151
<i>Serratia marcescens</i>	1	2,08	2
<i>Enterobacter amnigenus</i>	1	2,08	2
<i>Enterobacter sakazakii</i>	1	2,08	80
<i>Klebsiella terrigena</i>	1	2,08	1
<i>Chryseomonas luteola</i>	1	2,08	2

Tabela 2 – Frequência de isolamento de Enterobacteriaceae e bactérias do gênero Pseudomonas da bolsa periodontal de pacientes com periodontite crônica (n=17)

Espécie	Frequência de isolamento		Média de ufc/mL
	n	%	
<i>Enterobacter cloacae</i>	8	47,06	69,25
<i>Enterobacter sakazakii</i>	2	11,77	166,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	11,77	1
<i>Enterobacter asburiae</i>	1	5,88	1
<i>Enterobacter amnigenus</i>	1	5,88	1
<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae</i>	1	5,88	64
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	5,88	1
<i>Escherichia coli</i>	1	5,88	82

Houve prevalência estatisticamente significativa ($p=0,0393$) de casos positivos para o sexo masculino (Tabela 3), mas não houve relação estatisticamente significativa ($p= 0,5475$) na prevalência destes microrganismos entre as faixas etárias (Tabela 4) ou hábito de fumar ($p= 0,2061$) e presença de Enterobacteriaceae e/ou bactérias do gênero *Pseudomonas* na cavidade bucal e bolsa periodontal (Tabela 5).

Vinte pacientes relataram ter alguma doença sistêmica: hipertensão arterial (n=8), diabetes (n=3), herpes (n=3), gastrite (n=2), reumatismo (n=1), hipotireoidismo (n=1), labirintite (n=1) e AIDS (n=1), mas não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,5015$) quando relacionamos a presença destes microrganismos com presença de doença sistêmica (Tabela 6).

Tabela 3 - Número de indivíduos que apresentaram Enterobacteriaceae e/ou bactérias do gênero Pseudomonas na cavidade bucal e bolsa periodontal de acordo com o sexo.

Sexo	Casos positivos		Casos negativos		Total n
	n	%	n	%	
*Masculino	22	53,66	15	31,91	37
Feminino	19	46,34	32	68,09	51

Teste Qui-quadrado ($\chi^2= 4,25$, gl= 1, p= 0,0393)

Tabela 4 – Número de indivíduos que apresentaram Enterobacteriaceae e/ou bactérias do gênero Pseudomonas de acordo com a faixa etária

Faixa etária	Casos positivos		Casos negativos		Total %
	n	n	%	n	
25 - 30	4	9,76	6	12,77	10
31 - 40	13	31,71	19	40,43	32
41 - 50	20	48,78	18	38,30	38
51 - 60	4	9,76	4	8,51	8

Teste de aderência de Kolmogorov-Smirnov (gl= 2, p= 0,5475)

Tabela 5 – Número de indivíduos que apresentaram Enterobacteriaceae e/ou bactérias do gênero Pseudomonas de acordo com o hábito de fumar

	Casos positivos		Casos negativos		Total %
	n	n	%	n	
Fumantes	6	14,63	12	25,53	18
Não fumantes	35	85,37	35	74,47	70

Teste Qui-quadrado ($\chi^2= 1,6$, gl= 1, p= 0,2061)

Tabela 6 – Número de indivíduos que apresentaram Enterobacteriaceae e/ou bactérias do gênero Pseudomonas de acordo com a presença de doenças sistêmicas

	Casos positivos		Casos negativos		Total %
	n	n	%	n	
Doença sistêmica	8	19,51	12	25,53	20
Ausência de doença sistêmica	33	80,49	35	74,47	68

Teste Qui-quadrado ($\chi^2= 0,45$, gl= 1, p= 0,5015)

Não foi encontrada também diferença estatisticamente significativa quando foi relacionada a presença destes microrganismos com a profundidade da bolsa periodontal, onde $p= 0,8534$ (Tabela 7).

No presente trabalho, verificou-se também qual a concentração inibitória mínima (CIM) de um antimicrobiano (ou associação) é capaz de inibir *in vitro* o crescimento dos microrganismos pertencentes à família Enterobacteriaceae, gênero *Pseudomonas* e gênero *Chryseomonas* (Tabelas 8 e 9).

Tabela 7 – Número de indivíduos que apresentaram Enterobacteriaceae e/ou bactérias do gênero Pseudomonas de acordo com a profundidade de bolsa periodontal

Profundidade da bolsa periodontal (mm)	Casos positivos		Casos negativos		Total %
	n	n	%	n	
5 - 6	16	39,02	17	36,17	33
7 - 8	18	43,90	22	46,81	40
9 - 10	7	17,07	8	17,02	15

Teste de tendência Qui-quadrado ($\chi^2= 0,0341$, gl= 1, p= 0,8534)

Tabela 8 – Concentração inibitória mínima de antimicrobianos para bactérias recuperadas da cavidade bucal de pacientes com periodontite crônica (n=48)

	AMO	AP	AZ	CF	CIP	CLI	DX	EI	ESP	MTZ	NOR	PN	TT	AMO/CLA	AMO/MTZ	ESP/MTZ	SULF/TRI
<i>E. cloacae</i>	R	64	R	256	02	256	04	R	R	R	02	R	16	08	R	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	128	R	256	02	256	16	R	R	R	02	R	16	64	R	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	64	256	R	02	128	08	R	R	R	02	R	16	64	256	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	64	R	256	02	256	08	R	R	R	02	R	32	256	256	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	64	R	R	02	256	08	R	R	R	02	R	32	256	256	R	02
<i>E. cloacae</i>	256	64	R	256	02	256	32	R	R	R	02	R	32	256	256	R	08
<i>E. cloacae</i>	R	128	R	32	02	64	16	R	R	R	02	R	32	64	256	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	R	256	R	02	256	16	R	R	R	02	R	32	256	R	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	256	256	R	02	R	08	R	R	R	02	R	32	256	R	R	02
<i>E. cloacae</i>	256	R	R	08	02	16	16	R	R	R	02	R	64	256	R	R	08
<i>E. cloacae</i>	R	R	256	256	02	256	16	R	R	R	02	R	16	256	32	R	02
<i>E. cloacae</i>	128	64	256	128	02	256	16	R	R	R	02	R	16	64	256	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	64	R	256	02	256	16	R	R	R	02	R	16	32	256	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	256	R	64	02	256	16	R	R	R	02	R	64	128	256	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	256	R	R	02	256	16	R	R	R	02	R	16	64	256	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	R	R	R	02	128	08	R	R	R	02	R	16	64	R	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	256	R	R	02	256	16	R	R	R	02	R	64	256	R	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	R	R	R	02	256	16	R	R	R	02	R	32	256	R	R	64
<i>E. cloacae</i>	R	64	R	256	02	256	16	R	R	R	02	R	16	64	256	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	256	R	R	02	256	16	R	R	R	02	R	16	256	R	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	256	R	R	02	256	16	R	R	R	02	R	16	64	R	R	02
<i>K. oxytoca</i>	R	64	R	32	02	128	04	R	R	R	02	R	08	128	256	R	02
<i>K. oxytoca</i>	256	R	256	64	02	256	16	R	R	R	02	R	32	16	256	R	02

Tabela 8 – Concentração inibitória mínima de antimicrobianos para bactérias recuperadas da cavidade bucal de pacientes com periodontite crônica (n=48) (cont...)

	AMO	AP	AZ	CF	CIP	CLI	DX	EI	ESP	MTZ	NOR	PN	TT	AMO/CLA	AMO/MTZ	ESP/MTZ	SULF/TRI
<i>K. oxytoca</i>	256	64	R	32	02	64	08	R	R	R	02	R	32	256	256	R	02
<i>K. oxytoca</i>	R	128	R	32	02	64	16	R	R	R	02	R	32	256	R	R	02
<i>K. oxytoca</i>	R	256	R	32	02	256	08	R	R	R	02	R	16	32	256	R	02
<i>K. oxytoca</i>	R	128	R	256	02	256	08	R	R	R	02	R	16	16	256	R	02
<i>P. aeruginosa</i>	R	R	R	R	02	R	64	R	R	R	02	R	128	R	R	R	128
<i>P. aeruginosa</i>	R	R	R	R	02	R	64	R	R	R	02	R	128	R	R	R	128
<i>P. aeruginosa</i>	R	R	R	R	02	R	16	R	R	R	02	R	64	256	R	R	64
<i>P. aeruginosa</i>	R	R	R	R	02	R	128	R	R	R	02	R	128	R	R	R	R
<i>K. pneumoniae pneumoniae</i>	R	256	R	64	02	256	08	R	R	R	02	R	16	08	R	R	02
<i>K. pneumoniae pneumoniae</i>	128	64	R	32	02	256	16	R	R	R	02	R	16	08	256	R	02
<i>K. pneumoniae pneumoniae</i>	256	R	R	64	02	256	16	R	R	R	02	R	64	256	R	R	16
<i>E. asburiae</i>	R	32	256	R	02	R	08	R	R	R	02	R	32	256	R	R	16
<i>E. asburiae</i>	256	64	256	R	02	128	16	R	R	R	02	R	64	256	R	R	16
<i>E. asburiae</i>	32	64	R	128	02	128	08	R	R	R	02	16U	16	08	32	R	02
<i>Serratia liquefaciens</i>	256	64	R	128	02	256	16	R	R	R	02	R	16	64	256	R	02
<i>Serratia liquefaciens</i>	R	R	R	256	02	256	16	R	R	R	02	R	64	64	R	R	02
<i>Serratia marcescens</i>	R	256	R	256	02	128	16	R	R	R	02	R	32	128	R	R	02
<i>E. amnigenus</i>	R	32	R	64	02	128	08	R	R	R	02	R	16	04	64	R	02
<i>E. sakazakii</i>	R	R	256	R	02	128	04	R	R	R	02	R	16	256	R	R	02
<i>K. terrigena</i>	128	64	R	64	02	64	04	R	R	R	02	8U	08	04	64	R	02
<i>E. coli</i>	32	32	R	64	02	256	04	R	R	R	02	8U	16	08	256	R	02
<i>E. coli</i>	64	R	R	R	02	R	16	R	R	R	02	R	64	128	R	R	02
<i>Pantoea spp</i>	R	256	R	256	02	256	08	R	R	R	02	16U	16	128	R	R	04
<i>Pantoea spp</i>	R	128	256	32	02	64	04	R	R	R	02	R	16	32	64	R	02
<i>Chryseomonas luteola</i>	R	R	R	R	02	256	64	R	R	R	02	R	128	R	R	R	64

* Anotação em negrito: valores iguais ou inferiores a concentração sérica máxima atingida após dose usual de antimicrobiano.

R: resistência bacteriana a 256 µg/ml de antimicrobiano.

** AMO (amoxicilina), AP (ampicilina), AZ (azitromicina), CF (cefalexina), CIP (cirpofloxacina), CLI (clindamicina), DX (doxiciclina), EI (eritromicina), ESP (espiramicina), MTZ (metronidazol), NOR (norfloxacina), PN (penicilina), TT (tetraciclina), AMO/CLA (amoxicilina + ácido clavulânico), AMO/MTZ (amoxicilina + metronidazol), ESP/MTZ (espiramicina + metronidazol), SULF/TRI (sulfametoxazol + trimetoprim).

Tabela 9 – Concentração inibitória mínima de antimicrobianos para bactérias recuperadas da bolsa periodontal de pacientes com periodontite crônica (n=17) (conclusão)

	AMO	AP	AZ	CF	CIP	CLI	DX	EI	ESP	MTZ	NOR	PN	TT	AMO/ CLA	AMO/ MTZ	ESP/ MTZ	SULF/ TRI
<i>K. pneumoniae ATCC 18833</i>	R	256	R	128	02	128	08	R	R	R	02	R	16	128	R	R	02
<i>E. coli ATCC 25922</i>	32	64	R	64	02	128	08	R	R	R	02	R	16	128	32	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	64	R	128	02	256	16	R	R	R	02	R	64	128	R	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	256	R	R	02	256	08	R	R	R	02	R	16	16	R	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	R	R	R	02	R	16	R	R	R	02	R	16	128	R	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	64	R	256	02	256	16	R	R	R	02	R	32	12	R	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	64	R	256	02	128	16	R	R	R	02	R	16	128	R	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	64	R	128	02	256	16	R	R	R	02	R	16	16	256	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	256	R	R	02	256	16	R	R	R	02	R	16	128	R	R	02
<i>E. cloacae</i>	R	256	R	R	02	256	16	R	R	R	02	R	16	128	R	R	02
<i>E. sakazakii</i>	R	256	R	R	02	256	16	R	R	R	02	R	16	128	R	R	02
<i>E. sakazakii</i>	R	R	R	256	02	128	16	R	R	R	02	R	16	128	R	R	08
<i>P. aeruginosa</i>	R	R	R	R	02	R	64	R	R	R	02	R	128	R	R	R	64
<i>P. aeruginosa</i>	R	R	R	R	02	R	64	R	R	R	02	R	128	R	R	R	64
<i>E. asburiae</i>	R	64	R	R	02	128	04	R	R	R	02	R	16	128	R	R	02
<i>E. amnigenus</i>	256	64	R	32	02	128	04	R	R	R	02	16U	08	02	256	R	02
<i>K. pneumoniae pneumoniae</i>	16	64	R	32	02	R	08	R	R	R	02	R	16	04	16	R	02
<i>K. oxytoca</i>	R	R	R	R	02	R	16	R	R	R	02	R	16	08	256	R	02
<i>E. coli</i>	256	64	R	32	02	64	08	R	R	R	02	R	08	04	256	R	02

* Anotação em negrito: valores iguais ou inferiores a concentração sérica máxima atingida após dose usual de antimicrobiano.

R: resistência bacteriana a 256 µg/ml de antimicrobiano.

** AMO (amoxicilina), AP (ampicilina), AZ (azitromicina), CF (cefalexina), CIP (cirpofloxacina), CLI (clindamicina), DX (doxiciclina), EI (eritromicina), ESP (espiramicina), MTZ (metronidazol), NOR (norfloxacina), PN (penicilina), TT (tetraciclina), AMO/CLA (amoxicilina + ácido clavulânico), AMO/MTZ (amoxicilina + metronidazol), ESP/MTZ (espiramicina + metronidazol), SULF/TRI (sulfametoxazol + trimetoprim).

DISCUSSÃO

A prevalência de Enterobacteriaceae e bactérias do gênero *Pseudomonas* na cavidade bucal de pacientes com periodontite crônica (43,18%) foi menor do que a encontrada por Santos & Jorge¹¹ (51%), em trabalho utilizando a mesma metodologia, enquanto Sedgley & Samaranayake¹⁵ obtiveram 34%.

Bactérias do gênero *Pseudomonas* estavam presentes na cavidade bucal de 4,55% dos pacientes

com periodontite crônica. Sedgley & Samaranayake¹⁵ e Santos & Jorge¹¹, verificaram que estes microrganismos estavam presentes em 6% dos pacientes, no entanto, os grupos de estudo dos trabalhos citados não compreendiam somente pacientes com periodontite crônica.

A prevalência de Enterobacteriaceae e bactérias do gênero *Pseudomonas* na bolsa periodontal de pacientes com periodontite crônica foi de 15,9% nos resultados do presente trabalho. Por outro lado,

Slots et al.²³ isolaram 10,2% de bolsas periodontais refratárias e Slots et al.²² isolaram 14% de bolsas periodontais de pacientes com periodontite severa do adulto. Os resultados do presente estudo demonstraram prevalência pouco superior aos citados, mas inferior a de países considerados subdesenvolvidos, como é o caso da República Dominicana, onde Slots et al.²⁴ encontraram prevalência de 66,7% de bacilos entéricos em pacientes com periodontite severa e do Sudão, onde Ali et al.¹ encontraram prevalência de 92% de enterobactérias em pacientes com periodontite moderada a severa.

Pseudomonas spp. estavam presentes na bolsa periodontal de 2,3% dos pacientes com periodontite crônica, enquanto Slots et al.²⁰ isolaram em 11,2% dos pacientes com periodontite avançada.

As espécies de *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Pseudomonas* foram as bactérias mais freqüentemente isoladas na cavidade bucal dos pacientes estudados, resultados semelhantes aos encontrados por Sedgley & Samaranayake¹⁵ e Santos & Jorge¹¹ e espécies de *Enterobacter* e *Pseudomonas* foram as mais freqüentemente isoladas da bolsa periodontal, resultado pouco diferente de Slots et al.^{20,23-5}, onde a maior freqüência de isolamento foi para *Enterobacter* e *Klebsiella*. No presente trabalho, houve prevalência destes microrganismos para o sexo masculino, ao contrário do resultado obtido por Slots et al.²², onde houve maior prevalência para o sexo feminino.

Os resultados do presente estudo não demonstraram prevalência estatisticamente significativa quanto à idade, enquanto Sedgley & Samaranayake¹⁵ encontraram maior prevalência destes microrganismos em pacientes com mais de cinquenta anos e Slots et al.²² em pacientes idosos.

A maioria das doenças periodontais responde favoravelmente à terapia periodontal convencional (mecânica/cirúrgica), no entanto, algumas formas de periodontite têm sido refratária a este tratamento, sendo nestes casos necessário o auxílio de agentes antimicrobianos^{7,17}.

O efeito de um antimicrobiano no organismo está diretamente relacionado com a concentração atingida pela droga no meio em que ele está, assim, a utilização clínica de um antimicrobiano *in vivo* é determinada não só em função das concentrações

inibitórias sobre os microrganismos, mas também em função das concentrações que pode atingir no organismo com o mínimo de efeitos colaterais^{5,9}.

De acordo com nossos resultados, somente a ciprofloxacina foi inibitória para todos os microrganismos estudados quando avaliamos a concentração sérica máxima após administração de 500mg por via oral (2,4µg/mL)¹⁷.

É importante que o cirurgião dentista saiba quais agentes antimicrobianos podem ser utilizados 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 à doença^{12,13}. O diagnóstico da presença de bacilos entéricos e *Pseudomonas* segue uma metodologia relativamente simples e de baixo custo, que poderia ser utilizada principalmente para periodontites que não respondem ao tratamento convencional, ao menos para excluir a possibilidade da presença de bactérias superinfetantes.

CONCLUSÃO

a) a prevalência de Enterobacteriaceae e bactérias do gênero *Pseudomonas* na cavidade bucal (43,18%) e bolsa periodontal (15,9%) em indivíduos com periodontite crônica foi elevada, sendo a espécie *Enterobacter cloacae* mais prevalente na cavidade bucal e bolsa periodontal;

b) não houve correlação estatística significativa entre a presença destes microrganismos na cavidade bucal e/ou bolsa periodontal de pacientes com periodontite crônica e faixa etária, profundidade da bolsa periodontal, hábito de fumar e presença de doença sistêmica, mas houve prevalência destes microrganismos em indivíduos do sexo masculino;

c) todas as cepas bacterianas testadas (n=65) foram resistentes a eritromicina, espiramicina, metronidazol e a associação de espiramicina e metronidazol e sensíveis a norfloxacina e ciprofloxacina na concentração de 2µg/mL;

d) a eficácia *in vitro* dos antimicrobianos testados para Enterobacteriaceae foi em ordem decrescente: ciprofloxacina, norfloxacina, sulfametoxazol associado a trimetoprim, doxiciclina, tetraciclina, amoxicilina associada ao ácido cla-

vulânico, clindamicina, cefalexina, ampicilina, amoxicilina associada ao metronidazol, amoxicilina, azitromicina e penicilina;

e) as cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (n=6) foram resistentes a amoxicilina, ampicilina, cefa-

lexina, clindamicina, eritromicina, espiramicina, metronidazol, penicilina, amoxicilina associada ao metronidazol e espiramicina associada ao metronidazol e sensíveis a altas concentrações de doxiciclina, tetraciclina e associação de sulfametoxazol e trimetoprim.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ALI, W.R. et al. Comparative detection frequency of 6 putative periodontal pathogens in sudanese and norwegian adult periodontitis patient. **J Periodontol**, v. 65, n. 11, p. 1046-52, 1994.
- 2 AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. Parameter on chronic periodontitis with slight to moderate loss of periodontal support. **J Periodontol**, v.71, n. 5, suppl., p. 853-5, May 2000.
- 3 AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. Parameter on "refractory" periodontitis. **J Periodontol**, v.71, n. 5, suppl., p. 859-60, May 2000.
- 4 COLOMBO, A.P. et al. Discrimination of refractory periodontitis subjects using clinical and laboratory parameters alone and in combination. **J Clin Periodontol**, v. 26, n. 9, p. 569-76, 1999.
- 5 GORDON, J.M.; WALKER, C.B. Current status of systemic antibiotic usage in destructive periodontal disease. **J Periodontol**, v. 64, n. 8 suppl., p. 760-71, Aug., 1993.
- 6 HAFFAJEE, A.D.; SOCRANSKY, S.S. Microbial etiological of destructive periodontal diseases. **Periodontology 2000**, v.5, n. 6, p.78-111, 1994.
- 7 LISTGARTEN, M.A.; LAI, C.H.; YOUNG, V. Microbial composition and pattern of antibiotic resistance in subgingival microbial samples from patients with refractory periodontitis. **J Periodontol**, v. 64, n. 3, p. 155-61, Mar. 1993.
- 8 OPLUSTIL, C.P. et al. Testes de avaliação da resistência aos antimicrobianos. In: **Procedimentos básicos em microbiologia clínica**. São Paulo: Sarvier, 2000. cap. 26, p.165-80.
- 9 PALLASCH, T.J. Pharmacokinetic principles of antimicrobial therapy. **Periodontology 2000**, v. 10, p. 5-11, 1996.
- 10 SAMARANAYAKE, L.P. et al. The oral carriage of yeasts and coliforms in patients on cytotoxic therapy. **J Oral Pathol**, v. 13, n. 4, p. 390-3, 1984.
- 11 SANTOS, S.S.F.; JORGE A.O.C. Presença de Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae na cavidade bucal humana. **Rev Odontol UNESP** (São Paulo), v. 27, n. 2, p. 473-84, 1998.
- 12 SANTOS, S.S.F.; JORGE A.O.C. Sensibilidade *in vitro* de Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae isoladas da cavidade bucal humana a agentes antimicrobianos. **Pós-Grad Rev Fac Odontol São José dos Campos**, v. 2, n. 1, p. 41-5, jan.-jun. 1999.
- 13 SANTOS, S.S.F.; JORGE A.O.C. Sensibilidade *in vitro* de Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae isoladas da cavidade bucal humana a espiramicina, metronidazol e tetraciclina. **Rev Biociênc**, v. 6, n. 1, p. 7-10, jan.-jul. 2000.
- 14 SEDGLEY, C.M.; SAMARANAYAKE, L.P. Oral and oropharyngeal prevalence of Enterobacteriaceae in humans: a review. **J Oral Pathol Med**, v.23, n. 3, p.104-13, 1994.
- 15 SEDGLEY, C.M.; SAMARANAYAKE, L.P. The oral prevalence of aerobic and facultatively anaerobic gram-negative rods and yeasts in Hong Kong Chinese. **Archs Oral Biol**, v.39, n. 6, p. 459-66, 1994.
- 16 SEYMOUR, G.J. Importance of the response in the periodontium. **J Clin Periodontol**, v.18, n. 6, p. 421-6, 1991.
- 17 SLOTS, J.; RAMS, T.E. Antibiotics in periodontal therapy: advantages and disadvantages. **J Clin Periodontol**, v. 17, n. 7, p. 479-93, 1990.
- 18 SLOTS, J.; RAMS, T.E. *In vitro* activity of chlorhexidine against enteric rods, pseudomonads and *Acinetobacter* from human periodontitis. **Oral Microbiol Immunol**, v. 6, n. 1, p. 62-4, 1991.
- 19 SLOTS, J.; RAMS, T.E. New views on periodontal microbiota in special patient categories. **J Periodontol**, v. 18, n. 6, p. 411-20, 1991.
- 20 SLOTS, J.; FEIK, D.; RAMS, T.E. Prevalence and antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae and *Acinetobacter* in human periodontitis. **Oral Microbiol Immunol**, v. 5, n. 3, p.149-54, 1990.
- 21 SLOTS, J.; FEIK, D.; RAMS, T.E. *In vitro* antimicrobial sensitivity of enteric rods and pseudomonads from advanced adult periodontitis. **Oral Microbiol Immunol**, v. 5, n. 5, p. 298-301, 1990.
- 22 SLOTS, J.; FEIK, D.; RAMS, T.E. Age and sex relationships of superinfecting microorganisms in periodontitis patients. **Oral Microbiol Immunol**, v. 5, n. 6, p.305-8, 1990.
- 23 SLOTS, J.; RAMS, T.E.; LISTGARTEN, M.A. Yeasts, enteric rods and pseudomonads in the subgingival flora of severe adult periodontitis. **Oral Microbiol Immunol**, v. 3, n. 2, p. 47-52, 1988.
- 24 SLOTS, J. et al. Subgingival microflora of advanced periodontitis in Dominican Republic. **J Periodontol**, v. 62, n. 9, p. 543-7, 1991.
- 25 SOCRANSKY, S.S.; HAFFAJEE, A.D. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. **J Periodontol**, v. 63, n. 4 suppl., p. 322-31, 1992.
- 26 SPOLSKY, V. Epidemiologia das doenças gengival e periodontal. In: CARRANZA, F.A.JR. **Glickman periodontia clínica**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. cap. 22, p. 229-48.
- 27 VAN WINKELHOFF, A.J.; RAMS, T.E.; SLOTS, J. Systemic antibiotic therapy in periodontics. **Periodontology 2000**, v. 10, n. 2, p. 45-78, 1996.