

Mecanismos de Resistência aos Antibióticos e Quimioterápicos com Atividade Antimicrobiana Empregados no Tratamento das Infecções de Cabeça e Pescoço

Elerson **Gaetti Jardim Júnior**¹

Adriana Sales Cunha **Correia**¹

Katia Gonçalves de **Jesus**¹

Christiane Marie **Schweitzer**²

¹Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica, Laboratório de Microbiologia e Imunologia, Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba, UNIV-Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP.

²Departamento de Matemática, Faculdade de Engenharia do Campus de Ilha Solteira, UNIV-Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP.

RESUMO

Desde a introdução dos antibióticos e quimioterápicos com atividade antimicrobiana na clínica médico-odontológica observou-se uma redução da efetividade dos fármacos, na medida em que seu emprego se generalizava. Desde que a resistência microbiana a esses agentes pode afetar significativamente o resultado do tratamento, o presente estudo constitui revisão de literatura na qual os autores discutiram os principais mecanismos de resistência aos agentes antimicrobianos e seus marcadores genéticos, evidenciando possíveis alternativas clínicas aos principais fármacos utilizados.

Palavras-Chaves: fatores R, resistência a múltiplos medicamentos, bactérias anaeróbias, resistência a medicamentos.

ABSTRACT

Since introduction of antibiotics and chemotherapeutics with antimicrobial activities in dental and medical clinics, it has been observed the reduction of effectivity of such compounds, while its usage was deeply disseminated. Hence the microbial resistance to these agents might significantly affect the treatment outcome, the present investigation constituted a literature review where the authors focused on the main drug resistance

mechanisms to antimicrobials and their genetic markers, evidencing possible therapeutic alternatives to the most relevant drugs.

Keywords: R factors, multiple drug resistance, microbial drug resistance, anaerobic bacteria, drug resistance.

1. INTRODUÇÃO

Constitui realidade incontestável que a partir de meados da década de 1940 as drogas antimicrobianas com toxicidade seletiva passaram a ser utilizadas em grande escala no tratamento de doenças infecciosas que apresentavam mortalidade elevada e afetavam significativamente a expectativa de vida ao redor no mundo, mesmo nos países subdesenvolvidos. A introdução dos antibióticos também propiciou um grande desenvolvimento da indústria farmacêutica e da biotecnologia, uma vez que, pelo menos nas décadas iniciais, o desenvolvimento de novos fármacos e a prospecção de elementos do metabolismo secundário de bactérias do grupo dos estreptomicetos bem como de fungos filamentosos era uma atividade frenética e recompensadora (BÉRDY, 2005; YIM et al., 2006).

Nas últimas décadas, com o uso disseminado e, por vezes, irracional e abusivo desses fármacos (MANTZOURANI et al., 2015), o fenômeno da seleção e disseminação de microrganismos multirresistentes aos antibióticos e quimioterápicos com atividade antimicrobiana vem limitando significativamente a eficiência desses agentes, além de provocar milhares de óbitos, em função de “superinfecções e infecções refratárias”, ao redor do globo (WRIGHT, 2003; JINDAL et al, 2015), oferecendo um modelo de estudo de grande valor sobre a interação entre organismos vivos e seu ambiente, na presença de fatores seletivos intensos (AMINOV & MACKIE, 2007).

Por outro lado, a velocidade de obtenção de novos agentes clinicamente eficazes sofreu significativa redução, de forma que novas abordagens a respeito da problemática da resistência microbiana se fazem necessárias para reduzir o impacto sobre a saúde humana e animal (TOPRAK et al., 2012; WALSH & TOLEMAN, 2012; LAXMINARAYAN et al., 2014).

Desde os primeiros ensaios sobre as bases genéticas da resistência aos β -lactâmicos e aminoglicosídeos (DEMEREK, 1948), o número de estudos sobre as bases moleculares desse fenômeno vem se elevando exponencialmente e centenas de genes de resistência têm sido caracterizados (BLONDEAU, 2004; ZHOU et al., 2009; EITEL et

al., 2013; CHAUDHARY & PAYASI, 2014; HUANG et al., 2014; SANDLE et al., 2014; FORSBERG et al., 2015; SZÉKELY et al., 2015), e muito já se conhece sobre o efeito que produzem na sensibilidade da microbiota associada às infecções crônicas e agudas da região de cabeça e pescoço (ARDILA et al., 2010; EHRMAN et al., 2013; PATEL et al., 2014; DUPIN et al., 2015; MORAES et al., 2015), onde essa problemática se expressa em toda a sua intensidade, uma vez que esses processos sépticos são causados por microrganismos anaeróbios, para os quais a determinação de padrões de susceptibilidade ainda não constitui procedimento de rotina em laboratórios clínicos ao redor do mundo (PEDNEKAR et al., 2015; SARKAR et al., 2015).

Esse tratamento empírico, mesmo quando baseado na experiência profissional e literatura oriunda de países desenvolvidos, facilita o emprego abusivo de antimicrobianos e a seleção de cepas bacterianas resistentes aos mesmos. Como resultado, tais níveis de resistência associados à presença do biofilme microbiano, espécies exógenas, limitação de suprimento sanguíneo e presença de tecido necrótico acabam por reduzir a eficiência do tratamento medicamentoso, de forma que o clínico passa a depender essencialmente dos procedimentos locais para a resolução desses processos sépticos (WALIA et al., 2014). Além desse aspecto, ao lado de cepas resistentes, a presença de microrganismos tolerantes aos antimicrobianos tem sido relatada e estudada, constituindo um quadro desafiador (MAISONNEUVE & GERDES, 2014).

Essas profundas transformações e a importância que esses fármacos têm na saúde humana e animal vêm estimulando novas abordagens e estratégias capazes de permitir a continuidade da utilização desses agentes antimicrobianos, como novas drogas capazes de atuar em diferentes pontos do metabolismo microbiano, controle do processo de formação e maturação do biofilme microbiano (BELOIN et al., 2014; KOUIDHI et al., 2015), particularmente importante para as infecções de cabeça e pescoço, bem como a utilização de novos esquemas terapêuticos com as drogas tradicionais, de forma a reduzir a seleção de cepas resistentes (BUSH, 2012; CASSIR et al., 2014), além da racionalização do emprego desses fármacos em medicina veterinária (TEUBER, 2001; PYÖRÄLÄ et al., 2014).

Uma vez que a grande maioria das infecções que acomete a região de cabeça e pescoço é associada a uma microbiota mista, de caráter cooperativo, com profundas interações metabólicas entre os grupos microbianos envolvidos e com predomínio

absoluto de anaeróbios obrigatórios (REGA et al., 2006; BROOK, 2012; BROOK, 2015).

Em função desses fatores, observa-se uma elevação significativa dos níveis de resistência aos principais agentes antimicrobianos entre os anaeróbios obrigatórios, com significativa deterioração da efetividade das drogas β -lactâmicas, mesmo quando utilizadas em associação com inibidores de β -lactamases, além de redução da efetividade das fluoroquinolonas e clindamicina (BOYANOVA et al., 2015).

Dessa forma, diante da importância do uso de antibióticos para na área da saúde, a presente revisão de literatura tem o objetivo de discutir as principais implicações do desenvolvimento de resistência aos quimioterápicos com atividade antimicrobiana e antibióticos pelos microrganismos localizados no interior de biofilme, abordando as consequências que essas transformações acarretam nos padrões de prescrições de cirurgiões-dentistas e médicos.

2 METODOLOGIA

Esse estudo consiste de revisão de bibliográfica, com análise qualitativa dos dados obtidos, utilizando-se as bases de dados indexadas SciELO (*Scientific Electronic Library Online*), BIREME (Biblioteca Virtual em Saúde), LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde), MEDLINE (Literatura Internacional em Ciências da Saúde) e PubMed (*National Library of Medicine*). O período estudado compreende janeiro de 2000 a julho de 2015, visto que durante o mesmo ocorreu a maior caracterização das bases genéticas e moleculares da resistência a drogas, particularmente as utilizadas no tratamento das infecções de cabeça e pescoço. Foram utilizados os seguintes descritores: “microbial drug resistance”, “bacterial infections”, “anaerobic bacteria”, “drug effects” e “biofilms”.

Optou-se por desconsiderar os estudos que não abordavam a susceptibilidade aos quimioterápicos com atividade antimicrobiana ou antibióticos ou que se destinavam apenas às orientações terapêuticas para clínicos, além de livros e resumos de congressos e artigos publicados em idiomas que não o inglês ou que enfocavam fármacos de uso apenas periférico, menos relevantes, no tratamento das infecções orofaciais. Quando análises de literatura foram comentadas, buscou-se harmonizá-las através de avaliação dos microrganismos estudados e dos sítios anatômicos compreendidos. De um total inicial de 3762 artigos, 483 foram selecionados por preencherem esses critérios e destes,

121 artigos foram selecionados por representarem mais adequadamente os temas abordados na presente revisão, que não se reveste de objetivos quantitativos. Os artigos selecionados também constituem importante fonte de informações para outros estudos mais específicos sobre o tema para os interessados.

3 RESISTÊNCIA AOS FÁRMACOS MAIS EMPREGADOS

Resistência aos principais quimioterápicos com atividade antimicrobiana e antibióticos vem sendo intensamente abordada na literatura, inexistindo quaisquer agentes terapêuticos que tenham se mostrado imunes a esse processo de seleção de linhagens microbianas resistentes, merecendo destaque, no tratamento das infecções de cabeça e pescoço, os β -lactâmicos, macrolídeos e lincosamidas, tetraciclinas e derivados, nitroimidazóis e fluoroquinolonas entre outros.

Pela própria natureza do biofilme de cabeça e pescoço, dificultando a difusão do oxigênio no interior de sua estrutura, o emprego de drogas do grupo dos aminoglicosídeos é bastante limitado, uma vez que seu mecanismo de penetração na célula microbiana e de ação sobre a mesma depende da ação de proteínas de membrana de microrganismos exercendo metabolismo aeróbio, de menor importância nas infecções aqui consideradas, não sendo abordadas nessa revisão.

Além do grande emprego desses agentes na saúde humana, criações animais e produtos derivados podem estar associados à disseminação de genes de resistência aos antibióticos comumente utilizados, uma vez que são amplamente empregados na área veterinária (TEUBER, 2001; PYÖRÄLÄ et al., 2014) e seus genes de resistência já foram detectados em ambientes de criações e seus efluentes (ZHOU et al., 2009; KLUYTMANS et al., 2012), podendo estar presentes até em produtos alimentícios, como queijos, leite (FLÓREZ et al., 2014) e aves (KLUYTMANS et al., 2012), dentre outros. Águas contaminadas com esgoto, em estuários e áreas costeiras, também podem colaborar para a disseminação da resistência a esses agentes (DALHOFF, 2012; ALVES et al., 2014; ABGOTTSPON et al., 2014; GUO et al., 2014), destacando-se a presença de múltiplos marcadores de resistência à tetraciclina e outros agentes com amplo espectro de ação, os quais podem permanecer no solo (Kyselkova et al., 2015), revelando o impacto de resíduos de criações de animais e dejetos domésticos.

A resistência a esses agentes e a presença de genes ligados a esse processo é universal, constituindo motivo para intensas reflexões.

3.1. Resistência aos B-Lactâmicos

As drogas β -lactâmicas são as mais utilizadas no tratamento das infecções orofaciais, além de grande relevância no tratamento das demais infecções humanas (RAFFALDI et al., 2015) e animais (SENHORINHO et al., 2012). Para essa grande família de fármacos, a resistência pode se dar pela diminuição da afinidade dos alvos dessas drogas, as enzimas de membrana citoplasmática denominadas coletivamente de “PLPs (proteínas de ligação à penicilina)”, como ocorre com as amostras de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (TANG et al., 2014), que apresentam papel relevante no metabolismo de construção e remodelamento da parede celular bacteriana, bem como pela produção de enzimas capazes de inativar esses fármacos, as β -lactamases (DUPIN et al., 2015), além da impermeabilização da membrana externa em bactérias Gram-negativas (EHRMANN et al., 2013; TANG et al., 2014). Outras classes de genes de resistência a essas drogas e frequentemente detectados entre microrganismos anaeróbios de importância médica inclui os genes *cfxA*, *cfiA* e *cepA*, que codificam para β -lactamases capazes de atuar em graus variados de eficiência sobre as cefalosporinas e carbapenêmicos (TRAN et al., 2013).

Dentre esses diferentes mecanismos de resistência destaca-se a inativação pela ação de β -lactamases, que são codificadas por uma ampla variedade de genes transferíveis ou não (EHRMANN et al., 2013; KOUKOS et al., 2014; TANG et al., 2014). O conjunto de diferentes enzimas é vasto (DUPIN et al., 2015), como também variada é a afinidade de cada β -lactamase pelas drogas da família (DUPIN et al., 2015), merecendo destaque as enzimas que mostram amplo espectro de ação (enzimas denominadas de ESBL), codificadas pelos genes *AmpC* e *bla* (*bla_{CfxA}*, *bla_{CSP-1}*, *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX}*), que podem estar presentes em plasmídeos e transposons (HANDAL et al., 2005; SÓKI et al., 2011; EHRMANN et al., 2013; ROSCHANSKI et al., 2014) e são muito frequentes entre membros da família *Enterobacteriaceae* (KLUYTMANS et al., 2012; TANG et al., 2014) e *Pseudomonadaceae* (FALLAH et al., 2013) e membros do biofilme microbiano bucal (IOANNIDIS et al., 2009), como as fusobactérias (BENACHINMARDI et al., 2014), além de outros anaeróbios, como *Bacteroides fragilis* (BENACHINMARDI et al., 2014).

Entre os microrganismos do biofilme bucal a presença desses marcadores de resistência geralmente está ligada a outros determinantes, como os genes que codificam para a resistência às tetraciclinas (IOANNIDIS et al., 2009). Algumas dessas enzimas

de amplo espectro de ação, codificadas principalmente pela classe de marcadores OXA, não são inibidas pela adição de ácido clavulânico (TANG et al., 2014).

Entre as amostras de biofilme bucal, a produção de β -lactamases pode variar de 2,4% a 82% (IWAHARA et al., 2006; PATEL, 2011; EHRMANN et al., 2013; RAMS et al., 2013; EHRMANN et al., 2014; MONTAGNER et al., 2014; RAMS et al., 2014a; RAMS et al., 2014b), mas a maioria dessas enzimas pode ter sua atividade inibida pela adição de ácido clavulânico (RAMS et al., 2013; SHILNIKOVA & DMITRIEVA, 2015; VELOO & VAN WINKELHOFF, 2015). Entretanto, dados recentes evidenciam a presença de resistência à associação amoxicilina/ácido clavulânico entre microrganismos Gram-negativos da microbiota bucal e intestinal, com destaque para os gêneros *Bacteroides* e *Prevotella*, mas esse evento ainda é minoritário (JAMAL et al., 2015).

Entre os microrganismos ligados ao biofilme microbiano e à microbiota do canal digestório, *Bacteroides fragilis*, gêneros *Fusobacterium*, *Prevotella*, em particular a espécie *P. nigrescens*, e *Porphyromonas* (IWAHARA et al., 2006; ARDILA et al., 2010; PATEL, 2011; RAMS et al., 2013; RAMS et al., 2014a; RAMS et al., 2014b; XIE et al., 2014; VELOO & VAN WINKELHOFF, 2015) são os maiores produtores de β -lactamases, abrindo caminho para que esses patógenos sejam considerados reservatórios de determinantes de resistência que podem ser transferidos para microrganismos de incontestável relevância médica, além dos demais patógenos oportunistas, dando maior relevância para o controle dessas infecções mistas ligadas ao biofilme bucal (LOYOLA-RODRIGUEZ et al., 2014; DUPIN et al., 2015; FERNÁNDEZ-CANIGIA et al., 2015).

Na microbiota exógena à cavidade bucal, a resistência aos β -lactâmicos é amplamente disseminada entre membros das famílias *Enterobacteriaceae* (KLUYTMANS et al., 2012; ROSCHANSKI et al., 2014; TANG et al., 2014), *Pseudomonadaceae* (FALLAH et al., 2013) e dos gêneros *Staphylococcus* e *Enterococcus* (TANG et al., 2014). De uma forma geral, os produtores de β -lactamases respondem favoravelmente ao tratamento com β -lactâmicos do grupo dos carbapenêmicos (HE et al., 2012; XIE et al., 2014), embora numerosos genes capazes de produzir hidrolases (principalmente metalo- β -lactamases) que atuam sobre tais β -lactâmicos e cefalosporinas tenham sido identificados em amostras clínicas (POIREL et al., 2011; SANDLE et al., 2014). Como agravante, os microrganismos que carregam tais marcadores (*bla_{NDM-1}* e *bla_{IMP}*) para a produção dessas carbapeneminasas

apresentam resistência a outras drogas frequentemente utilizadas no tratamento de infecções refratárias, como as fluoroquinolonas e rifampicina (FLUIT et al., 2001), constituindo sério desafio clínico.

A associação desses agentes com inibidores de β -lactamases ainda é considerado o esquema terapêutico mais adequado para o tratamento empírico das infecções anaeróbias mistas (SOARES et al., 2012), juntamente com o metronidazol, cabendo aos carbapenêmicos o tratamento de infecções anaeróbias multirresistentes (NOVAK et al., 2015), que vêm se tornando mais frequentes, principalmente em países em que os testes de susceptibilidade aos antimicrobianos não são rotineiramente realizados quando se suspeita da participação de microrganismos anaeróbios obrigatórios (PEDNEKAR et al., 2015; SHEIKH et al., 2015).

Outra associação considerada adequada para o tratamento das infecções anaeróbias mistas de cabeça e pescoço associadas ao biofilme, como as periodontias, consiste de amoxicilina, uma penicilina de maior espectro de ação, associada ao metronidazol (ARWEILER et al., 2014), um quimioterápico particularmente eficaz frente às bactérias anaeróbias Gram-negativas, incluindo os gêneros *Bacteroides*, *Prevotella* e *Fusobacterium*, que são fonte frequente de β -lactamases.

3.2. RESISTÊNCIA AOS MACROLÍDEOS E LINCOSAMIDAS

Para os macrolídeos e lincosamidas, a resistência pode se apresentar como modificação dos sítios ribossomais associados à ação desses fármacos (LECLERCQ, 2002; BRENCIANI et al., 2014), bomba de efluxo (LECLERCQ, 2002), bem como inativação desses agentes (LECLERCQ, 2002). O primeiro mecanismo condiciona uma redução significativa da susceptibilidade a todos os fármacos dessa classe, ao passo que os demais processos acabam sendo mais específicos, com os resultados variando de acordo com a droga (LECLERCQ, 2002).

Numerosos genes da classe *erm*, ligados à metilação dos sítios ribossomais de ligação de macrolídeos e lincosamidas já foram sequenciados e caracterizados (LECLERCQ, 2002), quase sempre passíveis de transmissão horizontal por conjugação, destacando-se os genes *ermA*, *ermB*, *ermC* e *ermF*, onde *erm(A)* e *erm(C)* são mais comuns em *Staphylococcus* spp., *erm(B)* é mais comum em *Streptococcus* spp., *erm(F)* é mais presente entre anaeróbios obrigatórios Gram-negativos (LECLERCQ, 2002; XIE et al., 2014; SYDENHAM et al., 2015; SZÉKELY et al., 2015). Segundo Jung et al.

(2008), os estafilococos estão entre os principais reservatórios de genes de resistência aos macrolídeos.

Esses estudos mostram que outros determinantes de resistência são frequentes, como aqueles que codificam para esterases, como os genes *ere(A)*, e fosforilases, como os genes *mph(B)*, além dos marcadores que codificam para proteínas que colaboram para transportar para o meio extracelular os macrolídeos que penetram, como os genes da classe *msr* (*msrA*) e *msrD* estão entre os principais do grupo) ou *mef(A)*, essa última está presente entre isolados do gênero *Streptococcus*. Muitos desses genes *erm*, *ere*, *mph*, *msr* e *mef* foram isolados de sedimentos aeróbios e anaeróbios impactados pela ação antrópica e podem ser transmitidos por plasmídios conjugativos.

Embora a clindamicina e outras drogas do grupo sejam amplamente utilizadas no tratamento de infecções graves de cabeça e pescoço, incluindo aquelas que se estabelecem após traumas, é inegável a presença de numerosas linhagens bacterianas resistentes, principalmente entre os gêneros *Streptococcus*, *Prevotella* (PIGRAU et al., 2008; RAMS et al., 2014a; RAMS et al., 2014b; VELOO & VAN WINKELHOFF, 2015), *Clostridium* e *Bacteroides* (JAMAL et al., 2015; VELOO & VAN WINKELHOFF, 2015).

A inativação de macrolídeos, mas não lincosamidas, pela ação de transferases e fosfotransferases é comum entre enterobactérias (LECLERCQ, 2002). Entretanto, a resistência dessas bactérias Gram-negativas é de menor relevância, uma vez que não são o alvo principal dessas drogas, ao passo que a resistência evidenciada por cocos Gram-positivos é fundamental, estando ligada aos genes *lnu(A)* e *lnu(B)*, que inativam a lincomicina, mas não a clindamicina, mais utilizada para o tratamento das infecções agudas de cabeça e pescoço e infecções nosocomiais graves, embora linhagens resistentes a esse último fármaco também tenham sido observadas. Entre enterococos, o gene *lnu(B)* é o mais frequentemente (10%) associado à resistência a essas drogas (LECLERCQ, 2002).

A disseminação de genes de resistência aos macrolídeos e clindamicina atinge até os grupos microbianos que há poucos anos se apresentavam sensíveis a esses fármacos, como os estreptococos alfa-hemolíticos típicos da boca, também denominados de estreptococos do grupo *viridans*, onde mais da metade dos isolados mostraram-se e resistentes à eritromicina e aproximadamente 27% também apresentaram resistência à tetraciclina, outra droga que no passado foi frequentemente empregada no tratamento das infecções oportunistas causadas por esses cocos Gram-

positivos. Segundo Brenciani et al. (2014), o gene *ermB* foi o mais frequente determinante de resistência aos macrolídeos entre os estreptococos bucais, embora genes que codificam para bombas de efluxo da droga também tenham sido detectados (genes *mef*).

No passado, o amplo uso da clindamicina na área médico-odontológica para tratamento das infecções maxilo-faciais ainda se justificava pela sua boa atividade frente aos estafilococos (LECLERCQ, 2002) e anaeróbios bucais (RUSH et al., 2007), sendo considerada uma opção clínica nos casos de pacientes alérgicos aos β -lactâmicos (IGOUMENAKIS et al., 2014). Entretanto, esse perfil vem sofrendo profundas transformações, com um vertiginoso aumento da resistência entre esses cocos Gram-positivos, pseudomonados, enterococos (RAMS et al., 2014a) e anaeróbios bucais (HE et al., 2012; XIE et al., 2014), particularmente do gênero *Prevotella* (XIE et al., 2014) e, em menor extensão, *Fusobacterium* e *Porphyromonas* (ARDILA et al., 2010). Microrganismos bucais de menor relevância, como *Eikenella corrodens*, também têm evidenciado resistência à clindamicina, por vezes associada à presença de resistência aos demais fármacos do grupo e aos β -lactâmicos (MERRIAM et al., 2006).

O emprego futuro dessa classe de drogas, em particular da clindamicina, necessita ser mais bem avaliado, uma vez que a disseminação de cepas resistentes tem se mostrado frequente, mesmo entre pacientes jovens e infecções menos expressivas (LOYOLA-RODRIGUEZ et al., 2014).

3.3. RESISTÊNCIA ÀS TETRACICLINAS

As tetraciclinas constituem classe de drogas antimicrobianas com atividade sobre ampla gama de microrganismos, incluindo bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, *Mollicutes* (“micoplasmas”), clamídias, riquetsias e alguns protozoários. Contudo, seu uso inadequado fez dessa classe de fármacos o exemplo mais documentado de resistência a antibióticos e o mais estudado também.

Os genes de resistência a essas drogas podem estar ligados à proteção do sítio ribossômico de ligação do antibiótico (marcadores *tetM*, *tetO*, *tetS*, *tetQ*, *tetB(P)*, *tet32*, *tetW*, e *OtrA*), presença de bombas de efluxo capazes de reduzir significativamente os níveis intracitoplasmáticos da droga (*tetA-E*, *tet G-H*, *tetK*, *tetL*, *tetA(P)*, *tet31*, e *OtrB*), bem como a inativação do antimicrobiano (*tetX*, *tet37*), sendo que além desses marcadores principais, mais de 40 genes foram descritos (FLUIT et al., 2001; NG et al., 2001; THAKER et al., 2010; FLÓREZ et al., 2014; HUANG et al., 2014; COLLINS et

al., 2015; EITEL et al., 2015; FORSBERG et al., 2015; HARNISZ et al., 2015a; HARNISZ et al., 2015b).

Dada a ampla variedade de marcadores de resistência a essa classe de drogas, tanto ligados a microrganismos patogênicos quanto presentes em bactérias oportunistas, prefere-se discutir a interação desses genes e sua expressão, que constituem verdadeiro complexo (WRIGHT, 2007; D´COSTA et al., 2007; THAKER, 2010), destacando-se os genes *tet* nesse fenômeno.

Os marcadores de tetraciclina vêm se mostrando amplamente distribuídos, já tendo sido observados em amostras de saliva, biofilme e infecções endodônticas (MORAES et al., 2015) e alimentos (FLÓREZ et al., 2014). Esses marcadores de resistência à tetraciclina, em particular *tet(C)*, *tet(B)*, *tet(E)*, *tet(M)*, *tet(W)*, *tet(G)*, *tet(L)*, *tet(A)*, *tet(O)* e *tet(X)*, foram detectados em diversas estações de tratamento de água em cursos hídricos altamente impactados pela ocupação antrópica (JIANG et al., 2013; CHENG et al., 2013; GUO et al., 2014; ADESOJI et al., 2015; HARNISZ et al., 2015a; HARNISZ et al., 2015b; XU et al., 2015), por vezes na presença de marcadores de resistência para β -lactâmicos, cloranfenicol e sulfanilamida e quinolonas (JIANG et al., 2013; XU et al., 2015), mas mesmo ecossistemas distantes das áreas de adensamento populacional, como a Antártida, mostram a presença de marcadores de resistência às tetraciclinas, com diferentes variedades genotípicas, sugerindo a existência de diversas fontes de infecção (RAHMAN et al., 2015). Como agravante, muitos desses genes de virulência estão em plasmídios conjugativos e transposons, o que permite a transmissão horizontal da resistência aos demais membros do ecossistema microbiano (BECEIRO et al., 2013; ADESOJI et al., 2015).

Essa associação entre genes de resistência às tetraciclinas e derivados (*tetM*, *tetQ* e *tetW*) e a presença de marcadores de resistência aos β -lactâmicos (*bla_{TEM}* e *cfxA*) e macrolídeos (*ermC*) também tem sido observada a partir de espécimes clínicos oriundos da região de cabeça e pescoço (RÔÇAS & SIQUEIRA JR, 2013).

Entre os microrganismos bucais merece destaque os genes *tet(Q)* e *tet(M)* (KOUKOS et al., 2013; KOUKOS et al., 2014; XIE et al., 2014; SYDENHAM et al., 2015; SZÉKELY et al., 2015), que podem estar presentes de 65% a 100% das amostras clínicas (IOANNIDIS et al., 2009). Todavia, a microbiota bucal parece albergar uma vastíssima coleção desses genes de resistência, principalmente em pacientes que apresentam periodontite (COLLINS et al., 2015). Entretanto, bolsas periodontais mais profundas mostram uma microbiota com menor presença desses genes do que pacientes

com inflamação gengival e bolsas periodontais com menor profundidade clínica de sondagem (KOUKOS et al., 2014), talvez pela diminuição da proporção dos estreptococos na microbiota subgengival, uma vez que esses cocos são grandes reservatórios desses determinantes de resistência.

3.4. RESISTÊNCIA AOS NITROIMIDAZÓIS

Os nitroimidazóis constituem um grupo de drogas capaz de atuar sobre o metabolismo do DNA microbiano, mas apenas em organismos anaeróbios, merecendo destaque seu papel sobre bactérias anaeróbias Gram-negativas, principalmente aquelas portadoras das enzimas nitrato redutase e piruvato ferredoxina óxido-redutase, capazes de produzir o acúmulo intracitoplasmático da droga e a redução do seu grupo nitro, convertendo-o à sua conformação ativa.

A resistência aos nitroimidazóis entre bactérias anaeróbias Gram-negativas geralmente está associada à expressão dos genes *nim*, detectados principalmente em isolados de espécies do gênero *Bacteroides*, em particular *Bacteroides fragilis* (CHAUDHARY & PAYASI, 2014), por vezes ligados a outros marcadores de resistência à tetraciclina e aos β -lactâmicos e macrolídeos (EITEL et al., 2015; MEGGERSEE & ABRATT, 2015; SYDENHAM et al., 2015). Esses genes codificam para a enzima 5'-nitroimidazol redutase que converte a droga em um amino derivado inócuo (PUMBWE et al., 2008).

Esse fenômeno também foi descrito para bactérias anaeróbias Gram-positivas, como *Clostridium difficile* e *Peptostreptococcus* sp. (BAINES et al., 2008; TAORI et al., 2010; ILCHMANN et al., 2010; WYBO et al., 2014) e Gram-negativas, como os gêneros *Porphyromonas*, *Prevotella* e *Fusobacterium* (ARDILA et al., 2010; JAMAL et al., 2010; SHEIKH et al., 2015). Todavia, mesmo nessas espécies e gêneros, a resistência ainda se mostra limitada (IOANNIDIS et al., 2009; TRAN et al., 2013; GAMBOA et al., 2014; RAMS et al., 2014a; RAMS et al., 2014b; SZÉKELY et al., 2015; VELOO & VAN WINKELHOFF, 2015). Entretanto, os mecanismos de resistência ao metronidazol, o principal nitroimidazol em uso no país, ainda necessitam de melhor caracterização, uma vez que a maioria dos microrganismos resistentes não parece carregar determinantes de resistência conhecidos, como os genes *nim* (CHAUDHARY & PAYASI, 2014).

Segundo Chaudhary & Payasi (2014), microrganismos anaeróbios facultativos, que normalmente não apresentam susceptibilidade aos nitroimidazóis e cujas infecções

são tratadas com outras drogas, podem se converter nos principais reservatórios de genes *nim*, capazes de conferir resistência ao metronidazol em bactérias anaeróbias obrigatórias, modificando em profundidade visão do papel desses microrganismos.

Em virtude de sua maior atividade inibitória sobre anaeróbios obrigatórios Gram-negativos, o metronidazol permanece como boa opção para o tratamento empírico para as infecções anaeróbias mistas (LÖFMARK et al., 2010; JAMAL et al., 2015; NOVAK et al., 2015; VELOO & VAN WINKELHOFF, 2015), mesmo que sua efetividade frente a organismos Gram-positivos, como os gêneros *Clostridium* e *Peptostreptococcus*, não seja elevada (MARCHAND-AUSTIN et al., 2014; NOVAK et al., 2015; PEDNEKAR et al., 2015).

3.5. RESISTÊNCIA ÀS QUINOLONAS E FLUOROQUINOLONAS

As quinolonas e as fluoroquinolonas são agentes antibacterianos capazes de atuar sobre as DNA girases e DNA topoisomerases bacterianas, controlando o grau de enovelamento do DNA e a síntese de mRNA, duplicação do cromossomo bacteriano e mecanismos de proteção a essa estrutura, podendo levar à fragmentação cromossômica e inibição do metabolismo dos ácidos nucleicos (DRLICA, 1999; BHOPALE et al., 2014). Essa classe de drogas é frequentemente utilizada no tratamento de infecções ligadas a microrganismos multirresistentes, como as infecções urinárias e respiratórias, de forma que a disseminação de cepas resistentes a esses fármacos é de importância ímpar (REDGRAVE et al., 2014).

Os primeiros casos de infecções causadas por microrganismos resistentes a essas drogas remontam à década de 1970, logo após a introdução do ácido nalidíxico como agente terapêutico (JACOBY, 2005). Como agravante, a velocidade de disseminação das linhagens resistentes tem se mostrado bastante elevada, principalmente em infecções nosocomiais (NEUHEUSER et al., 2003), o que pode estar ligado ao próprio mecanismo de ação desses agentes, interferindo com o metabolismo do DNA, bem como à transmissão horizontal dos determinantes de resistência.

Os principais mecanismos de resistência a essa classe de drogas incluem a modificação das enzimas acima mencionadas, reduzindo sua afinidade pela droga, bem como a redução do seu acúmulo intracitoplasmático pela ação de bombas de efluxo do antimicrobiano (HIASA & SHEA, 2000; BLONDEAU, 2004; ELIOPOULOS, 2004; DALHOFF, 2012) ou pela diminuição das proteínas de membrana capazes de facilitar a penetração da droga na célula (BLONDEAU, 2004).

Um terceiro mecanismo de resistência envolve genes localizados em plasmídeos conjugativos, denominados genes *qnr*, que codificam para uma proteína com 219 aminoácidos capazes de proteger as DNA girases e topoisomerases da ação das quinolonas, colaborando para reduzir a eficácia dessas drogas (ROBICSEK et al., 2006), principalmente em bactérias Gram-negativas da família *Enterobacteriaceae* e outros patógenos multirresistentes (JACOBY, 2005; DRLICA et al., 2009). Tais plasmídeos vêm sendo detectados e caracterizados ao redor do mundo, pouco interferindo as condições sociais e econômicas das populações humanas envolvidas (DRLICA et al., 2009), incluindo a ocorrência desses marcadores, em particular *qnrC* e *qnrD*, em rios que recebem efluentes humanos (XU et al., 2015).

Merece destaque também que as quinolonas são capazes de ativar os mecanismos de reparo do DNA microbiano, o que pode estar associado à elevada frequência de mutação em microrganismos expostos a esses agentes, o que sugere que o próprio uso da droga, além do efeito sobre a seleção de linhagens menos sensíveis ou mais resistentes, ainda pode exacerbar a própria velocidade em que o processo de desenvolvimento de mutações capazes de, progressivamente, reduzir a sensibilidade microbiana a esses agentes, em função do aumento da frequência de mutação nas linhagens microbianas (JACOBY, 2005; DALHOFF, 2012).

Os principais grupos microbianos resistentes às quinolonas e fluoroquinolonas são os membros dos gêneros *Streptococcus*, *Staphylococcus* e *Enterococcus* (HOOPER, 2000; REDGRAVE et al., 2014), bem como a família *Enterobacteriaceae* (HOOPER, 2000; HOPKINS et al., 2005; DALHOFF, 2012; REDGRAVE et al., 2014), sendo que os mecanismos envolvidos no processo, em particular a mutação dos genes que codificam para a DNA girasse e DNA topoisomerase bacterianas tendem a ser diferentes entre os microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos (HOOPER, 2000; REDGRAVE et al., 2014).

As fluoroquinolonas e quinolonas não são as drogas de primeira escolha no tratamento de infecções causadas por anaeróbios, uma vez que os nitroimidazóis têm mais atividade frente aos anaeróbios Gram-negativos, os quais são mais frequentemente encontrados nesses processos (KIM & HOOPER, 2014). Entretanto, a associação das fluoroquinolonas com metronidazol (KIM & HOOPER, 2014) vem sendo utilizada em infecções anaeróbias graves com bons resultados, a despeito de alguns anaeróbios e microaerófilos apresentarem de 13% a 24% de resistência às fluoroquinolonas (NAGY et al., 2011; SHIN et al., 2013).

4. PRINCIPAIS CONCLUSÕES CLÍNICAS

Em função dos múltiplos mecanismos de resistência descritos para todos os principais grupos de drogas antimicrobianas em uso no tratamento das infecções orofaciais associadas ao biofilme é de grande relevância avaliar o contato prévio do paciente com esses mesmos agentes, o que pode ter influenciado a seleção de cepas resistentes, bem como o tempo de tratamento e seu histórico médico, devendo-se reservar as associações entre β -lactâmicos e metronidazol para as infecções orais menores com risco de envolvimento dos espaços nobres da face.

A clindamicina pode ser reservada para esses mesmos quadros, principalmente nos pacientes alérgicos aos β -lactâmicos, como também podem sê-los as drogas do grupo dos macrolídeos, com o cuidado de manter uma observação mais estreita do paciente em função da resistência em grupos bacterianos relevantes e aos efeitos colaterais da droga, em particular sobre a microbiota intestinal, com o desenvolvimento de colite pseudomembranosa em alguns pacientes.

As tetraciclinas e drogas similares, como a minociclina e a doxiciclina, tem seu uso reservado para casos especiais que tenham se mostrado particularmente sensíveis em testes de susceptibilidade *in vitro*, mas principalmente no tratamento periodontal, onde os níveis locais das drogas no interior das bolsas periodontais são, no geral, muito superiores à concentração inibitória mínima para os membros do biofilme. Deve-se ressaltar que essas drogas apresentam notável afinidade pelo cálcio, podem ser deglutidas e incorporadas ao tecido mineralizado que estiver sendo produzido, como ossos e dentina, mas essa característica é de maior relevância para os pacientes com idade inferior a 12 anos, por representar o término do período de mais intensa dentinogênese na coroa dental, podendo produzir pigmentação.

As fluoroquinolonas podem ter papel significativo no tratamento de infecções orofaciais provocadas por microrganismos exógenos a esse complexo anatômico, como as enterobactérias, deixando-as de lado para os casos de infecções anaeróbias mistas, quase sempre marcadas pela presença de gás no tecido, odor pútrido, tecido necrótico, além de histórico de envolvimento dental ou periodontal.

5. REFERÊNCIAS

ABGOTTSPON, H.; NÜESCH-INDERBINEN, M. T.; ZURFLUH, K.; ALTHAUS, D.; HÄCHLER, H.; STEPHAN, R. *Enterobacteriaceae* with extended-spectrum- and

- pampc-type β -lactamase-encoding genes isolated from freshwater fish from two lakes in Switzerland. *Antimicrob Agents Chemother*, v. 58, p. 2482 - 2484, 2014.
- ADESOJI, A. T.; OGUNJOBI, A. A.; OLATOYE, I. O.; DOUGLAS, D. R. Prevalence of tetracycline resistance genes among multi-drug resistant bacteria from selected water distribution systems in southwestern Nigeria. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.*, v. 14, 2015. DOI 10.1186/s12941-015-0093-1
- ALVES, M S.; PEREIRA, A.; ARAÚJO, S M.; CASTRO, B B.; CORREIA, A C M.; HENRIQUES, I. Sea water is a reservoir of multi-resistant *Escherichia coli*, including strains hosting plasmid-mediated quinolones resistance and extended-spectrum beta-lactamases genes. *Front Microbiol.*, v. 5, 1-10, 2014. Doi: 10.3389/fmicb.2014.00426
- AMINOV, R.; MACKIE, R I. Evolution and ecology of antibiotic resistance genes. *FEMS Microbiol Lett.*, v. 271, p. 147 - 161, 2007.
- ARDILA, C M.; GRANADA, M I.; GUZMÁN, I. C. Antibiotic resistance of subgingival species in chronic periodontitis patients. *J Periodont Res.*, v. 45, p. 557 - 563, 2010.
- ARWEILER, N B.; PIETRUSKA, K.; PIETRUSKI, J.; SKURSKA, A.; DOLIŃSKA, E.; HEUMANN, C.; AUSCHILL, T M.; SCULEAN, A. Six-month results following treatment of aggressive periodontitis with antimicrobial photodynamic therapy or amoxicillin and metronidazole. *Clin Oral Invest.*, v. 18, p. 2129 - 2135, 2014.
- BAINES, S D.; O'CONNOR, R.; FREEMAN, J.; FAWLEY, W N.; HARMANUS, C.; MASTRANTONIO, P.; KUIJPER, E J.; WILCOX, M H. Emergence of reduced susceptibility to metronidazole in *Clostridium difficile*. *J Antimicrob Chemother.*, v. 62, p. 1046 - 1052, 2008.
- BECEIRO, A.; TOMÁS, M.; BOU, G. Antimicrobial resistance and virulence: a successful or deleterious association in the bacterial world? *Clin Microbiol Rev.*, v. 26, p. 185 - 230, 2013.
- BELOIN, C.; RENARD, S.; GHIGO, J-M.; LEBEAUX, D. Novel approaches to combat bacterial biofilms. *Curr Opin Pharmacol.*, v. 18, p. 61 - 68, 2014.
- BENACHINMARDI, K K.; NAGMOTI, J.; KOTHIWALE, S.; METGUD, S. C. Prevalence of extended spectrum beta-lactamase producing anaerobic bacteria in chronic periodontitis. *J Indian Soc Periodontol.*, v. 18, p. 567-569, 2015.
- BÉRDY, J. Bioactive microbial metabolites. A personal view. *J. Antibiot*, v. 58, p. 1 - 26, 2005.
- BHOPALE, G M. Importance of fluoroquinolones in human healthcare: a comprehensive review *Int. J Pharm Sci Res.*, v. 5, p. 5097-5103, 2014.

- BLONDEAU, J M. Fluoroquinolones: mechanism of action, classification, and development of resistance. *Surv Ophthalmol.*, v. 49 (supl. 2), p. S73- S78, 2004.
- BOYANOVA, L.; KOLAROV, R.; MITOV, I. Recent evolution of antibiotic resistance in the anaerobes as compared to previous decades. *Anaerobe*, v. 31, p. 4 - 10, 2015.
- BRENCIANI, A.; TIBERI, E.; TILI, E.; MINGOIA, M.; PALMIERI, C.; VARALDO, P. E.; GIOVANETTI, E. Genetic determinants and elements associated with antibiotic resistance in *viridans* group streptococci. *J Antimicrob Chemother.*, v. 69, p. 1197 - 1204, 2014.
- BROOK, I. Anaerobic bacteria in upper respiratory tract and head and neck infections: microbiology and treatment. *Anaerobe*, v. 18, p. 214 - 220, 2012.
- BROOK, I. Fusobacterial head and neck infections in children. *Int. J. Pediatric Otorhinolaryngol.*, v. 79, p. 953 - 958, 2015.
- BUSH, K. Improving known classes of antibiotics: an optimistic approach for the future. *Curr Opin Pharmacol.*, v. 12, p. 527 - 534, 2012.
- CASSIR, N.; ROLAIN J-M.; BROUQUI, P. A new strategy to fight antimicrobial resistance: the revival of old antibiotics. *Front Microbiol.*, v. 5, 1-15, 2014.
- CHAUDHARY, M.; PAYASI, A. Emerging metronidazole resistance in anaerobes and mapping their susceptibility behaviour. *Amer J Infect Dis.*, v. 10, p. 56 - 63, 2014.
- CHENG, W.; CHEN, H.; SU, C.; YAN, S. Abundance and persistence of antibiotic resistance genes in livestock farms: a comprehensive investigation in eastern China. *Environ Int.*, v. 61, p. 1 - 7, 2013.
- COLLINS, J R.; ARREDONDO, A.; ROA, A.; VALDEZ, Y.; LEÓN, R.; BLANC, V. Periodontal pathogens and tetracycline resistance genes in subgingival biofilm of periodontally healthy and diseased Dominican adults. *Clin Oral Invest.*, 2015. DOI 10.1007/s00784-015-1516-2.
- D'COSTA, V M.; GRIFFITHS, E.; WRIGHT, G D. Expanding the soil antibiotic resistome: exploring environmental diversity. *Curr Opin Microbiol.*, v. 10, p. 481-489, 2007.
- DALHOFF, A. Global fluoroquinolone resistance epidemiology and implications for clinical use. *Interdisc Perspect Infect Dis.*, v. 2012. Doi:10.1155/2012/976273.
- DEMEREK, M. Origin of bacterial resistance to antibiotics. *J Bacteriol.*, v. 56, p. 63 - 74, 1948.
- DRLICA, K. Mechanism of fluoroquinolone action. *Curr Opin Microbiol.*, v. 2, p. 504 - 508, 1999.

- DRLICA, K.; HIASA, H.; KERNS, R.; MALIK, M.; MUSTAEV, A.; ZHAO, X. Quinolones: action and resistance updated. *Curr Topics Med Chem.*, v. 9, p. 981- 998, 2009.
- DUPIN, C.; TAMANAI-SHACOORI, Z.; EHRMANN, E.; DUPONT, A.; BARLOY-HUBLERE, F.; BOUSARGHIN, L.; BONNAURE-MALLET, M.; JOLIVET-GOUGEON, A. Oral Gram-negative anaerobic bacilli as a reservoir of β -lactam resistance genes facilitating infections with multiresistant bacteria. *Int J Antimicrob Agents*, v. 45, p. 99 - 105, 2015.
- EHRMANN, E.; HANDAL, T.; TAMANAI-SHACOORI, Z.; BONNAURE-MALLET, M.; FOSSE, T. High prevalence of β -lactam and macrolide resistance genes in human oral *Capnocytophaga* species. *J Antimicrob Chemother Adv.*, 2013. Doi:10.1093/jac/dkt350.
- EHRMANN, E.; HANDAL, T.; TAMANAI-SHACOORI, Z.; BONNAURE-MALLET, M.; FOSSE, T. High prevalence of β -lactam and macrolide resistance genes in human oral *Capnocytophaga* species. *J Antimicrob Chemother.* v. 69, p. 381 - 384, 2014.
- EITEL, Z.; SÓKI, Z.; URBÁN, E.; NAGY, E. The prevalence of antibiotic resistance genes in *Bacteroides fragilis* group strains isolated in different European countries. *Anaerobe*, v. 21, p. 43 - 49, 2013.
- ELIOPOULOS, G M. Quinolone resistance mechanisms in pneumococci. *Clin Infect Dis.*, v. 38(Supl 4), p. S350- S356, 2004.
- FALLAH, F.; BORHAN, R. S.; HASHEMI, A. Detection of bla(IMP) and bla(VIM) metallo- β -lactamases genes among *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Int J Burn Trauma*, v. 3, p. 122 - 124, 2013.
- FERNÁNDEZ-CANIGIA, L.; CEJAS, D.; GUTKIND, G.; RADICE, M. Detection and genetic characterization of β -lactamases in *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* isolated from oral cavity infections and peritonsillar abscesses. *Anaerobe*, v. 33, p. 8 - 13, 2014.
- FLÓREZ, A B.; ALEGRÍA, A.; ROSSI, F.; DELGADO, S.; FELIS, G E.; TORRIANI, S.; MAYO, B. Molecular identification and quantification of tetracycline and erythromycin resistance genes in Spanish and Italian retail cheeses. *BioMed Res Int.*, v. 1, 2014. DOI 10.1155/2014/746859.
- FLUIT, C.; VISSER, M R.; SCHMITZ, F-J. Molecular detection of antimicrobial resistance. *Clin Microbiol Rev.*, v. 14, p. 836 - 871, 2001.

- FORSBERG, K J.; PATEL, S.; WENCEWICZ, T A.; DANTAS, G. The tetracycline destructases: a novel family of tetracycline-inactivating enzymes. *Chem. & Biol.*, v. 22, p. 1 - 10, 2015.
- GAMBOA, F.; ACOSTA, A.; GARCÍA, D-A.; VELOSA, J.; ARAYA, N.; LEDERGERBER, R. Occurrence of *Porphyromonas gingivalis* and its antibacterial susceptibility to metronidazole and tetracycline in patients with chronic periodontitis. *Acta Odontol Latinoam.*, v. 27, p. 137 – 144, 2014.
- GUO, X.; LI, J.; YANG, F.; YANG, F.; YIN, D. Prevalence of sulfonamide and tetracycline resistance genes in drinking water treatment plants in the Yangtze River Delta, China. *Sci. Total Environ.*, v. 493, p. 626 - 631, 2014.
- HANDAL, T.; GIRAUD-MORIN, C.; CAUGANT, D. A.; MADINIER, I.; OLSEN, I.; FOSSE, T. Chromosome- and plasmid encoded β -lactamases in *Capnocytophaga* spp. *Antimicrob Agents Chemother.*, v. 49, p. 3940 - 3943, 2005.
- HARNISZ, M.; KORZENIEWSKA, E.; CIESIELSKI, S.; GOLAS, I. Tet genes as indicators of changes in the water environment: relationships between culture-dependent and culture-independent approaches. *Sci Total Environ.* v. 505, p. 704 – 711, 2015a.
- HARNISZ, M.; KORZENIEWSKA, E.; GOŁAS, I. The impact of a freshwater fish farm on the community of tetracycline resistant bacteria and the structure of tetracycline resistance genes in river water. *Chemosphere*, v. 128, p. 134 – 141, 2015b.
- HE, J.; CHANG, Q.; HU, F.; FENG, X.; ZHU, D.; YU, L. Prevalence and antimicrobial susceptibility of anaerobes from patients with periodontal abscess in China. *J. Antibiotics*, p. 1 - 2, 2012. Doi:10.1038/ja.2012.94
- HIASA, H.; SHEA, M E. DNA gyrase-mediated wrapping of the DNA strand is required for the replication fork arrest by the DNA gyrase-quinolone- DNA ternary complex. *J Biol Chem.*, v. 275, p. 34780- 34786, 2000.
- HOOPER, D C. Mechanisms of action and resistance of older and newer fluoroquinolones. *Clin Infect Dis.*, v. 31 (supl. 2), p. S24 - S28, 2000.
- HOPKINS, K L.; DAVIES, R. H.; THRELFALL, E J. Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: recent developments. *Int J Antimicrob Agents*, v. 25, p. 358 - 373, 2005.
- HUANG, M-H.; ZHANG, W.; ZHENG, Y.; ZHANG, W. Correlation among extracellular polymeric substances, tetracycline resistant bacteria and tetracycline resistance genes under trace tetracycline. *Chemosphere*, v. 117, p. 658 - 662, 2014.

- IGOUMENAKIS, D.; GKINIS, G.; KOSTAKIS, G.; MEZITIS, M.; RALLIS, G. Severe odontogenic infections: causes of spread and their management. *Surg Infect.*, v. 15, p. 64-68, 2014.
- ILCHMANN, C.; ZAISS, N. H.; SPEICHER, A.; CHRISTNER, M.; ACKERMANN, G.; ROHDE, H. Comparison of resistance against erythromycin and moxifloxacin, presence of binary toxin gene and PCR ribotypes in *Clostridium difficile* isolates from 1990 and 2008. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*, v. 29, p. 1571 - 1573, 2010.
- IOANNIDIS I, SAKELLARI D, SPALA A, ARSENAKIS M, KONSTANTINIDIS A. Prevalence of *tetM*, *tetQ*, *nim* and *bla_{TEM}* genes in the oral cavities of Greek subjects: a pilot study. *J Clin Periodontol.*, v. 36, p. 569 - 574, 2009.
- IWAHARA, K.; KURIYAMA, T.; SHIMURA, S.; WILLIAMS, D W.; YANAGISAWA, M.; NAKAGAWA, K.; KARASAWA, T. Detection of *cfxA* and *cfxA2*, the beta-lactamase genes of *Prevotella* spp., in clinical samples from dentoalveolar infection by real-time PCR. *J Clin Microbiol.*, v. 44, p. 172 - 176, 2006.
- JACOBY, G A. Mechanisms of resistance to quinolones. *Clin Infect Dis.*, v. 41, p. S120 - 126, 2005.
- JAMAL, W.; AL HASHEM, G.; ROTIMI, V. O. Antimicrobial resistance among anaerobes isolated from clinical specimens in Kuwait hospitals: comparative analysis of 11-year data. *Anaerobe*, v. 31, p. 25 - 30, 2015.
- JAMAL, W.; SHAHIN, M.; ROTIMI, V O. Surveillance and trends of antimicrobial resistance among clinical isolates of anaerobes in Kuwait hospitals from 2002 to 2007. *Anaerobe*, v. 16, p. 1 - 5, 2010.
- JIANG, L.; HU, X.; XU, T.; ZHANG, H.; SHENG, D.; YIN, D. Prevalence of antibiotic resistance genes and their relationship with antibiotics in the Huangpu River and the drinking water sources, Shanghai, China. *Sci. Total Environ.*, v. 458 - 460, p. 267 - 272, 2013.
- JINDAL, B A K.; PANDYA, M. K.; KHAN, M I. D. Antimicrobial resistance: a public health challenge. *Med J. Armed Forces India*, v. 71, p. 171 - 181, 2015.
- JUNG, Y-H.; KIM, K W.; LEE, K M. YOO, J I.; CHUNG, G T. KIM, B S.; KWAK, H-S, LEE, Y. S. Prevalence and characterization of macrolide-lincomycin-streptogramin B-resistant *Staphylococcus aureus* in Korean hospitals. *J Antimicrob Chemother.*, v. 61, p. 458-460, 2008.
- KIM, E S.; HOOPER, D. C. Clinical Importance and epidemiology of quinolone resistance. *Infect Chemother.*, v. 46, p. 226-238, 2014.

- KLUYTMANS, J J W.; OVERDEVEST, I T M A.; WILLEMSSEN, I.; KLUYTMANS-VAN DEN BERGH, M F Q.; VAN DER ZWALUW, K.; HECK, M.; RIJNSBURGER, M.; VANDENBROUCKE-GRAULS, C M J E.; SVELKOU, P. H. M.; JOHNSTON, B. D.; GORDON, D.; JOHNSON, J R. Extended-Spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* from retail chicken meat and humans: comparison of strains, plasmids, resistance genes, and virulence factors. *Clin Infect Dis.*, 2012. DOI: 10.1093/cid/cis929.
- KOUIDHI, B.; AL QURASHI, Y M A.; CHAIEB, K. Drug resistance of bacterial dental biofilm and the potential use of natural compounds as alternative for prevention and treatment. *Microb Pathogen.*, v. 80, p. 39 - 49, 2015.
- KOUKOS, G.; SAKELLARI, D.; ARSENAKIS, M.; TSALIKIS, L.; SLINI, T.; KONSTANTINIDIS, A. Prevalence of tetracycline resistance genes in the oral cavity of Greek subjects. *J Biol. Res. Thessaloniki*, v. 20, p. 387 - 394, 2013.
- KOUKOS, G.; PAPADOPOULOS, C.; TSALIKIS, L.; SAKELLARI, D.; ARSENAKIS, M.; KONSTANTINIDIS, A. Prevalence of antibiotic resistance genes in subjects with successful and failing dental implants. A pilot study. *Open Dent J.*, v. 8, p. 257 - 263, 2014.
- KYSELKOVÁ, M.; KOTRBOVÁ, L.; BHUMIBHAMON, G.; CHRÓNÁKOVÁ, A.; JIROUT, J.; VRCHOTOVÁ, N.; SCHMITT, H.; ELHOTTOVÁ, D. Tetracycline resistance genes persist in soil amended with cattle feces independently from chlortetracycline selection pressure. *Soil Biol. & Biochem.*, v. 81, p. 259 - 265, 2015.
- LAXMINARAYAN, R.; DUSE, A.; WATTAL, C.; ZAIDI, A K M.; WERTHEIM, H F L. SUMPRADIT, N.; VLIEGHE, E.; HARA, G L.; GOULD, I M.; GOOSSENS, H.; GREKO, C.; SO, A. D. BIGDELI, M.; TOMSON, G.; WOODHOUSE, W.; OMBAKA, E.; PERALTA, A Q.; QAMAR, F N.; MIR, F.; KARIUKI, S.; BHUTTA, Z A.; COATES, A.; BERGSTROM, R.; WRIGHT, G D.; BROWN, E D.; CARS, O. Antibiotic resistance - the need for global solutions. *Lancet Infect Dis Comm.*, v. 13, p. 1057 - 1098, 2014.
- LECLERCQ, R. Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. *Clin Infect Dis.*, v. 34, p. 482 - 492, 2002.
- LÖFMARK, S.; EDLUND, C.; NORD, C. E. Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections. *Clin Infect Dis.*, v. 50, p. S16 - S23, 2010.

- LOYOLA-RODRIGUEZ, J-P.; GARCIA-CORTES, J O.; MARTINEZ-MARTINEZ, R E.; PATINO-MARIN, N.; MARTINEZ-CASTANON, G A.; ZAVALA-ALONSO, N V.; AMANO, A. Molecular identification and antibiotic resistant bacteria isolated from primary dentition infections. *Aus Dent J.*, v. 59, p. 497 - 503, 2014.
- MAISONNEUVE, E.; GERDES, K. Molecular mechanisms underlying bacterial persisters. *Cell*, v. 157, p. 539 - 548, 2014.
- MANTZOURANI, I.; PANOPOULOU, M.; THEODORIDOU, I.; TSIROGIANNIS, I.; PAPAEMMANOUIL, V.; JOHNSON, B.; BIEDENBACH, D.; BOUCHILLON, S.; STAVROPOULOU, E.; BEZIRTZOGLU, E. Comparative antimicrobial susceptibility profiling of tigecycline and other antibiotics against clinical and environmental isolates. *Int J Curr Microbiol App Sci.*, v. 4, p. 384 - 396, 2015.
- MARCHAND-AUSTIN, A.; RAWTE, P.; TOYE, B.; JAMIESON, F. B.; FARRELL, D J.; PATEL, S N. Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of anaerobic bacteria in Ontario, 2010 – 2011. *Anaerobe*, v. 28, p. 120 - 125, 2014.
- MEGGERSEE, R.; ABRATT, V. The occurrence of antibiotic resistance genes in drug resistant *Bacteroides fragilis* isolates from Groote Schuur Hospital, South Africa. *Anaerobe*, v. 32, p. 1 – 6, 2015.
- MERRIAM, C. V.; CITRON, D M.; TYRRELL, K L.; WARREN, Y. A.; GOLDSTEIN, E J C. In vitro activity of azithromycin and nine comparator agents against 296 strains of oral anaerobes and 31 strains of *Eikenella corrodens*. *Int. J Antimicrob Agents*, v. 28, p. 244 - 248, 2006.
- MONTAGNER, F, JACINTO, R C.; SIGNORETTI, F G C.; MATTOS, V S.; GRECCA, F S.; GOMES, B P F A. Beta-lactamic resistance profiles in *Porphyromonas*, *Prevotella*, and *Parvimonas* species isolated from acute endodontic infections. *J Endod.*, v. 40, p. 339 -344, 2014.
- MORAES, L C.; SÓ, M V R.; DAL PIZZOL, T. S.; FERREIRA, M B C.; MONTAGNER, F. Distribution of genes related to antimicrobial resistance in different oral environments: a systematic review. *J Endod*, v. 41, p. 434 - 441, 2015.
- NAGY, E.; URBÁN, E.; NORD, C E. et al. Antimicrobial susceptibility of *Bacteroides fragilis* group isolates in Europe: 20 years of experience. *Clin Microbiol Infect.*, v. 17, p. 371- 379, 2011.
- NG, L-K.; ALFA, M M.; MULVEY, M. Multiplex PCR for the detection of tetracycline resistant genes. *Mol Cellr Probes*, v. 15, p. 209 - 215, 2001.

- NOVAK A.; RUBIC, Z.; DOGAS, V.; GOIC-BARISIC, I.; RADIC, M.; TONKIC, M. Antimicrobial susceptibility of clinically isolated anaerobic bacteria in a University Hospital Centre Split, Croatia in 2013. *Anaerobe*, v. 31, p. 31 - 36, 2015.
- PATEL M. The prevalence of beta lactamase-producing anaerobic oral bacteria in South African patients with chronic periodontitis. *SADJ.*, v. 66, p. 416 - 418, 2011.
- PATEL, H A.; SHAH, S.; PADMANABHAN, A. J; PATIL, R S.; ARAKERI, G. Antibiotic resistance in oral and maxillofacial surgery: a review. *Ann Essenc Dent.*, v. VI, p. 30 - 32, 2014.
- PEDNEKAR, S .; POL, S S.; KAMBLE, S S.; DESHPANDE, S K.; BHARADWAJ R S. Drug resistant anaerobic infections: are they complicating diabetic foot ulcer? *Int J Healthc Biom Res.*, v. 3, p. 142 - 148, 2015.
- PIGRAU, C.; ALMIRANTE, B.; RODRIGUEZ, D.; LARROSA, N.; BESCOS, S.; RASPALL, G.; PAHISSA, A. Osteomyelitis of the jaw: resistance to clindamycin in patients with prior antibiotics exposure. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*, 2008. DOI 10.1007/s10096-008-0626-z.
- POIREL, L.; WALSH, T R.; CUVILLIER, V.; NORDMANN, P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diag Microbiol Infect Dis.*, v. 70, p. 119 - 123, 2011.
- PUMBWE, L., CURZON, M.; WEXLER, H M. Rapid multiplex PCR assay for simultaneous detection of major antibiotic resistance determinants in clinical isolates of *Bacteroides fragilis*. *J Rapid Meth Automat Microbiol.*, v. 16, p. 381 - 393, 2008.
- PYÖRÄLÄ, S.; BAPTISTE, K E.; CATRY, B.; VAN DUIJKEREN, E.; GREKO, C.; MORENO, M A.; POMBA , M C M F.; RANTALA, M.; RUŽAUSKAS, M.; SANDERS, P.; THRELFALL, E J.; TORREN-EDO, J.; TÖRNEKE, K. Macrolides and lincosamides in cattle and pigs: use and development of antimicrobial resistance. *Vet J.*, v. 200, p. 230 - 239, 2014.
- RAFFALDI, I.; LE SERRE, D.; GARAZZINO, S.; SCOLFARO, C.; BERTAINA, C.; MIGNONE, F.; PERADOTTO, F.; TAVORMINA, P.; TOVO, P-A. Diagnosis and management of deep neck infections in children: the experience of an Italian paediatric centre. *J Infect Chemother.*, v. 21, p. 110 - 113, 2015.
- RAHMAN, M H.; SAKAMOTO, K Q.; KITAMURA, S I.; NONAKA, L.; SUZUK, S. Diversity of tetracycline-resistant bacteria and resistance gene *tet(M)* in fecal microbial community of Adélie penguin in Antarctica. *Polar Biol.*, 2015. DOI 10.1007/s00300-015-1732-x.

- RAMS, T E.; DEGENER, J E.; VAN WINKELHOFF, A J. Antibiotic resistance in human chronic periodontitis microbiota. *J Periodontol.*, v. 85, p. 160 - 169, 2014a.
- RAMS, T E.; DEGENER, J E.; VAN WINKELHOFF, A J. Antibiotic resistance in human peri-implantitis microbiota. *Clin Oral Impl Res.*, v. 25, p. 82 - 90, 2014b.
- RAMS, T E.; DEGENER, J E.; VAN WINKELHOFF, A J. Prevalence of β -lactamase-producing bacteria in human periodontitis. *J Periodontal Res.*, v. 48, p. 493 - 499, 2013.
- REDGRAVE, L S.; SUTTON, S B.; WEBBER, M. A.; PIDDOCK, L J V. Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success. *Trends Microbiol.*, v. 22, p. 438 - 445, 2014.
- REGA, A J.; AZIZ, S R.; ZICCARDI, V B. Microbiology and antibiotic sensitivities of head and neck space infections of odontogenic origin. *J Oral Maxillofac Surg.*, v. 64, p. 1377 - 1380, 2006.
- ROBICSEK, A.; JACOBY, G. A.; HOOPER A. C. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect Dis.*, v. 6, p. 629 - 640, 2006.
- RÔÇAS, I N.; SIQUEIRA JR, J F. Detection of antibiotic resistance genes in samples from acute and chronic endodontic infections and after treatment. *Arch Oral Biol.*, v. 58, p. 1123 - 1128, 2013.
- ROSCHANSKI, N.; FISCHER, J.; GUERRA, B.; ROESLER, U. Development of a multiplex real-time PCR for the rapid detection of the predominant beta-lactamase genes CTX-M, SHV, TEM and CIT-type AmpCs in *Enterobacteriaceae*. *PlosOne*, v. 9, 2014. Doi: 10.1371/journal.pone.0100956.
- RUSH, D E.; ABDEL-HAQ, N.; ZHU, J-F.; AAMAR, B.; MALIAN, M. Clindamycin versus unasin in the treatment of facial cellulitis of odontogenic origin in children. *Clin Pediatr.* v. 46, p. 154-159, 2007.
- SANDLE, T.; BABENKO, D.; LAVRINENKO, A.; AZIZOV, A.; CHEȘCĂ, A. The current state of PCR approach in detection and identification of carbapenem hydrolysis β -lactamases genes. *Eur J Parenter & Pharm Sci.*, v. 19, p. 1-12, 2014.
- SARKAR, A.; PAZHANI, G P.; DHARANIDHARAN, R.; GHOSH, A.; RAMAMURTHY, T. Detection of integron-associated gene cassettes and other antimicrobial resistance genes in enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*. *Anaerobe*, v. 33, p. 18 - 24, 2015.
- SENHORINHO, G N A.; NAKANO, V.; LIU, C.; SONG, Y.; FINEGOLD, S M.; AVILA-CAMPOS, M. J. Occurrence and antimicrobial susceptibility of *Porphyromonas* spp.

- and *Fusobacterium* spp. in dogs with and without periodontitis. *Anaerobe*, v. 18, p. 381 - 385, 2012.
- SHEIKH, S O.; JABEEN, K.; QAISER, S.; TANWIR AHSAN, S.; KHAN, E.; ZAFAR, A. High rate of non-susceptibility to metronidazole and clindamycin in anaerobic isolates: data from a clinical laboratory from Karachi, Pakistan. *Anaerobe*, v. 33, p. 132 - 136, 2015.
- SHILNIKOVA, I.; DMITRIEVA, N. Evaluation of antibiotic susceptibility of *Bacteroides*, *Prevotella* and *Fusobacterium* species isolated from patients of the N. N. Blokhin Cancer Research Center, Moscow, Russia. *Anaerobe*, v. 31, p. 15 - 18, 2015.
- SHIN, E.; OH, Y.; KIM, M.; JUNG, J.; LEE, Y. Antimicrobial resistance patterns and corresponding multilocus sequence types of the *Campylobacter jejuni* isolates from human diarrheal samples. *Microb Drug Resist.*, v. 19, p. 110 - 116, 2013.
- SOARES, G M S.; FIGUEIREDO, L. C.; FAVERI, M.; CORTELLI, S. C.; DUARTE, P M.; FERES, M. Mechanisms of action of systemic antibiotics used in periodontal treatment and mechanisms of bacterial resistance to these drugs. *J Appl Oral Sci.*, v. 20, p. 295 - 309, 2012.
- SÓKI, J.; GONZALEZ, S. M.; URBÁN, E.; NAGY, E.; AYALA, J A. Molecular analysis of the effector mechanisms of cefoxitin resistance among *Bacteroides* strains. *J Antimicrob Chemother.*, v. 66, p. 2492 - 2500, 2011.
- SYDENHAM, T V.; SÓKI, J.; HASMAN, H.; WANG, M. JUSTESEN, U S. Identification of antimicrobial resistance genes in multidrug-resistant clinical *Bacteroides fragilis* isolates by whole genome shotgun sequencing. *Anaerobe*, v. 31, p. 59 - 64, 2015.
- SZÉKELY, E.; EITEL, Z.; MOLNÁR, S.; SZÁSZ, I E.; BILCA, D. SÓKI, J. Analysis of Romanian *Bacteroides* isolates for antibiotic resistance levels and the corresponding antibiotic resistance genes. *Anaerobe*, v. 31, p. 11 - 14, 2015.
- TANG, S S.; APISARNTHANARAK, A.; HSUC, L Y. Mechanisms of β -lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community and healthcare-associated multidrug-resistant bacteria. *Adv. Drug Deliv Rev.*, v. 78, p. 3 - 13, 2014.
- TAORI, S K.; HALL, V.; POXTON, I R. Changes in antibiotic susceptibility and ribotypes in *Clostridium difficile* isolates from southern Scotland, 1979-2004. *J Med Microbiol.*, v. 59, p. 338 - 344, 2010.
- TEUBER, M. Veterinary use and antibiotic resistance. *Cur Opin Microbiol.*, v. 4, p. 493 - 499, 2001.

- THAKER, M.; SPANOGIANNOPOULOS, P.; WRIGHT, G D. The tetracycline resistome. *Cell Mol Life Sci.*, v. 67, p. 419 - 431, 2010.
- TOPRAK, E.; VERES, A.; MICHEL, J-B.; CHAIT, R.; HARTL, D L.; KISHONY, R. Evolutionary paths to antibiotic resistance under dynamically sustained drug selection. *Nat Gen.*, v. 44, p. 101 - 106, 2012.
- TRAN, C M.; TANAKA, K.; WATANABE, K. PCR-based detection of resistance genes in anaerobic bacteria isolated from intra-abdominal infections. *J. Infect Chemother.*, v. 19, p. 279 - 290, 2013.
- VELOO, A C M., VAN WINKELHOFF, A. J. Antibiotic susceptibility profiles of anaerobic pathogens in the Netherlands. *Anaerobe*, v. 31, 19 - 24, 2015.
- WALIA, I S.; BORLE, R M.; MEHENDIRATTA, D.; YADAV, A O. Microbiology and antibiotic sensitivity of head and neck space infections of odontogenic origin. *J Maxillofac Oral Surg.*, v. 13, p. 16 - 21, 2014.
- WALSH, T.; TOLEMAN, M A. The emergence of pan-resistant Gram-negative pathogens merits a rapid global political response. *J Antimicrob Chemother.*, v. 67, p. 1 - 3, 2012.
- WRIGHT, G D. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nat Rev Microbiol.*, v. 5, p. 175 - 186, 2007.
- WRIGHT, G D. Mechanisms of resistance to antibiotics. *Curr Opin Chem Biol.*, v. 7, p. 563-569, 2003.
- WYBO, I.; VAN DEN BOSSCHE, D.; SOETENS, O.; VEKENS, E.; VANDOORSLAER, K.; CLAEYS, G.; GLUPCZYNSKI, Y.; IEVEN, M.; MELIN, P.; NONHOFF, C.; RODRIGUEZ – VILLALOBOS, H.; VERHAEGEN, J.; PIERARD, D. Fourth Belgian multicentre survey of antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria. *J Antimicrob Chemother.*, v. 69, p. 155 - 161, 2014.
- XIE, Y.; CHEN, J.; HE, J.; MIAO, X.; XU, M.; WU, X.; XU, B.; YU, L.; ZHANG, W. Antimicrobial resistance and prevalence of resistance genes of obligate anaerobes isolated from periodontal abscesses. *J Periodontol.*, v. 85, p. 327- 334, 2014.
- XU, J.; XU, Y.; WANG, H.; GUO, C.; QIU, H.; HE, Y.; ZHANG, Y.; LI, X.; WENG, W. Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in a sewage treatment plant and its effluent-receiving river. *Chemosphere*, v. 119, p. 1379-1385, 2015.
- YIM, G.; WANG, G H.; DAVIES, J. The truth about antibiotics. *Int J Med Microbiol.*, v. 296, p. 163 - 170, 2006.
- ZHOU, Z.; RASKIN, L.; ZILLES, J. L. Macrolide resistance in microorganisms at antimicrobial-free swine farms. *Appl Environ Microbiol.*, v. 75, p. 5814 - 5820, 2009.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

Elerson Gaetti Jardim Júnior

Faculdade de Odontologia de Araçatuba

16015-050 - Araçatuba SP, Brasil

egaettij@foa.unesp.br