



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



ROBERTA CRISTIANE CATELLI BAGLIE
FARMACÊUTICA

EFEITO DA CLARITROMICINA SOBRE A
RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE
ESTREPTOCOCOS ORAIS E ESTAFILOCOCOS
NASAIS DE INDIVÍDUOS SADIOS

Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, da Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção do título de
Mestre em Odontologia - Área de Farmacologia,
Anestesiologia e Terapêutica do Programa de Pós-
Graduação em Odontologia.

PIRACICABA – SP
2004

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

ROBERTA CRISTIANE CATELLI BAGLIE
FARMACÊUTICA

EFEITO DA CLARITROMICINA SOBRE A RESISTÊNCIA A
ANTIMICROBIANOS DE ESTREPTOCOCOS ORAIS E
ESTAFILOCOCOS NASAIS DE INDIVÍDUOS SADIOS

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Odontologia - Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica do Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Orientador:

Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo

Co-orientador:

Prof. Dr. Thales Rocha de Mattos Filho

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Fernando de Sá Del Fiol

Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo

Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen

UNICAMP
PIRACICABA – SP
2004

Ficha Catalográfica

B146e	Baglie, Roberta Cristiane Catelli. Efeito da claritromicina sobre a resistência a antimicrobianos de estreptococos orais e estafilococos nasais de indivíduos sadios. / Roberta Cristiane Catelli Baglie. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2004. xi, 76f. : il. Orientadores : Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo, Prof. Dr. Thales Rocha de Mattos Filho. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba. 1. Antibióticos. 2. Microrganismos. I. Groppo, Francisco Carlos. II. Mattos Filho, Thales Rocha de. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.
-------	---

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.

DEDICATÓRIA

DEDICATÓRIA

À **DEUS**, todo poderoso e misericordioso, por tudo e por todos, por sempre estar ao meu lado guiando meus passos e iluminando minha vida.

Ao amor da minha vida **SINVALDO**, por me acompanhar com tanta cumplicidade e compreensão, pelo amor, paciência, amizade, incentivo e colaboração constante com seus conhecimentos.

Aos meus queridos pais **WILSON** e **REGINA**, pelo exemplo de vida, por todo amor, carinho, confiança, paciência, apoio e por nunca medirem esforços para que eu me tornasse o que sou.

Às minhas irmãs **RENATA** e **RAQUEL**, a todos os meus familiares e amigos de infância pelo constante carinho e incentivo.

Com todo amor e carinho, dedico este trabalho.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao mestre e amigo, Prof. Dr. **FRANCISCO CARLOS GROPPPO**, meu orientador, grande encorajador, meu muito obrigada pela confiança, pelos ensinamentos, pelas palavras de consolo e solidariedade nos momentos difíceis, pela ajuda incondicional durante todas as etapas deste trabalho. Agradeço ainda pela inestimável orientação e contribuição para minha formação pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Prof. Dr. **THALES ROCHA DE MATTOS FILHO**, meu co-orientador, pela amizade, incentivo, confiança e conhecimentos compartilhados.

Ao grande amigo **ROGÉRIO HELÁDIO LOPES MOTTA** pelo precioso auxílio durante o desenvolvimento deste estudo, pelas muitas tardes comprometidas, pela dedicação e paciência sem interesse algum. Muito obrigada por sua contribuição que foi imprescindível para a conclusão deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **Pedro Luiz Rosalen** e às pesquisadoras **Ana Paula Del Bortollo Ruenis** e **Roberta Pessoa Simões** por terem cedido os microrganismos utilizados neste estudo, sem os quais ele não teria sido realizado.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, na pessoa do Magnífico Reitor, **Prof. Dr. Carlos Henrique de Brito Cruz** e à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, FOP, por meio do Diretor **Prof. Dr. Thales Rocha de Mattos Filho**.

Ao **Prof. Dr. Lourenço Correr Sobrinho**, coordenador dos Cursos de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.

À **Prof^a. Dra. Maria Cristina Volpato**, coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.

À instituição de fomento **CAPES**, Centro de Aperfeiçoamento de Pessoal Especializado, pelo apoio financeiro.

Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica da FOP/UNICAMP: **Prof. Dr. Eduardo Dias de Andrade**, **Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo**, **Prof. Dr. José Ranali**, **Prof^a Dra. Maria Cristina Volpato**, **prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen** e **Prof. Dr. Thales Rocha de Mattos Filho**, pela enorme contribuição em minha formação profissional.

AGRADECIMENTOS

Aos companheiros de Pós-Graduação pela troca de experiências e novas amizades. Aos amigos de laboratório de microbiologia **Aline Pacheco, Ramiro Mendonça Murata, Regiane Yatsuda, Rogério Heládio Lopes Motta e Simone Duarte** pelos momentos de descontração, paciência e colaboração durante a correria diária.

Ao amigo **Rafael Stipp** pela preciosa ajuda com as técnicas de microbiologia e informações empregadas na fase de identificação dos microrganismos.

À Srta. **Maria Elisa dos Santos**, secretária da área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica, pela competência, eficiência, dedicação e amizade que torna sempre tudo mais fácil.

Aos **amigos e funcionários** da Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica, pela amizade, colaboração, disposição e ajuda nunca negada.

À todos os amigos, colegas e pessoas que, embora não citadas, direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Meu sincero e carinhoso agradecimento!

EPÍGRAFE

*“Mas é claro que o sol
Vai voltar amanhã
Mais uma vez, eu sei*

*Escuridão já vi pior
De endoidecer gente sã
Espera que o sol já vem*

*Tem gente que está do mesmo lado que você
Mas deveria estar do lado de lá
Tem gente que machuca os outros
Tem gente que não sabe amar
Tem gente enganando a gente
Veja nossa vida como está
Mas eu sei que um dia a gente aprende*

*Se você quiser alguém em quem confiar
Confie em si mesmo
Quem acredita sempre alcança*

*Mas é claro que o sol
Vai voltar amanhã
Mais uma vez, eu sei*

*Escuridão já vi pior
De endoidecer gente sã
Espera que o sol já vem*

*Nunca deixe que lhe digam
Que não vale a pena
Acreditar no sonho que se tem
Ou que seus planos nunca vão dar certo
Ou que você nunca vai ser alguém
Tem gente que machuca os outros
Tem gente que não sabe amar
Mas eu sei que um dia a gente aprende*

*Se você quiser alguém em quem confiar
Confie em si mesmo
Quem acredita sempre alcança”*

MAIS UMA VEZ

(Flávio Venturini/Renato Russo)

SUMÁRIO

SUMÁRIO

	LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	1
	RESUMO	2
	ABSTRACT	4
1	INTRODUÇÃO	6
2	REVISÃO DA LITERATURA	8
2.1	CLARITROMICINA	8
2.1.1	MECANISMO DE AÇÃO	9
2.1.2	PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS	10
2.1.2.1	ABSORÇÃO E CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS	10
2.1.2.2	DISTRIBUIÇÃO	11
2.1.2.3	BIOTRANSFORMAÇÃO E EXCREÇÃO	12
2.1.2	ESPECTRO DE AÇÃO E EFICÁCIA TERAPÊUTICA	13
2.2	<i>Staphylococcus</i>	15
2.3	<i>Streptococcus</i>	17
2.3.1	ESTREPTOCOCOS <i>VIRIDANS</i>	17
2.4	IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS	18
2.5	TESTES DE SENSIBILIDADE BACTERIANA A ANTIMICROBIANOS	20
2.6	RESISTÊNCIA BACTERIANA A ANTIMICROBIANOS	20
3	PROPOSIÇÃO	23
4	MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1	COLHEITA DAS AMOSTRAS	24
4.2	CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA	27
4.3	PROVAS ESPECÍFICAS PARA DIFERENCIAÇÃO DAS BACTÉRIAS	28
4.3.1	DIFERENCIAÇÃO DE <i>Staphylococcus</i>	28
4.3.2	DIFERENCIAÇÃO DE <i>Streptococcus</i>	30
4.4	TESTE DE SENSIBILIDADE BACTERIANA	35
5	RESULTADOS	38
6	DISCUSSÃO	50
7	CONCLUSÃO	57
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
	ANEXOS	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASC	área sob a curva
ATCC	american type culture collection (coleção de culturas padrão americana)
BHI	infuso de cérebro e coração
CIM	concentração inibitória mínima
CBM	concentração bactericida mínima
Cmax	concentração máxima atingida
CO ₂	dióxido de carbono
DNA	ácido desoxiribonucléico
EDTA	ácido etileno diamino tetra acético
H ₂ O ₂	peróxido de hidrogênio
mg/kg	miligrama por kilograma
mg/L	miligrama por litro
mg/L.h	miligrama por litro por hora
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina
MSA	ágar Mitis Salivarius
NaCl	cloreto de sódio
pH	logaritmo negativo da concentração hidrogeniônica
RNA	ácido ribonucléico
ufc/mL	unidades formadoras de colônia por mililitros
UI	unidades internacionais
NCCLS	<i>National Committee for Clinical Laboratory Standards</i>

RESUMO

A resistência bacteriana aos antimicrobianos tem sido causa de preocupação mundial. Diante disto, foi proposto neste estudo verificar alterações na proporção de microrganismos resistentes após duas doses de claritromicina 500 mg (fase 1 e 2, separadas por uma semana) sobre estreptococos e estafilococos provindos da microbiota salivar e nasal de 20 voluntários sadios, durante a realização de um estudo de biodisponibilidade comparativa. Foram colhidas amostras em diferentes tempos (0, 1h20min, 2h, 6h e 12h) por meio de swabs (nasal) ou em tubo (saliva), previamente e após a utilização de claritromicina. As amostras foram inoculadas em ágar Mitis Salivarius (saliva) e incubadas em microaerofilia por 48 h ou em ágar Salt-Manitol (nasal) e incubadas em aerobiose por 24 horas. Após testes de identificação para estreptococos e estafilococos, as colônias caracterizadas foram submetidas a testes de sensibilidade bacteriana frente a claritromicina 15 µg, eritromicina 15 µg, azitromicina 15 µg, penicilina G 10 UI, amoxicilina 10 µg, amoxicilina 20 µg + ácido clavulânico 10 µg, vancomicina 30 µg, cefalexina 30 µg, cefalotina 30 µg e clindamicina 2 µg. Os estafilococos foram submetidos ainda a oxacilina 1 µg e meticilina 5 µg. As placas foram incubadas em aerobiose para os estafilococos e em microaerofilia para os estreptococos. Após 18 horas os halos de inibição foram medidos com auxílio de um paquímetro, permitindo a classificação para cada microrganismo como sensível, intermediário ou resistente. Foram colhidas 254 colônias de estreptococos e 195 colônias de estafilococos durante os períodos experimentais. Das colônias de estafilococos, 86 foram classificadas como sendo *S. aureus* e 109 como *S. epidermidis*. De uma maneira geral, os estafilococos mostraram-se altamente resistentes à penicilina G e amoxicilina (aproximadamente 75%) e totalmente sensíveis à vancomicina, clindamicina, cefalosporinas e amoxicilina + ácido clavulânico, sendo parcialmente sensíveis aos macrolídeos, independente da fase de estudo. Com relação aos estreptococos, apenas as cefalosporinas e a amoxicilina +

ácido clavulânico foram eficazes 100%, sendo que os macrolídeos selecionaram altos graus de resistência (aproximadamente 80% das cepas) e as penicilinas baixos índices de resistência (menor do que 5%). Assim foi possível inferir que as penicilinas ainda podem ser consideradas como antimicrobianos de primeira escolha dentro da Odontologia. Além disso, o elevado grau de resistência observado, particularmente contra a eritromicina e a azitromicina deve reorientar o uso destes antimicrobianos dentro da área médica e odontológica. O tempo de colheita das amostras (até 12 horas) após a administração da claritromicina, não afetou o perfil de resistência e o número de bactérias resistentes iniciais.

Palavras-chave: claritromicina, resistência bacteriana, estafilococos, estreptococos.

ABSTRACT

Antimicrobial resistance is still a matter of concern around the world. The aim of the present study was to verify alteration in the resistant-microorganisms proportion after two single-doses of clarithromycin 500 mg (phase 1 and 2, separated by one week period) against streptococci and staphylococci from salivary and nasal microbiota of 20 healthy volunteers, during a comparative bioequivalence study. The samples were collected after 0, 1.2h, 2h, 6h and 12h after drug administration by using swabs (nasal) or tubes (saliva). Saliva samples were inoculated on Mitis Salivarius agar, which were incubated in microaerophilia over 48h. Nasal samples were inoculated on Mannitol-Salt agar and incubated in aerobiosis over 24h. After biochemical tests to identify streptococci and staphylococci, the characteristic colonies were submitted to antimicrobial susceptibility tests against clarithromycin 15 µg, erythromycin 15 µg, azithromycin 15 µg, penicillin G 10 UI, amoxicillin 10 µg, amoxicillina 10 µg + clavulanic acid 20 µg, vancomycin 30 µg, cephalexin 30 µg, cephalotine 30 µg and clindamycin 2 µg. Also, staphylococci were submitted against oxacillin 1 µg and meticillin 5 µg. All dishes containing staphylococci were incubated in aerobiosis and in microaerophilia for streptococci. After 18h inhibition halos were measured by using a scale, which allowed classification of each microorganism into sensible, intermediary or resistant group. 254 streptococci and 195 staphylococci were collected during experimental periods. From staphylococci, 86 colonies were classified as *S. aureus* and 109 as *S. epidermidis*. Considering all staphylococci, they were highly resistant against penicillin and amoxicillin (over than 75%) and totally sensible against vancomycin, clindamycin, cephalosporines and amoxicillin + clavulanate, while they are partially sensible to macrolides, independently of study phase. Considering streptococci, only cephalosporines and amoxicillin + clavulanate showed 100% efficacy, while they highly resistant against macrolides (over

than 80%) and they exhibited low indexes of penicillin resistance (lower than 5%). Thus, we suggest that the penicillin can be considered as the first choice in Dentistry. Besides, the great rate of resistance, particularly against erythromycin and azithromycin, must have a impact over clinical use of antimicrobial agents in Dentistry and Medicine. Until 12 hours after clarithromycin administration the time of samples collection didn't affect the resistance profile and the number of initial resistant microorganisms.

Key-words: clarithromycin, bacterial resistance, staphylococci, streptococci.

1. INTRODUÇÃO

A claritromicina é um antimicrobiano do grupo dos macrolídeos que difere da eritromicina apenas pela metilação do radical hidroxil na posição 6 do anel lactônico. Esta modificação na estrutura química é responsável pela sua maior atividade contra estafilococos, estreptococos, além de bactérias anaeróbias (Mensa, 2003).

Devido ao seu espectro de ação, a claritromicina tem sido recomendada para o tratamento de infecções no trato respiratório alto e baixo, agudas ou crônicas, entre muitas outras infecções (Zanel, 2001).

Na terapêutica odontológica, a claritromicina substituiu a eritromicina como alternativa às penicilinas, em pacientes com histórico de hipersensibilidade, na profilaxia da endocardite infecciosa (Andrade, 1999). Quando aplicável, o esquema profilático preconiza a administração de dose única de 500 mg de claritromicina para adultos e 15 mg/Kg para crianças, por via oral, uma hora antes do procedimento. Os estreptococos orais e os estafilococos estão entre os maiores causadores desta doença (Dajani *et al.*, 1997).

Infecções estafilocócicas e estreptocócicas têm sido motivo de preocupação, visto que os microrganismos causadores destas infecções normalmente são comensais da microbiota humana, mas por fatores múltiplos, dentre eles a pressão seletiva exercida pelo uso indiscriminado de antimicrobianos, têm causado resistência em cepas que anteriormente eram sensíveis a muitos antimicrobianos (Kolár, *et al.*, 2001; Aracil *et al.*, 2001).

Estreptococos comensais da orofaringe têm mostrado alta resistência a eritromicina (Pérez-Trallero, 2001). A possibilidade de transmissão de genes que codificam resistência a antimicrobianos de bactérias não patogênicas, como os estreptococos alfa-hemolíticos, para bactérias patogênicas, foi descrita (Reichmann, 1997; Luna, 1999).

A microbiota nasal, embora incomum, pode ser um reservatório natural de estafilococos inclusive *Staphylococcus aureus* meticilina-resistentes (MRSA). Estes podem causar disseminação de infecções em pacientes, principalmente em ambiente hospitalar. Testes analisando o DNA destes microrganismos mostraram que, em um mesmo indivíduo, as cepas que colonizavam a mucosa nasal e as envolvidas no processo infeccioso eram as mesmas (Nouwen *et al.*, 2001).

Existem poucos trabalhos relacionando a eficácia de antimicrobianos sobre as microbiotas oral e nasal e sua relação com a resistência ou a seleção de cepas resistentes induzidas após o uso destes agentes. Desta forma, o presente trabalho verificou o efeito da claritromicina sobre a resistência aos antimicrobianos de estreptococos orais e estafilococos nasais provenientes de indivíduos saudáveis, visando contribuir para a utilização mais racional deste e de outros antimicrobianos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CLARITROMICINA

A claritromicina é um fármaco antimicrobiano semi-sintético do grupo dos macrolídeos. Estruturalmente, a claritromicina consiste de um anel de lactona com 14 radicais ligados a 2 fragmentos de moléculas de açúcar e difere da eritromicina por uma substituição o-metil na posição 6 do anel de lactona, o que confere estabilidade ácida e melhores propriedades antimicrobianas e farmacocinéticas, embora esta modificação também seja responsável pelos efeitos adversos no trato gastrointestinal (Zhanel, 2001).

Tem um espectro de atividade *in vitro* similar ao da eritromicina, embora existam diferenças significativas em termos de atividade, pois a claritromicina apresenta uma atividade *in vitro* maior do que a eritromicina no combate a certos agentes patogênicos como, por exemplo, *Bacteroides melaninogenicus*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycobacterium chelonae* subespécies *-chelonea* e *-abscessus*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium marinum*, complexo *Mycobacterium avium* e, quando combinada com o seu metabólito 14-hidróxi, contra o *Haemophilus influenzae* (Hardy, 1988 & 1990; Gevaudan, 1991).

As linhagens de *Staphylococcus aureus* e de *S. epidermidis* sensíveis à penicilina G e/ou à eritromicina são também sensíveis à claritromicina. Por outro lado, nos casos em que estes microrganismos apresentam resistência à eritromicina, a claritromicina normalmente também é inativa (Livermore, 2000).

2.1.1 MECANISMO DE AÇÃO

Os macrolídeos geralmente são considerados bacteriostáticos, porém a claritromicina mostra-se bactericida contra uma variedade de microrganismos, os quais incluem *H. influenzae*, *L. pneumophila*, *S. pneumoniae* e o complexo *M. avium*, e possui efeito pós-antibiótico já demonstrado contra a *H. influenzae*, *S. aureus*, *S. pyogenes* e estreptococos β -hemolíticos (Jung *et al.*, 2000; van Bambeke *et al.*, 2001).

O efeito antimicrobiano da claritromicina e do seu metabólito 14-hidróxi, a exemplo de outros macrolídeos, tem sido atribuído à ligação reversível à subunidade ribossômica 50S dentro da célula bacteriana, desta forma inibindo a translocação da aminoacil do RNAt e a conseqüente síntese protéica (Kakegawa *et al.*, 1988; Kakegawa & Hirose, 1990).

A penetração intracelular também é um importante fator no modo de ação da claritromicina, particularmente por conferir uma vantagem no tratamento de microrganismos que se proliferam dentro das células hospedeiras, tais como as espécies de *Chlamydia*, *Legionella* e *Toxoplasma* (Amsden, 2001).

Anderson *et al.* (1988), num modelo *in vitro*, observaram que a claritromicina se concentra em leucócitos polimorfonucleares humanos e em linfócitos e macrófagos derivados de fluidos broncoalveolares de cobaias. Num modelo *ex vivo*, a claritromicina demonstrou maior penetração nos leucócitos de cobaias, quando comparada com a eritromicina, a josamicina e a roxitromicina, sugerindo uma atividade maior antimicrobiana intracelular (Kohno S. *et al.*, 1989; Kohno Y. *et al.*, 1990a).

A exposição de granulócitos à claritromicina (2,5 a 20 mg/L) resultou num aumento da fagocitose do *S. aureus*. Para a eritromicina, com as mesmas doses, este efeito somente foi observado na maior concentração. A migração quimiotática dos granulócitos humanos não foi afetada pela exposição à claritromicina ou à eritromicina (Roszkowski *et al.*, 1990).

2.1.2 PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS

2.1.2.1 ABSORÇÃO E CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS

A claritromicina é rapidamente absorvida no trato gastrointestinal, após administração por via oral, mas sua biodisponibilidade é reduzida de 50 a 55% devido a um substancial efeito de primeira passagem. As concentrações plasmáticas máximas (C_{max}) de claritromicina em voluntários ocidentais saudáveis (caucasóides e negróides) foram de 0,62 a 0,84 mg/L e 1,77 a 1,89 mg/L após administração de dose única de 250 mg e 500 mg de claritromicina, respectivamente (Chu *et al.*, 1990; Chu *et al.*, 1992a).

A claritromicina é submetida a uma rápida biotransformação para produzir o metabólito biologicamente ativo 14-hidróxi (R), o qual alcança picos de concentração plasmática de 0,4 e 0,8 mg/L após 3 horas da administração de 250 ou 500 mg de claritromicina (Chu *et al.*, 1992a).

Os valores de área sob a curva (ASC) após a administração oral de 250 e 500 mg de claritromicina em voluntários ocidentais foram de 3,82 até 4,7 mg/L.h e de 11,06 até 11,66 mg/L.h, respectivamente. Em voluntários asiáticos os valores foram 8,98 e 20,3 mg/L.h, quando da administração de 200 mg e 400 mg, respectivamente. Nestes voluntários, os valores da ASC para a 14-hidróxi claritromicina foram de 3,07 a 4,9 mg/L.h e de 6,07 a 6,88 mg/L.h após doses de 250 e 500 mg de claritromicina, respectivamente (Chu *et al.*, 1992a).

O efeito da alimentação na farmacocinética da claritromicina após dose única oral foi estudado. A alimentação ingerida imediatamente antes da administração de 500 mg de claritromicina, aumentou o tempo de absorção em torno de 25%, enquanto o aumento da ASC para a 14-hidróxi claritromicina foi de aproximadamente 9%. Estas diferenças não são consideradas clinicamente significativas para doses de 250 ou 500 mg administradas duas vezes ao dia e,

desta forma, a claritromicina pode ser ingerida com alimentos ou em jejum (Chu *et al.*, 1992b).

Os estudos com doses múltiplas em voluntários ocidentais recebendo 250 mg de claritromicina duas vezes ao dia, por 3,5 dias, revelou que o estado de equilíbrio foi obtido após 5 doses, com C_{max} de aproximadamente 1 mg/L para a claritromicina e 0,6 mg/L para o seu metabólito 14-hidróxi (Chu *et al.*, 1990). Além disso, apesar da farmacocinética ter se mostrado não linear, ocorreram apenas flutuações de importância secundária nestes valores, com uma medicação continuada. Após a administração de 500 mg de claritromicina duas vezes ao dia, por até 3,5 dias, a voluntários ocidentais, a C_{max} plasmática média variou de 2,4 a 3,5 mg/L para a claritromicina e 0,7 a 0,8 mg/L para a claritromicina em estado de equilíbrio (Chu *et al.*, 1991; Gu *et al.*, 1991).

As curvas de concentração sérica *versus* tempo após a administração de dose oral única de claritromicina ou eritromicina de 200 mg a 6 voluntários japoneses sadios, apresentou uma C_{max} para ambos os fármacos até duas horas após a administração, a C_{max} da claritromicina foi 1,07 mg/L, aproximadamente 3 vezes maior que o da eritromicina que foi 0,38 mg/L (Saito *et al.*, 1988).

2.1.2.2 DISTRIBUIÇÃO

Em 1982, Wollmer *et al.* relataram que os antimicrobianos macrolídeos apresentam um baixo grau de ionização e são solúveis em lipídeos, o que resulta numa ampla distribuição pelos fluidos e tecidos.

Em estudos com animais, a claritromicina mostrou-se amplamente distribuída em toda a extensão corporal e foram obtidas concentrações maiores nos tecidos e nos órgãos do que na corrente sanguínea (Kohno S. *et al.*, 1989; Suwa *et al.*, 1988 a.b; Yoshii *et al.*, 1988), embora o cérebro e os testículos tenham constituído exceções (Suwa *et al.*, 1988b). Estudos comparativos da distribuição em roedores mostraram que a claritromicina usualmente alcança

concentrações maiores nos órgãos e tecidos do que a eritromicina, especialmente no pulmão (Kohn Y. *et al.*, 1989, 1990a,b; Suwa *et al.*, 1988a,b).

Em estudos que também determinaram a concentração da 14-hidróxi claritromicina, os níveis máximos deste metabólito foram menores do que aqueles do fármaco inicial nos tecidos e secreções após a administração de 250 ou 500 mg de claritromicina durante três dias; as concentrações máximas da 14-hidróxi claritromicina na secreção bronquial, pulmão e tonsilas foram aproximadamente a metade dos valores do fármaco inicial (Scaglione & Fraschini, 1992).

A claritromicina possui uma afinidade maior pela glicoproteína ácida alfa-1. A concentração de claritromicina sérica livre aumenta com concentrações acima de 1 mg/L, sugerindo que o processo de ligação é saturável, o que origina um potencial para concentrações mais altas de droga livre estarem disponíveis para distribuição nos locais de infecção (Suwa *et al.*, 1988b).

2.1.2.3 BIOTRANSFORMAÇÃO E EXCREÇÃO

A biotransformação da claritromicina ocorre principalmente no fígado, originando diversos metabólitos, sendo o mais importante o 14-hidróxi devido à quantidade produzida e a sua notável atividade biológica (Chu *et al.*, 1992).

Em 1990, os processos de biotransformação da claritromicina foram estudados por Ferrero *et al.*, demonstrando que estes envolvem mecanismos oxidativos e hidrolíticos. Os principais passos metabólicos primários são a N-desmetilação oxidativa e a hidroxilação na posição 14 do anel de lactona, enquanto a remoção por hidrólise do radical cladinose é uma via relativamente secundária. A hidroxilação parece apresentar uma estereoespecificidade, o 14-hidróxi (R) claritromicina é produzido em quantidades muito maiores do que o epímero 14-hidróxi (S). A descoberta de metabólitos secundários, não somente nas fezes, mas também na urina, sugere que os metabólitos primários da

claritromicina podem ser submetidos a transformações de fase I semelhantes às do fármaco inicial.

Embora o percentual da dose de 250 mg de claritromicina excretado na urina como fármaco inicial somado aos metabólitos seja semelhante àquele medido nas fezes, a via urinária é de particular importância clínica, uma vez que aproximadamente 32% da dose recuperada na urina constitui-se do fármaco inicial somado ao metabólito ativo 14-hidróxi (R). Dos 8 metabólitos isolados da urina ou das fezes, somente o derivado 14-hidróxi (R) estava presente no plasma em concentrações significativas (Ferrero *et al.*, 1990).

2.1.3 ESPECTRO DE AÇÃO E EFICÁCIA TERAPÊUTICA

A claritromicina tem se mostrado efetiva no tratamento de vários tipos de infecções, quando administrada em doses de 250 ou 500 mg duas vezes ao dia (Hardman, 1996).

Em linhas gerais é ativa nas infecções causadas por (Mensa, 2003):

1. microrganismos gram-positivos tanto cocos (exceto estafilococos resistentes a meticilina e *Enterococcus* spp.) como bacilos (*Clostridium perfringes*, *Propionibacterium acnes*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Bacillus anthracis*, *Listeria*, *Lactobacillus*, *Rhodococcus* e *Pediococcus*);
2. alguns microrganismos gram-negativos (*Moraxella* spp., *Bordetella pertussis*, *Campylobacter jejuni*, *Neisseria* spp., *Gardenerella vaginalis*);
3. microrganismos de crescimento intracelular ou extracelular (*Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella* spp., *Borrelia burgdorferi*, *Coxiella burnetti*);
4. alguns protozoários são moderadamente sensíveis (*Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium* e *Plasmodium*).

A maioria dos bacilos gram-negativos, incluindo alguns anaeróbios, são resistentes a claritromicina e aos outros macrolídeos, entre outros motivos, pela

impermeabilidade da parede bacteriana para difusão destes fármacos (van Bambeke & Tulkens, 2001).

De acordo com as diretrizes da *American Heart Association* (1997), para os procedimentos odontológicos que envolvam riscos aos pacientes portadores de anomalias cardíacas, nos quais é recomendada a profilaxia contra a endocardite infecciosa, o regime indicado seria dose única de 2 g para adultos e de 50 mg/Kg para crianças de amoxicilina, não sendo necessária qualquer dose adicional. A eritromicina deixou de ser recomendada como alternativa a pacientes alérgicos à penicilina, mas a claritromicina e outras alternativas são possíveis. O esquema profilático recomendado pela *American Heart Association* preconiza a administração de dose única de 500 mg de claritromicina para adultos e 15 mg/Kg para crianças, por via oral, uma hora antes do procedimento (Dajani *et al.*, 1997; Taubert & Dajani, 1998).

O *Haemophilus influenzae* pode ser sensível ou resistente à claritromicina e à eritromicina, mas é sensível ou moderadamente sensível *in vitro* ao seu metabólito primário, o 14-hidróxi claritromicina. O 14-hidróxi claritromicina é quase 3 vezes mais ativo do que o fármaco inicial contra este microrganismo. A combinação da claritromicina somada ao seu metabólito 14-hidróxi demonstra uma atividade sinérgica contra a *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *Legionella spp.*, e alguns estreptococos e estafilococos (Mensa, 2003).

A sua atividade contra as micobactérias inclusive o complexo infeccioso *Mycobacterium avium* em pacientes aidéticos fez com que a claritromicina fosse aprovada para profilaxia desde outubro de 1995 nos Estados Unidos da América, reduzindo entre 55 a 85% a incidência desta infecção oportunista, responsável pela morbidade e mortalidade nestes pacientes (Horsburgh *et al.*, 2001).

2.2 *Staphylococcus*

De acordo com *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, a família *Micrococcaceae* inclui quatro gêneros: *Planococcus*, *Micrococcus*, *Stomatococcus* e *Staphylococcus*. Os membros desta família podem ser diferenciados dos membros da família *Streptococcaceae* por meio da prova de catalase. Os membros da família *Micrococcaceae* são catalase-positivos, enquanto os membros da família *Streptococcaceae* são catalase negativos (Koneman *et al.*, 2001).

O gênero *Staphylococcus*, na atualidade, é composto de 33 espécies, 17 das quais podem ser isoladas de amostras biológicas humanas. Os estafilococos são geralmente encontrados na pele e em mucosas do homem e animais (Koneman *et al.*, 2001).

Alguns estafilococos patogênicos para o homem produzem uma enzima denominada coagulase e a presença desta enzima, verificada em laboratório, ajuda na identificação destes microrganismos. Entre os principais estafilococos, a espécie coagulase-positiva *S. aureus* e duas espécies coagulase-negativas, *S. epidermidis* e *S. saprophyticus*, são encontradas com frequência em infecções humanas (Koneman *et al.*, 2001).

Atualmente, essas bactérias adquiriram importância ainda maior a partir da observação de que a incidência de endocardite estafilocócica tem aumentado drasticamente. Cepas de *S. aureus*, sensíveis aos beta-lactâmicos, são os agentes etiológicos responsáveis pela moléstia em mais de 70% da doença diagnosticada em pacientes que fazem uso de drogas por via intravenosa. Outra razão é o fato de que os estafilococos são patógenos importantes para o surgimento de infecções hospitalares, principalmente para cepas resistentes a muitos antimicrobianos (Mccartney, 1992).

Cerca de 30% de todas as infecções causadas pelo *S. aureus* são devidas à microbiota endógena (Perl & Golub, 1998). Roman *et al.* (1997)

observaram que cepas de *S. aureus* têm propensão em produzir doenças epidêmicas de rápida difusão dentro das instituições de saúde.

Farias *et al.* (1997) avaliaram o padrão de sensibilidade de cepas de *S. aureus* oxacilina-susceptíveis e oxacilina-resistentes a agentes antimicrobianos comumente utilizados em infecções causadas por estes patógenos. As cepas (117) foram isoladas de vários hospitais em São Paulo, Campinas e João Pessoa. Obtiveram a concentração inibitória mínima (CIM) para 24 agentes antimicrobianos, incluindo beta-lactâmicos, fluoroquinolonas, aminoglicosídeos, macrolídeos, etc. Os resultados mostraram uma alta e preocupante taxa de resistência entre as cepas de *S. aureus* obtidos nos hospitais brasileiros. Poucas drogas podem ainda ser efetivas contra doenças infecciosas provocadas por estas cepas.

Os estafilococos exibem sensibilidades variadas à claritromicina, à 14-hidróxi claritromicina e a vários macrolídeos, inclusive a eritromicina. As linhagens de *S. aureus* classificadas como resistentes à eritromicina, metilicina ou oxacilina também mostraram-se resistentes à claritromicina e, resultados semelhantes foram descritos nos estudos onde foram testadas linhagens resistentes à metilicina ou à oxacilina, indicando uma resistência geral aos macrolídeos (Chin *et al.* 1987; Fernandes *et al.* 1986; Floyd-Reising *et al.* 1987; Hardy *et al.* 1988). Por outro lado, estudos usando linhagens sensíveis à metilicina ou à penicilina G, relataram sensibilidade à claritromicina, à eritromicina, à clindamicina e à roxitromicina (Benson *et al.*, 1987; Eliopoulos *et al.*, 1987; Rolston *et al.*, 1989).

2.3 *Streptococcus*

Nos esquemas taxonômicos tradicionais, os estreptococos pertencem a família *Streptococcaceae*. Estes microrganismos são bactérias gram-positivas, catalase-negativas, que tendem a crescer aos pares e em cadeias. A detecção de enzimas citocrômicas por meio da prova da catalase diferencia os membros da família *Micrococcaceae* (catalase-positivos) dos da família *Streptococcaceae* (catalase-negativos). Nos últimos anos a taxonomia de estreptococos foi submetida a uma exaustiva revisão (Koneman *et al.*, 2001).

Os estreptococos *viridans*, como o microrganismo cariogênico *S. mutans*, foram divididos em sorotipos com base em seus carboidratos antigênicos de parede celular, podendo ser diferenciados também por meio de provas específicas (Koneman *et al.*, 2001; Maza *et al.*, 2001).

2.3.1 ESTREPTOCOCOS *VIRIDANS*

Os chamados estreptococos *viridans* são, na realidade, constituídos por “subgrupos” como o subgrupo do *Streptococcus mitis* (*S. oralis*, *S. sanguis*, *S. gordonii*, *S. mitis* e *S. pneumoniae*), do *Streptococcus milleri* (*S. anginosus*, *S. constellatus* e *S. intermedius*), do *Streptococcus mutans* (*S. mutans*, *S. rattus*, *S. cricetus*, *S. sobrinus*, *S. ferus*, *S. macacae* e *S. downei*) e ainda do *Streptococcus salivarius* (*S. salivarius* e *S. vestibularis*) (Koneman *et al.*, 2001).

Uma característica marcante deste grupo é o fato da maioria das cepas promover alfa-hemólise quando em contato com o sangue, proporcionando uma coloração verde-acinzentada ao seu redor. O termo latim “viridans” significa “verde” (Koneman *et al.*, 2001).

São comensais da microbiota oral normal humana e de outros animais. São encontrados na pele, nas mucosas nasofaríngeas e nos tratos gastrintestinal e urogenital. A boca é um importante “habitat”, sendo algumas

cepas adaptadas para colonizar superfícies, tais como a mucosa oral (*S. salivarius*) e tecidos duros dentais - *S. sanguis* e *S. mutans* - (Slots & Taubman, 1992).

Algumas espécies estão correlacionadas com doenças graves no homem e em animais. Dentre estas doenças destacam-se pneumonia, meningite e infecções urogenitais. São patógenos oportunistas comuns, agravando ou causando uma grande quantidade de infecções (Slots & Taubman, 1992).

A prevalência de estreptococos como causa de bacteremias em hospitais, que são potencialmente fatais, tem aumentando, o que requer que os agentes usados na terapia empírica incluam em seu espectro de atividade os pneumococos, estreptococos *viridans* e beta-hemolíticos (Pfaller *et al.*, 1997).

2.4 IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS

A avaliação das características macroscópicas das colônias é usualmente realizada por meio de inspeção visual do crescimento na superfície de placas de Petri contendo meios de cultura (Koneman *et al.*, 2001; Maza *et al.*, 2001).

A maioria das provas utilizadas para avaliar a atividade bioquímica ou metabólica de bactérias, por meio das quais se pode fazer uma identificação final de espécie, é realizada mediante subcultivos do isolado primário em uma série de meios diferenciais, cujos resultados podem ser interpretados após um ou mais dias de incubação adicional (Koneman *et al.*, 2001)

As observações e interpretações iniciais das placas devem ser utilizadas para determinar se os microrganismos recuperados devem ser identificados ainda mais, sendo importante a utilização de meios seletivos e a correta análise das características macroscópicas das colônias, assim como a Coloração de Gram (Maza *et al.*, 2001). Entretanto, as reações à coloração podem ser variáveis, sobretudo com colônias muito jovens ou muito velhas. A morfologia da maioria das bactérias coradas com Gram é mais característica quando os esfregaços são

preparados a partir de um subcultivo com 18 a 24 horas, período no qual as células bacterianas se encontram na fase logarítmica de crescimento (Koneman *et al*, 2001).

Podem ser efetuadas certas observações preliminares ou provas diretas rápidas em colônias selecionadas. Em muitos casos, um isolado pode ser identificado em um nível clinicamente útil com base apenas nessas avaliações. Por exemplo, a propriedade de bacilos gram-negativos de utilizar lactose pode ser avaliada de modo direto em ágar MacConkey, observando a coloração vermelha da colônia; o crescimento de *S.aureus* pode ser detectado em meios cromogênicos *Chromagar*[®], sendo caracterizado pela coloração roxa da colônia (Carricajo *et al*, 2001).

Para a identificação de bactérias, inúmeros testes podem ser utilizados, tais como provas de catalase, provas de coagulase, sensibilidade a antimicrobianos específicos, fermentação de carboidratos, entre outros, sendo necessária a utilização de tabelas padronizadas para a comparação dos resultados, até determinar a espécie do microrganismo estudado (Koneman *et al*, 2001; Maza *et al*, 2001).

2.5 TESTES DE SENSIBILIDADE BACTERIANA A ANTIMICROBIANOS

A avaliação da capacidade de inibir ou exterminar um tipo ou mesmo vários tipos de microrganismos, por alguma substância, é chamada teste de sensibilidade bacteriana ou teste de susceptibilidade bacteriana. Este tipo de teste consiste em expor uma quantidade conhecida do microrganismo em contato com a substância em concentração também conhecida (Piddock, 1990).

Em 1966, Bauer *et al*. descreveram procedimentos padronizados para realizar o teste de sensibilidade em discos e comparar os diâmetros dos halos com a CIM. Estes testes são, ainda hoje, empregados para a avaliação da eficácia dos agentes antimicrobianos e/ou do grau de resistência dos microrganismos. Os

resultados obtidos por eles podem corroborar ou alterar a terapêutica empírica normalmente adotada como primeira conduta.

O *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) tem publicado freqüentemente em seus documentos atualizações desta padronização para diferentes microrganismos e antimicrobianos (NCCLS, 1984 e 2002).

2.6 RESISTÊNCIA BACTERIANA A ANTIMICROBIANOS

As bactérias têm sido classificadas como resistentes ou sensíveis de acordo com dados de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM). São ditas resistentes quando são inibidas *in vitro* só em concentrações superiores às aquelas atingidas *in vivo*. Essa relação concentração da droga/inibição de crescimento não deve ser encarada como completamente verdadeira, pois o sucesso terapêutico não depende exclusivamente dessa relação, mas, sim, de fatores farmacocinéticos e do comprometimento imunológico do paciente, alvo da terapia. Dessa forma, um dado microrganismo é sensível ou resistente apenas quando se observa o sucesso ou insucesso terapêutico, respectivamente (Towner, 1997).

A resistência de dado microrganismo à determinado antimicrobiano pode ser classificada inicialmente como intrínseca ou adquirida. A resistência intrínseca é aquela que faz parte das características naturais, fenotípicas do microrganismo, transmitida apenas verticalmente à prole. Faz parte da herança genética do microrganismo (Towner, 1997).

O maior determinante de resistência intrínseca é a presença ou ausência do alvo para a ação da droga. Este tipo de resistência não apresenta qualquer risco à terapêutica, pois é previsível, bastando-se conhecer o agente etiológico da infecção e os mecanismos de ação dos fármacos disponíveis clinicamente (Del-Fiol *et al.*, 2000).

A resistência adquirida ocorre quando há o aparecimento de resistência em uma espécie bacteriana anteriormente sensível ao antimicrobiano em questão. É uma nova característica manifestada na espécie bacteriana, característica essa ausente nas células genitoras. Essa nova propriedade é resultado de alterações estruturais e/ou bioquímicas da célula bacteriana, determinada por alterações genéticas cromossômicas ou extra-cromossômicas (plasmídios) (Gold *et al.*, 1996).

A partir de mecanismos como transformação, transdução, conjugação e transposição bactérias podem adquirir e/ou transferir resistência a outras bactérias, passando a estas a propriedade de defesa contra determinado antimicrobiano (Tavares, 1996).

As bactérias garantem genes que detêm informações que as tornam resistentes às mais diversas classes de antimicrobianos, através desses mecanismos. Há inúmeros mecanismos através dos quais esses microrganismos se tornam resistentes, manifestando a resistência, como pela produção de enzimas inativadoras (Medeiros, 1984), interferência com a entrada e acúmulo de droga na bactéria (Towner, 1997), alteração do receptor para a ação da droga (Towner, 1997) e uso de vias metabólicas alternativas (Smith *et al.*, 1984).

Todos esses mecanismos de expressão de resistência são cada vez mais freqüentes em inúmeros microrganismos, alguns deles expressando muitas formas de resistência. Não há necessidade de patogenicidade do microrganismo para que carregue genes de resistência, ao contrário, bactérias de microbiota normal são as que carregam maior quantidade de genes de resistência a uma ou mais drogas. A informação para a defesa sempre existiu, sendo que estava restrita a certas espécies de microrganismos. Com o uso crescente e indiscriminado de antimicrobianos, através de pressão seletiva, permaneceram vivos apenas os microrganismos capazes de se defender da ação da droga. A resistência bacteriana tem diminuído muito a atividade de importantes antimicrobianos,

servindo como objetivo maior de pesquisadores para a busca de novas drogas, associações ou esquemas terapêuticos (Del-Fiol *et al.*, 2000).

O uso indiscriminado de antimicrobianos, terapêutica ou profilaticamente, humano ou veterinário, passando ainda pelo uso no crescimento animal e propósitos agrícolas, tem favorecido esta pressão seletiva, mostrando como resultado a seleção e predominância de espécies cada vez mais resistentes (Moellering *et al.*, 1990).

3. PROPOSIÇÃO

Este trabalho teve como objetivos:

1. Classificar os microrganismos provenientes das microbiotas oral e nasal em estreptococos e estafilococos, respectivamente, identificando as espécies.
2. Avaliar os padrões de sensibilidade destes microrganismos à claritromicina, a outros macrolídeos e a outras classes de antimicrobianos, em diferentes períodos de tempo.
3. Verificar a alteração na proporção de microrganismos resistentes após duas doses de claritromicina.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 COLHEITA DAS AMOSTRAS (ANTERIORMENTE REALIZADA)

Os microrganismos utilizados no presente trabalho foram gentilmente cedidos pelos pesquisadores Simões, Ruenis e colaboradores que conduziram o estudo de biodisponibilidade comparativa de claritromicina 500 mg.

Foram colhidas amostras de saliva e da mucosa nasal de 20 voluntários sadios, de ambos os sexos, com idade entre 18 e 50 anos, com variação de $\pm 15\%$ do peso considerado normal (levando-se em consideração a altura e a estrutura física), cujos exames laboratoriais (Anexo 1) apresentaram-se dentro da faixa “normal” para voluntários sadios e/ou clinicamente aceitáveis; obedecendo um desvio de $\pm 10\%$ do valor considerado normal. Foram excluídos todos que apresentaram histórico de hipersensibilidade à claritromicina e outros macrolídeos; com qualquer evidência de disfunção orgânica ou desvio clinicamente significativo do normal, em determinações físicas ou clínicas; com histórico de qualquer doença psiquiátrica que pudesse comprometer a capacidade de fornecer consentimento por escrito; com histórico de doença gastrointestinal, hepática, renal, cardiovascular, pulmonar, neurológica ou hematológica, diabetes ou glaucoma; que fizessem uso de mais de 20 cigarros por dia, ou que tinham dificuldade de abster-se durante o período de estudo; com histórico de dependência de drogas ou consumo abusivo de álcool; que fizeram uso de fármacos indutores enzimáticos dentro de 30 dias ou qualquer medicação sistêmica (incluindo medicamentos isentos de prescrição médica) dentro de 14 dias antes do início do estudo; que tivessem participado de qualquer estudo clínico nas 6 semanas que antecederiam o estudo; que tivessem perdido ou doado mais de 350 ml de sangue nos três meses anteriores ao estudo e que não tivessem acesso venoso adequado (Simões, 2003; Ruenis, 2004).

Os voluntários selecionados fizeram uso de dose única de claritromicina 500 mg Merck S.A Indústrias Químicas (formulação teste) ou Klaricid[®] - Abbott

Laboratórios do Brasil Ltda, formulação referência - segundo resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. O estudo foi do tipo cruzado e aleatorizado, sendo que na fase 1 metade dos voluntários recebeu a formulação teste e a outra metade a formulação referência; na fase 2 ocorreu o inverso. Ambas as formulações foram consideradas como sendo bioequivalentes em estudos prévios de biodisponibilidade comparativa (Simões, 2003; Ruenis, 2004). Os voluntários aceitos foram submetidos a internação no dia anterior ao da administração do antimicrobiano, na Clínica São Lucas, na cidade de Americana-SP (Simões, 2003; Ruenis, 2004).

O delineamento do estudo foi elaborado de acordo com as normas descritas na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde (CNS/MS), que regulamenta as normas de pesquisa em seres humanos no Brasil. O trabalho foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisas da Faculdade de Ciências Médicas – FCM – UNICAMP, recebendo aprovação segundo o protocolo nº 190/2001 - Anexo 3 (Simões, 2003; Ruenis, 2004).

Para a colheita das amostras de secreção nasal um *swab* esterilizado, contendo 0,2 mL de solução de NaCl a 0,9%, foi friccionado levemente contra a mucosa do interior das cavidades nasais dos voluntários, sendo depositado em tubo eppendorf esterilizado contendo 1,8 mL de meio de transporte de Stuart. Além disso, uma amostra de saliva ($\pm$ 1mL) foi colhida em um tubo esterilizado(a salivagem não foi estimulada artificialmente). Uma alíquota de 0,2 mL desta amostra foi pipetada em um tubo eppendorf esterilizado contendo 1,8 mL de meio de transporte de Stuart (Simões, 2003; Ruenis, 2004).

A primeira colheita foi efetuada previamente à administração do fármaco (tempo zero) e novas amostras foram obtidas 1h20min, 2h, 6h e 12h após o emprego da claritromicina. Nas colheitas de material proveniente da mucosa nasal foram utilizadas, alternadamente, a hemi-região esquerda ou direita (Simões, 2003; Ruenis, 2004).

Os procedimentos relativos à recuperação dos microrganismos presentes na mucosa nasal e na saliva dos voluntários foram realizados no Laboratório de Microbiologia da Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – FOP/UNICAMP (Simões, 2003; Ruenis, 2004).

As amostras provenientes dos *swabs* foram submetidas à dispersão em sonicador com amplitude de 5%, com 30 a 32 W de potência, funcionando durante 9,9 segundos, com intervalos de 5 segundos durante 59 segundos, perfazendo um total de 6 pulsos e alíquotas de 5µL foram distribuídas com auxílio de um plaqueador automático, em duplicata, em placas de Petri (90 x 45 mm) contendo Salt Manitol Ágar (SMA) para contagem de estafilococos (Simões, 2003).

As amostras de saliva foram distribuídas, também com auxílio de um plaqueador automático, em duplicata, em placas contendo Mitis Salivarius Ágar (MSA) para contagem de estreptococos (Ruenis, 2004).

Após a inoculação, as placas contendo SMA foram depositadas em estufa em aerobiose a 37°C durante 24 horas. As placas de MSA foram depositadas em estufa em microaerofilia (10% CO₂) a 37°C durante 48 horas (Simões, 2003; Ruenis, 2004).

As placas, obtidas dentro de cada período de estudo, foram submetidas a contagem manual e o número de microrganismos foi analisado. Tanto para os estafilococos quanto para os estreptococos houve diferença estatisticamente significativa (teste de *Friedman* $p < 0,05$) entre o tempo zero e os demais tempos, porém não houve diferenças estatisticamente significativas (teste de *Friedman* $p > 0,05$) entre todos os demais tempos (Simões, 2003; Ruenis, 2004).

Após a contagem, as placas foram acondicionadas em sacos plásticos herméticos e guardadas em freezer a -80°C para posterior análise (Simões, 2003; Ruenis, 2004).

4.2 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA

As placas congeladas foram submetidas a descongelamento gradual (-80°C, -20°C, temperatura ambiente). Após o descongelamento, diferentes colônias tiveram suas características morfológicas observadas, com auxílio de uma lupa estereoscópica¹ acoplada a um computador, e anotadas. As colônias representativas, dentro de cada tempo, foram recultivadas em infuso de cérebro-coração (BHI²) por 24 horas em estufa de aerobiose a 37°C (colônias de estafilococos providas do SMA) e 48 horas em estufa em microaerofilia (10% CO₂) a 37°C (colônias providas do MSA).

Todas as colônias representativas foram submetidas à coloração de Gram. As colônias que se apresentaram com características de estafilococos foram submetidas a testes e provas bioquímicas específicas para tipagem presuntiva destes microrganismos, o mesmo ocorrendo com os estreptococos, conforme descrito nos itens especificados a seguir.

Após a classificação das cepas, as mesmas foram submetidas ao teste de sensibilidade bacteriana seguindo recomendações de Groppo (1996) e estão descritas no item teste de sensibilidade bacteriana.

4.3 PROVAS ESPECÍFICAS PARA DIFERENCIAÇÃO DAS BACTÉRIAS

A diferenciação das colônias foi realizada seguindo as recomendações de Koneman *et al.*, 2001.

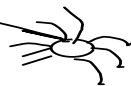
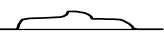
¹ Stemi SV 6 Zeiss

² Merck

4.3.1 DIFERENCIAÇÃO DE *Staphylococcus*

As características morfológicas foram observadas e anotadas conforme quadro 1.

Quadro 1 – Morfologias coloniais macroscópicas de unidades formadoras de colônias de bactérias com os termos para descrever cada uma delas (adaptado de Koneman *et al*, 2001).

FORMA	Puntiforme		Irregular	
	Circular		Rizóide	
	Filamentosa		Fusiforme	
ELEVAÇÃO	Plana		Monticular	
	Elevada		Umbiliforme	
	Convexa		Umbilicada	
MARGEM	Inteira		Crenada	
	Ondulada		Filamentosa	
	Lobada		Ondead a	

As diferentes colônias observadas macroscopicamente foram codificadas e, posteriormente para sua caracterização, foram realizadas as seguintes provas:

1. Coloração de Gram³ – os *Staphylococcus* aparecem como cocos gram-positivos. As células bacterianas podem estar isoladas, aos pares, em cadeias curtas ou em grupos.
2. Catalase – o teste é realizado através do gotejamento de peróxido de hidrogênio⁴ (H₂O₂) a 3% sobre a colônia. A imediata efervescência indica a conversão do peróxido em água e oxigênio gasoso (reação positiva) significando que há a presença de membros da família *Micrococcaceae* e a reação negativa *Streptococcaceae*. Embora tenha sido utilizado meio específico para crescimento de estafilococos (SMA) o teste da catalase foi realizado para certificação (Fig.2).
3. Coagulase⁵ – a coagulase é uma enzima secretada extracelularmente por bactérias e reage com o fator de reação com a coagulase formando um complexo, que reage com o fibrinogênio formando fibrina (coágulos). A reação positiva indica a presença de *S. aureus* e a negativa a presença de *S. epidermidis* ou *S. saprophyticus*. O teste é feito com frente ao plasma de coelho adicionado de EDTA (Fig.3).
4. Fermentação de manitol – o meio utilizado para este teste é o ágar Salt-Manitol⁶ adicionado de vermelho de fenol. A alta concentração de sal (5%) inibe o crescimento de outros microrganismos e isola, de modo seletivo, estafilococos. O *S. aureus* pode ser detectado pela presença de um halo amarelo ao redor das colônias isoladas, indicando a produção de ácido a partir da fermentação do manitol (Fig.4).

³ Kit de coloração Laborclin

⁴ Dinâmica

⁵ Laborclin

⁶ Merck

5. Sensibilidade a novobiocina – esta prova é realizada como um teste de sensibilidade com discos de novobiocina⁷ - 5µg. O *S. saprophyticus* é resistente (halo ≤ 15 mm) e *S. epidermidis* é sensível (halo ≥ 16 mm).

4.3.2 DIFERENCIAÇÃO DE *Streptococcus*

As características morfológicas foram observadas conforme quadro 1.

As diferentes colônias observadas macroscopicamente foram codificadas e, para sua caracterização, foram realizadas as seguintes provas:

1. Coloração de Gram – os *Streptococcus* aparecem como cocos gram-positivos ou gram-variáveis, dispostos em pares ou em cadeias. Os estreptococos *viridans*, em particular, tendem a formar células mais alongadas.
2. Catalase - O teste já foi descrito previamente. A reação diferencia os membros das famílias *Micrococcaceae* e *Streptococcaceae*. Embora tenha sido utilizado inicialmente meio específico para crescimento de estreptococos (MSA) o teste da catalase foi realizado para certificação (Fig.2)
3. Hemólise em ágar sangue – As colônias de estreptococos foram cultivadas em BHI, a 37°C com pressão parcial de 10% de CO₂ por 24 h e após este período foram padronizadas em um inóculo de 10⁸ unidades formadoras de colônias por mL (ufc/mL), por comparação espectrofotométrica com o padrão 0,5 da escala de McFarland. Alíquotas de cada colônia foram então pipetadas em um replicador de Steers (Fig.1) e estas foram aplicadas em placas de Petri contendo ágar base⁸ (*blood agar base*) adicionado de 5% de sangue de carneiro desfibrinado e esterilizado. Estas placas foram incubadas a 37°C com pressão parcial de 10% de CO₂ por 24 h e foi realizada a identificação da hemólise conforme quadro 2.

⁷ Cecon

⁸ Oxoid

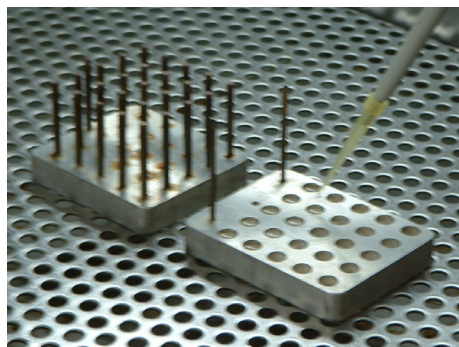


Figura 1 – Replicador de Steers

Quadro 2 – Identificação de hemólise (adaptado de Koneman *et al*, 2001).

Hemólise	Identificação
α (ALFA)	Lise parcial dos eritrócitos em torno da colônia, causando alteração da cor do meio para cinza-esverdeado ou amarronzado
β (BETA)	Lise completa dos eritrócitos em torno da colônia, clarificando o meio de cultura
γ (GAMA)	Ausência de hemólise e, portanto, não ocorre alteração de cor do meio. São denominados não-hemolíticos, em vez de γ -hemolíticos

Resultando em β -hemólise as bactérias foram denominadas estreptococos beta-hemolíticos. Resultando em α -hemólise ou ainda γ -hemólise foram consideradas como sendo do grupo *viridans* (Fig.5). Sendo este último grupo submetido às provas bioquímicas descritas a seguir e classificadas conforme quadro 3.

As provas bioquímicas seguiram as recomendações de Spolidorio (1997) e foram as seguintes:

1. Padrão de redução de carboidratos em meio ágar Bacto-Tioglucolato (BTAM) adicionado de púrpura de bromocresol⁹ a 0,0016% e, individualmente, um dos componentes a seguir:

- 1 – manitol¹⁰ a 1% (MAN)
- 2 – sorbitol¹¹ a 1% (SOR)
- 3 – rafinose¹¹ a 1% (RAF)
- 4 – amido¹² a 1% (AMI)
- 5 – inulina¹¹ a 1% (INU)
- 6 – lactose¹³ a 1%(LAC)

Para este teste cada microrganismo foi incubado em caldo BHI a 37°C em pressão parcial de 10% de CO₂ e, após crescimento, foi retirada uma alíquota de 1 mL, depositada em tubo eppendorf esterilizado, centrifugado por 1 minuto a 8000rpm. Após, desprezou-se o sobrenadante e ressuspendeu-se os microrganismos depositados no tubo com solução de cloreto de sódio a 0,9%. O inóculo foi padronizado em 10⁸ unidades formadoras de colônias por mL (ufc/mL), por comparação com o padrão 0,5 da escala de McFarland e este foi aplicado através de um replicador de Steers em placas de Petri contendo o meio BTAM. Estas placas foram incubadas a 37°C com pressão parcial de 10% de CO₂ por 24 horas. Decorrido este período foi realizada a leitura. A utilização do carboidrato, presente no meio, pelo microrganismo em teste promove a alteração do pH do meio fazendo com que a coloração inicialmente azulada torne-se amarelada

⁹ Nuclear

¹⁰ Synth

¹¹ Sigma

¹² Vetek

¹³ Lachema

indicando positividade da reação por redução do carboidrato ou caso o microrganismo não utilize o carboidrato o meio permanece inalterado indicando negatividade da reação (Fig. 6).

2. Teste de aderência em superfície de vidro realizado em tubo contendo BHI e sacarose¹⁴ 1% (ADE). O microrganismo foi incubado neste meio a 37°C em pressão parcial de 10% de CO₂ por 48 horas. Decorrido este período foi realizada a leitura. A positividade da aderência foi observada após verter o conteúdo inicial presente no tubo, adicionar solução de cloreto de sódio a 0,9%, agitar o tubo e novamente verter o conteúdo do tubo, observando-se a permanência de uma placa esbranquiçada de aderência do microrganismo na parede do tubo. A negatividade da reação é indicada pela não permanência da placa no tubo (Fig.7).

O Quadro 3 foi empregado para estimar a espécie bacteriana das cepas. No caso de concordância de 90% das provas, a bactéria em estudo foi considerada como sendo pertencente à espécie relacionada.

Os microrganismos *Streptococcus mutans* Ingbritt 1600 e *Streptococcus sanguis* ATCC 10556 foram utilizados como controles destes testes em todos os dias em que as provas foram realizadas.

¹⁴ Synth

Quadro 3. Provas bioquímicas e crescimento em meio de cultura seletivo, utilizados para identificação das espécies microbianas (adaptado de Bergey's, 1986; Spolidorio, 1997 e Konemam *et al.*, 2001).

Grupos	<i>Streptococcus</i>	MAN	SOR	AMI	RAF	INU	LAC	ADE	HEMÓLISE
MITIS	<i>sanguis</i>	-	-	±	±	±	+	+	α,β,γ
	<i>gordonii</i>	-	-	±	±	±	+	+	α
	<i>oralis</i>	±	±	+	±	±	+	+	α
	<i>mitis</i>	-	-	±	-	±	+	-	α
	<i>pneumoniae</i>	-	-	nt	+	±	+	-	α,β,γ
MILLERI	<i>anginosus</i>	±	-	+	±	-	±	-	α,β,γ
	<i>constellatus</i>	-	-	-	-	-	-	-	α,β,γ
	<i>intermedius</i>	-	-	±	±	-	+	-	α, γ
SALIVARIUS	<i>salivarius</i>	-	-	+	±	±	+	+	α,β,γ
	<i>vestibularis</i>	-	-	±	-	-	+	-	α
MUTANS	<i>cricetus</i>	+	+	±	+	±	+	+	α,γ
	<i>downeii</i>	+	-	nt	-	+	nt	+	nt
	<i>ferus</i>	+	+	nt	-	nt	nt	+	nt
	<i>macacae</i>	+	+	nt	+	-	nt	+	α
	<i>mutans</i>	+	+	+	+	+	+	+	α,γ
	<i>rattus</i>	+	+	nt	+	+	+	+	nt
	<i>sobrinus</i>	+	±	nt	±	±	+	+	α,γ

Legenda:

- + = reação positiva, isto é, há mudança da cor roxa para amarela
- = reação negativa, isto é, não há mudança de cor no meio de cultura
- ± = reação pode ser positiva ou negativa
- nt = não há informações

4.4 TESTE DE SENSIBILIDADE BACTERIANA

Após a classificação dos microrganismos, estes foram submetidos ao teste de sensibilidade bacteriana seguindo recomendações de Groppo (1996) e NCCLS (1984 e 2002). Para isto foram recultivados em caldo BHI a 37°C em aerobiose para os estafilococos e em microaerofilia com pressão parcial de 10% de CO₂ para os estreptococos.

Os inóculos foram padronizados quando apresentavam turvação semelhante comparando-se ao padrão 0,5 da escala de MaCFarland, lidos espectrofotometricamente a 800 nm.

Após a padronização estes foram espalhados por meio de *swabs* na superfície do ágar Mueller Hinton¹⁵ em placas de Petri de 150 mm de diâmetro. Para os estreptococos foi adicionado ao meio 1,5% de sangue de carneiro desfibrinado e esterilizado. Após secagem do inóculo espalhado no meio, foram colocados os seguintes discos de antimicrobianos:

claritromicina¹⁶ 15 µg;
eritromicina¹⁰ 15 µg;
azitromicina¹⁰ 15 µg;
penicilina G¹⁰ 10 UI;
amoxicilina¹⁰ 10 µg;
amoxicilina 20 µg + ácido clavulânico¹⁰ 10 µg;
vancomicina¹⁰ 30 µg;
cefalexina¹⁰ 30 µg;
cefalotina¹⁰ 30 µg;
clindamicina¹⁰ 2 µg.

¹⁵ Difco Laboratories

¹⁶ Cecon

Para os estafilococos foram adicionados ainda, os discos de oxacilina¹⁰ 1 µg e metilicina¹⁷ 5 µg.

As placas foram incubadas a 37°C em aerobiose para os estafilococos e em microaerofilia com 10% de pressão parcial de CO₂ para os estreptococos. Após 18 horas os halos de inibição formados (Fig.8) foram medidos com auxílio de um paquímetro¹⁸ e anotados, exceto para os halos de vancomicina, oxacilina e metilicina que foram lidos após 24 horas (NCCLS, 2002). Estes halos foram posteriormente classificados para cada microrganismo e antimicrobiano em sensível (S), resistente (R) ou intermediário (I), seguindo as informações do quadro 4.

Foi utilizada como cepa controle, conforme recomendação do NCCLS, 1984 e 2002, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

¹⁷ Oxoid

¹⁸ Starrett

Quadro 4. Padrões interpretativos para halos de inibição (adaptado de Konemam *et al.*, 2001; NCCLS, 2002)

		PADRÃO INTERPRETATIVO ZONAS DE INIBIÇÃO EM mm		
Antimicrobiano		Resistente	Intermediário	Sensível
amoxicilina (20µg) + ácido clavulânico (10µg) – (AMC)	Estafilococos	≤ 19	–	≥ 20
	Outros org.	≤ 13	14 – 17	≥ 18
	Estreptococos	≤ 21	22–29	≥ 30
amoxicilina (10µg) - (AMO)	Estafilococos	≤ 28	–	≥ 29
	Estreptococos	≤ 21	22–29	≥ 30
penicilina G (10UI) - (PEN)	Estafilococos	≤ 28	–	≥ 29
	Estreptococos	≤ 21	20–27	≥ 28
azitromicina (15µg) - (AZI)		≤ 13	14–17	≥ 18
claritromicina (15µg) - (CLA)		≤ 13	14–17	≥ 18
cefalexina (30µg) - (CFE)		≤ 14	15–17	≥ 18
cefalotina (30µg) – (CFL)		≤ 14	15–17	≥ 18
clindamicina (2µg) - (CLI)		≤ 14	15–20	≥ 21
eritromicina (15µg) - (ERI)		≤ 13	14–22	≥ 23
metilicina (5µg) - (MET)	Estafilococos	≤ 9	0–13	≥ 14
oxacilina (1µg) - (OXA)	Estafilococos	≤ 10	11–12	≥ 13
vancomicina (30µg) - (VAN)		≤ 9	10–11	≥ 12

5. RESULTADOS

Foram avaliadas um total de 254 colônias de estreptococos providas da saliva e 195 colônias de estafilococos providas da mucosa nasal, colhidas de 20 voluntários sadios, antes e após 1h20min, 2h, 6h e 12 h da ingestão de dose única de 500mg de claritromicina, em duas fases.

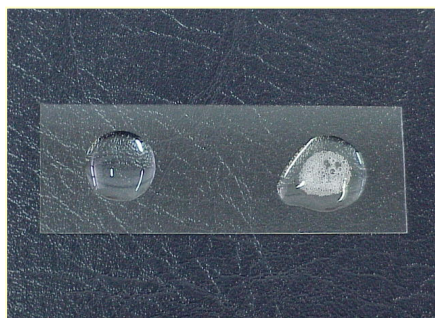


Figura 2 – Representação de reação negativa (à esquerda) e positiva (à direita) da prova de catalase.

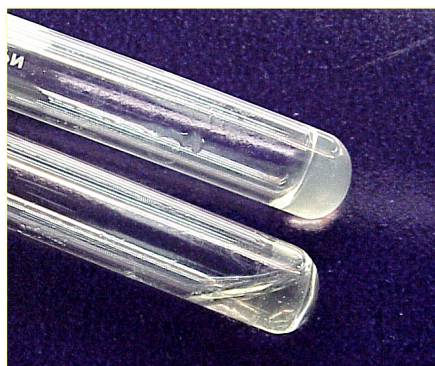


Figura 3 – Representação de reação positiva (acima) e negativa (abaixo) da prova de coagulase.

Após os testes específicos para identificação como, hemólise representada na figura 5; utilização de substratos, figura 6; aderência, figura 7; os estreptococos foram classificados em espécies e enquadrados nos grupos *viridans*

segundo o quadro 3 (material e métodos) e o percentual de aparecimento dos grupos estão apresentados no gráfico 1.

Das 195 colônias de estafilococos analisadas nos testes de identificação, 86 foram classificados como sendo *S. aureus* e 109 como *S. epidermidis*.

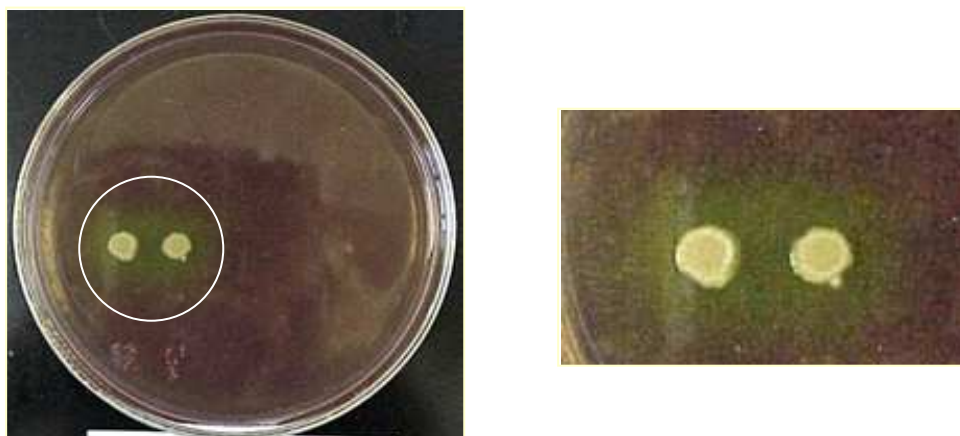


Figura 4 – Representação da reação positiva da prova de fermentação de manitol.

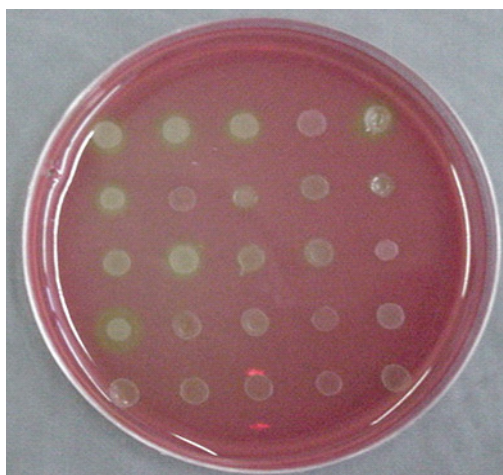


Figura 5 – Representação da hemólise pelos estreptococos. Notar a presença de α -hemólise e γ -hemólise.

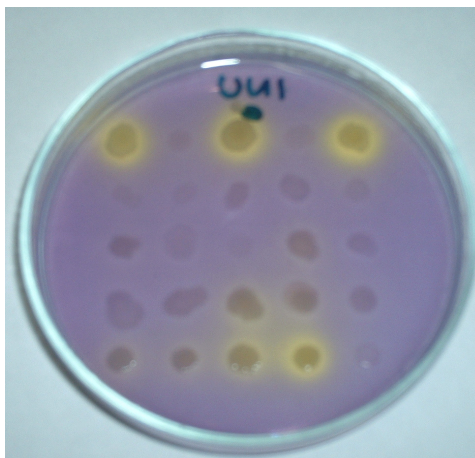


Figura 6 – Representação da utilização da inulina para os estreptococos aplicados ao meio BTAM. Notar a coloração amarelada ao redor de algumas colônias, mostrando a positividade da reação.

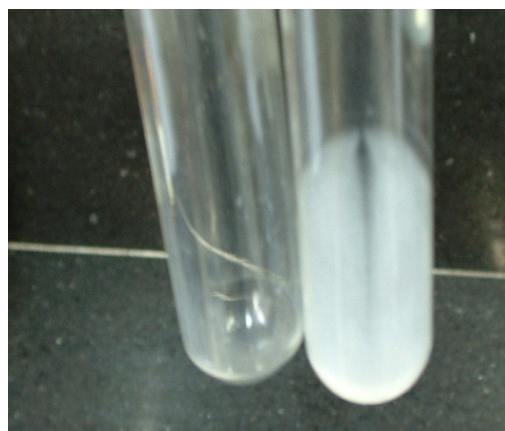
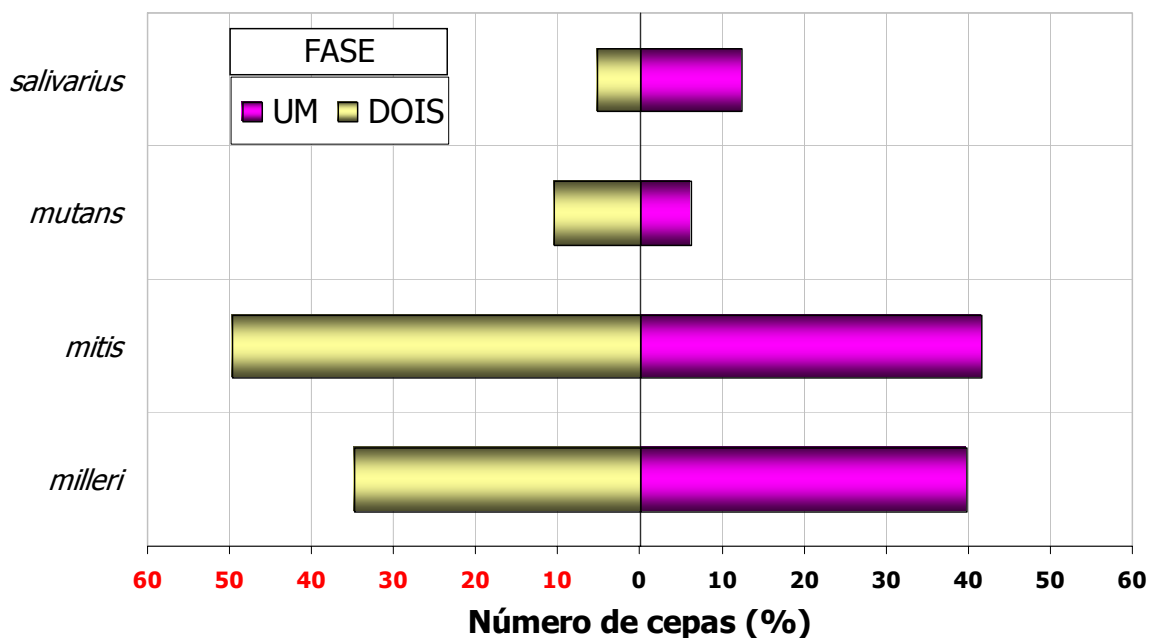


Figura 7 – Representação de aderência pelos estreptococos a parede do tubo (à direita), ou não aderência (à esquerda) após o crescimento em BHI com sacarose.

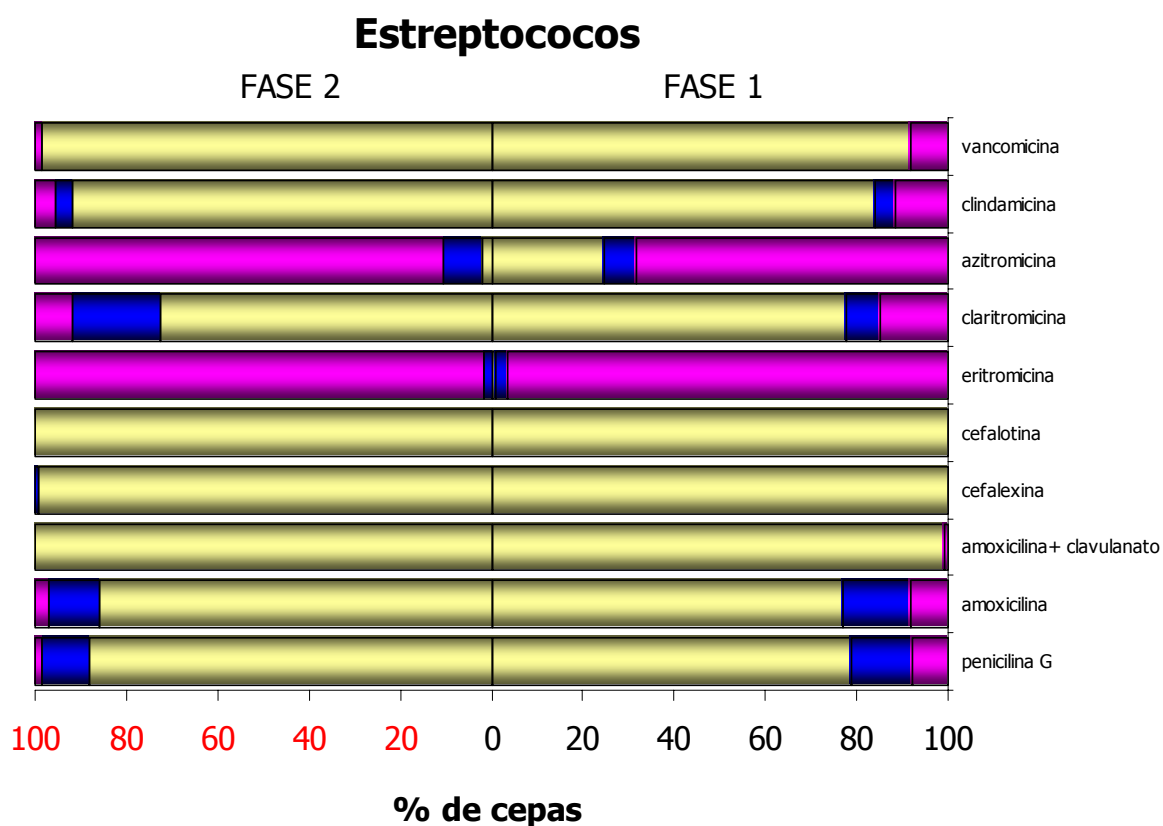
Gráfico 1 – Representação do percentual de cepas, considerando cada grupo de estreptococos por fase .



Os resultados dos testes de sensibilidade para os estreptococos frente aos antimicrobianos utilizados, separados por fase e tempo de colheita podem ser observados no quadro 5.

O Gráfico 2 mostra o percentual destas cepas sensíveis, intermediárias e resistentes, separadas por fase.

Gráfico 2 – Percentual de cepas de estreptococos sensíveis, intermediárias e resistentes frente aos antimicrobianos ■ Sensível, ■ Intermediário e ■ Resistente



RESULTADOS

Quadro 5 - Percentual de colônias de estreptococos sensíveis, intermediárias e resistentes aos antimicrobianos, divididos por fase e tempo de colheita (horas).

		FASE	1						2				
		TEMPO (h)	0	1,3	2	6	12		0	1,3	2	6	12
ESTREPTOCOCOS	SENSÍVEL	penicilina G	82,1	81,8	73,9	70,6	83,3		82,1	80,8	82,8	100	96,2
		amoxicilina	85,7	69,7	73,9	70,6	91,7		78,6	80,8	82,8	100	88,5
		amoxicilina+ clavulanato	100	100	100	94,1	100		100	100	100	100	100
		cefalexina	100	100	100	100	100		96,4	100	100	100	100
		cefalotina	100	100	100	100	100		100	100	100	100	100
		eritromicina			4,3								
		claritromicina	85,7	75,8	78,3	76,5	66,7		78,6	73,1	75,9	69,2	65,4
		azitromicina	39,3	24,2	34,8	5,9				7,7	3,4		
		clindamicina	85,7	78,8	87	88,2	83,3		82,1	92,3	96,6	96,2	92,3
		vancomicina	92,9	90,9	91,3	88,2	100		92,9	100	100	100	100
	INTERMEDIÁRIO	cefalexina							3,6				
		cefalotina											
		eritromicina		6,1	4,3					7,7			
		claritromicina		6,1	8,7	11,8	16,7		7,1	23,1	20,7	23,1	23,1
		azitromicina	7,1	9,1	4,3	5,9	8,3		14,3	11,5	3,4	7,7	3,8
		clindamicina	3,6	6,1			16,7		7,1	7,7		3,8	
		vancomicina											
	RESISTENTE	penicilina G	7,1	9,1	8,7	11,8			7,1				
		amoxicilina	7,1	9,1	8,7	11,8			7,1	7,7			
		amoxicilina+ clavulanato				5,9							
		cefalexina											
		cefalotina											
		eritromicina	100	93,9	91,3	100	100		100	92,3	100	100	100
		claritromicina	14,3	18,2	13	11,8	16,7		14,3	3,8	3,4	7,7	11,5
		azitromicina	53,6	66,7	60,9	88,2	91,7		85,7	80,8	93,1	88,5	96,2
		clindamicina	10,7	15,2	13	11,8			10,7		3,4		7,7
		vancomicina	7,1	9,1	8,7	11,8			7,1				

RESULTADOS

A figura 8 apresenta um exemplo das placas utilizadas no teste de sensibilidade para os estreptococos.

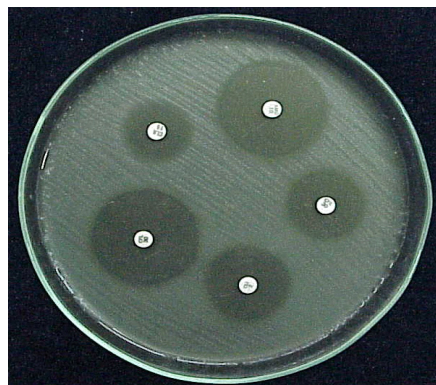
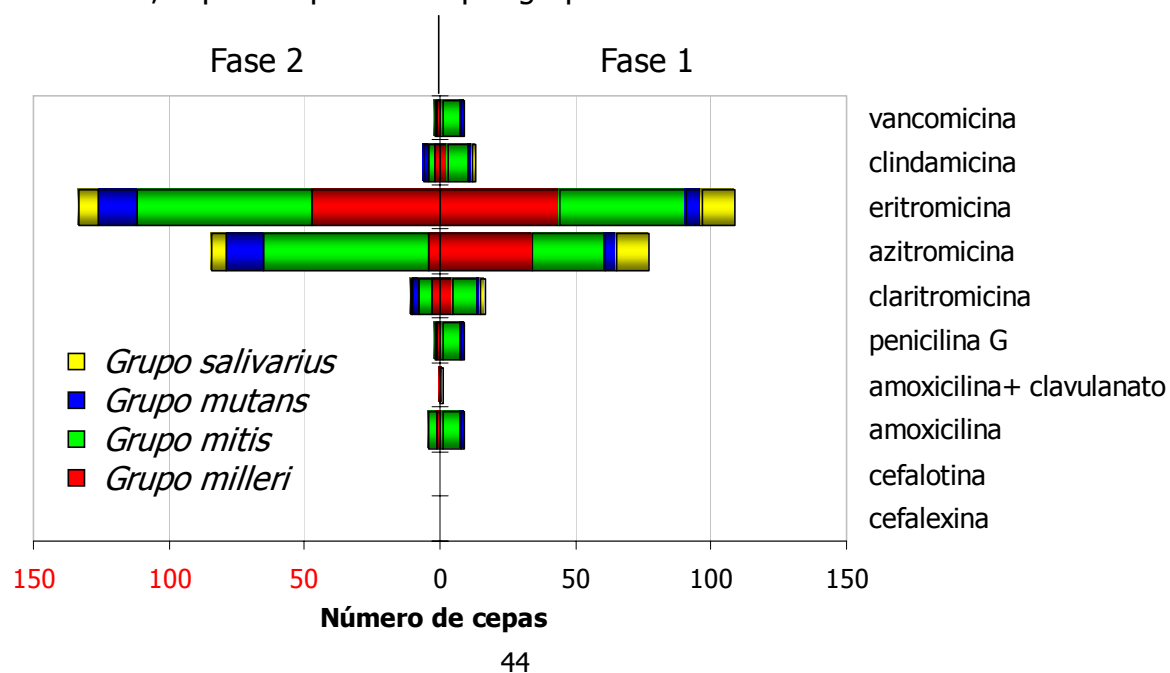


Figura 8 – Teste de sensibilidade a antimicrobianos para estreptococos.

O Gráfico 3 mostra o número de cepas de estreptococos resistentes frente aos antimicrobianos, separado por fase e por grupo.

Gráfico 3 – Número de cepas de estreptococos resistentes frente aos antimicrobianos, separado por fase e por grupo.



RESULTADOS

Os resultados dos testes de sensibilidade, em porcentagem, para os *S. aureus* e *S. epidermidis* frente aos antimicrobianos utilizados, separados por fase e tempo de colheita podem ser observados nos quadros 6 e 7, respectivamente.

Quadro 6 - Resultados dos testes de sensibilidade para os *S. aureus*, em porcentagem, frente aos antimicrobianos utilizados, em função da fase e do tempo (horas).

		FASE	1					2				
		TEMPO (h)	0	1,3	2	6	12	0	1,3	2	6	12
<i>S. aureus</i>	SENSÍVEL	amoxicilina	16,7	16,7	12,5	54,5	14,3	15,4	18,2	27,3	22,2	25
		amoxicilina+clavulanato	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
		azitromicina	100	83,3	75	100	100	84,6	63,6	54,5	77,8	75
		cefalexina	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
		cefalotina	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
		claritromicina	100	83,3	75	100	100	84,6	63,6	63,6	77,8	75
		clindamicina	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
		eritromicina	50	50	37,5	63,6	28,6	69,2	54,5	36,4	77,8	25
		meticilina	100	100	87,5	100	100	100	100	100	88,9	75
		oxacilina	100	100	87,5	100	100	100	100	100	100	100
		penicilina	16,7	16,7	12,5	45,5	14,3	15,4	18,2	27,3	22,2	25
		vancomicina	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	INTERMEDIÁRIO											
		eritromicina	50	33,3	37,5	36,4	71,4	15,4	9,1	18,2		50
		meticilina			12,5						11,1	25
		oxacilina			12,5							
		azitromicina							9,1	9,1		
	RESISTENTE								27,3	9,1		
		amoxicilina	83,3	83,3	87,5	45,5	85,7	84,6	81,8	72,7	77,8	75
		azitromicina		16,7	25			15,4	27,3	36,4	22,2	25
		claritromicina		16,7	25			15,4	9,1	27,3	22,2	25
		eritromicina		16,7	25			15,4	36,4	45,5	22,2	25
		penicilina G	83,3	83,3	87,5	54,5	85,7	84,6	81,8	72,7	77,8	75

RESULTADOS

Quadro 7 - Resultados dos testes de sensibilidade para os *S. epidermidis* em porcentagem, frente aos antimicrobianos utilizados, em função da fase e do tempo (horas).

		FASE	1					2				
		TEMPO (h)	0	1,3	2	6	12	0	1,3	2	6	12
<i>S. epidermidis</i>	SENSÍVEL	amoxicilina	20	28,6	9,1	30	7,7	16,7	0	11,1	11,1	16,7
		amoxicilina+clavulanato	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
		azitromicina	100	92,9	90,9	90	84,6	58,3	50	66,7	30	58,3
		cefalexina	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
		cefalotina	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
		claritromicina	100	92,9	90,9	90	84,6	58,3	50	77,8	40	66,7
		clindamicina	100	100	100	100	100	100	87,5	100	90	100
		eritromicina	60	64,3	63,6	80	53,8	25	37,5	44,4	30	58,3
		meticilina	100	100	100	90	100	100	100	100	100	100
		oxacilina	100	100	100	90	100	100	100	100	100	100
		penicilina	20	21,4	9,1	20	7,7	16,7			10	8,3
		vancomicina	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	INTERMEDIÁRIO											
		azitromicina			9,1		7,7	8,3	25	11,1	30	8,3
		claritromicina					7,7	8,3	37,5		30	8,3
		eritromicina	40	28,6	27,3	10	30,8	33,3	12,5	33,3		
		meticilina				10						
		oxacilina				10						
		clindamicina							12,5		10	
	RESISTENTE											
		amoxicilina	80	71,4	90,9	70	92,3	83,3	100	88,9	88,9	83,3
		azitromicina		7,1		10	7,7	33,3	25	22,2	40	33,3
		claritromicina		7,1	9,1	10	7,7	33,3	12,5	22,2	30	25
		eritromicina		7,1	9,1	10	15,4	41,7	50	22,2	70	41,7
		penicilina G	80	78,6	90,9	80	92,3	83,3	100	100	90	91,7

Os gráficos 4 e 5 mostram os percentuais destas cepas sensíveis, intermediárias e resistentes, separadas por fase, para *S. aureus* e *S. epidermidis*, respectivamente.

RESULTADOS

Gráfico 4 – Percentual de cepas sensíveis, intermediárias e resistentes para os *S. aureus*, de acordo com a fase do estudo. ■ Sensível, ■ Intermediário e ■ Resistente

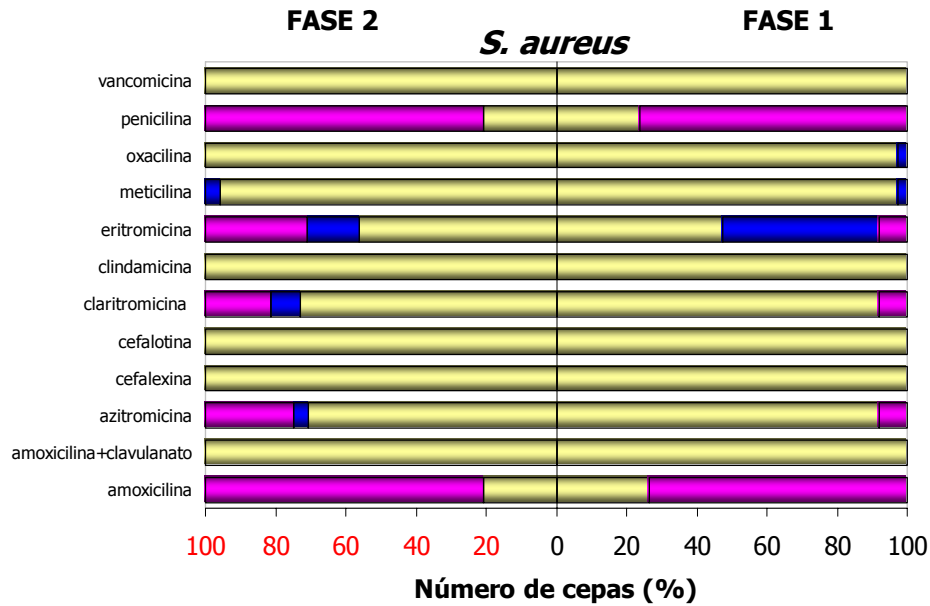
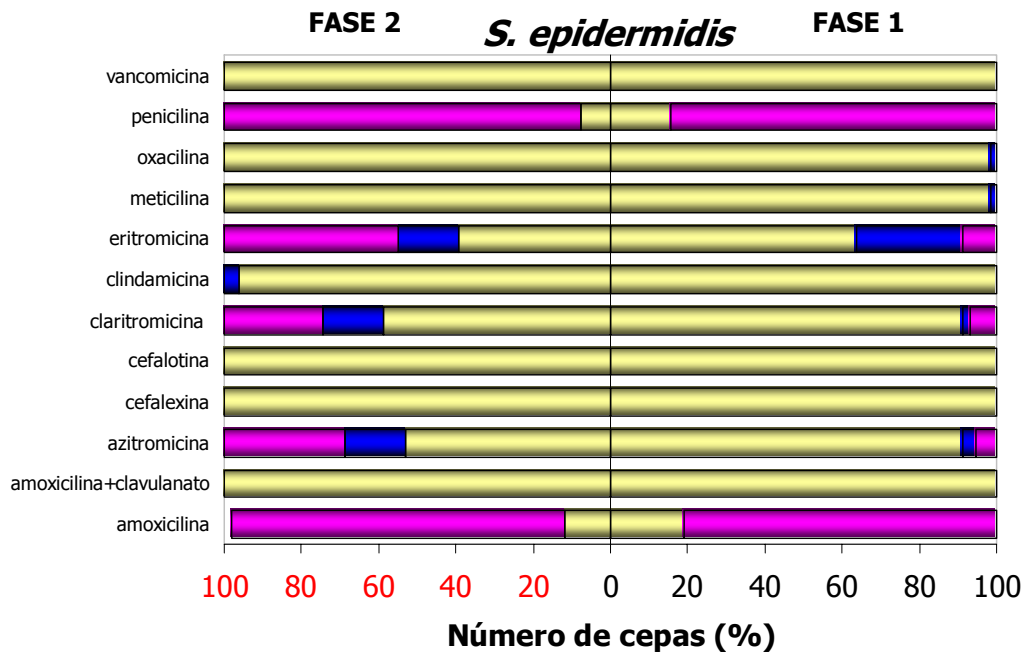


Gráfico 5 – Percentual de cepas sensíveis, intermediárias e resistentes para os *S. epidermidis*, de acordo com a fase do estudo. ■ Sensível, ■ Intermediário e ■ Resistente



A Figura 9 apresenta um exemplo das placas utilizadas no teste para os estafilococos.

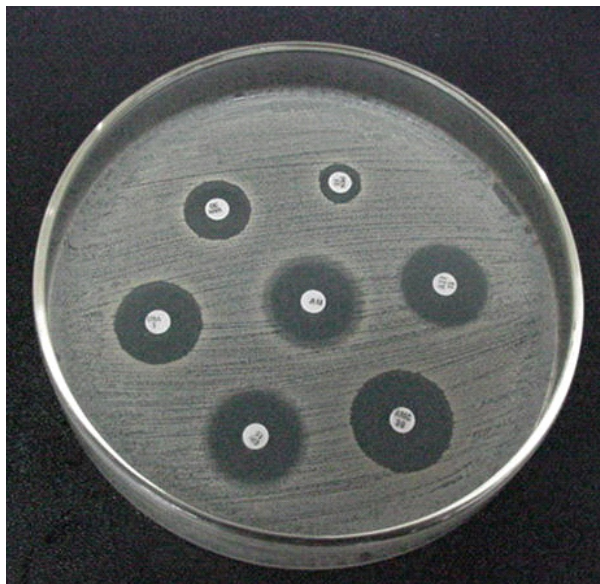


Figura 9 – Teste de sensibilidade a antimicrobianos para estafilococos

O quadro 8 apresenta uma comparação entre os dados percentuais de sensibilidade e resistência bacteriana entre os estreptococos e os estafilococos, separados por fase.

RESULTADOS

Quadro 8 - Comparação entre os percentuais de sensibilidade e resistência dos estreptococos e estafilococos, em função da fase.

		Fase					
		1			2		
		sensível	intermediário	Resistente	sensível	intermediário	resistente
ESTREPTOCOCOS	penicilina G	78,8	13,3	8,0	88,1	10,4	1,5
	amoxicilina	77,0	15,0	8,0	85,9	11,1	3,0
	amoxicilina + clavulanato	99,1		0,9	100,0		
	cefalexina	100,0			99,3	0,7	
	cefalotina	100,0			100,0		
	eritromicina	0,9	2,7	96,5		1,5	98,5
	claritromicina	77,9	7,1	15,0	72,6	19,3	8,1
	azitromicina	24,8	7,1	68,1	2,2	8,2	89,6
	clindamicina	84,1	4,4	11,5	91,9	3,7	4,4
	vancomicina	92,0		8,0	98,5		1,5
ESTAFILOCOCOS	penicilina G	19,5		80,5	14,7		85,3
	amoxicilina	22,1		77,9	16,8		83,2
	oxacilina	97,7	2,3		100,0		
	metilina	97,7	2,3		97,9	2,1	
	amoxicilina + clavulanato	100,0			100,0		
	cefalexina	100,0			100,0		
	cefalotina	100,0			100,0		
	eritromicina	55,2	35,6	9,2	49,5	15,8	34,7
	claritromicina	90,8	1,1	8,0	68,4	11,6	20,0
	azitromicina	90,8	2,3	6,9	64,2	9,5	26,3
	clindamicina	100,0			97,9	2,1	0,0
	vancomicina	100,0			100,0		

6. DISCUSSÃO

Testes de sensibilidade a antimicrobianos pelo método de difusão em discos têm sido utilizados na avaliação de microrganismos Gram-positivos do trato respiratório e da pele (Mendes, 2001). Estes testes seguem as normas do NCCLS que padroniza o método e a interpretação dos dados (NCCLS, 1984 e 2002). Os resultados para os testes de sensibilidade encontrados neste trabalho foram considerados aceitáveis pois foram conduzidos conforme estas padronizações e utilizaram como controle a cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, preconizada como uma das cepas de referência, sendo que os resultados se situaram dentro dos valores de referência propostos pelo órgão regulador.

A identificação das espécies seguiu parâmetros clássicos propostos na literatura internacional (Konemam *et al.*, 2001), observando características macro e microscópicas, além de ensaios com reagentes específicos para os microrganismos em estudo. Cepas de referência, como os *Streptococcus mutans* Ingbritt 1600, *Streptococcus sanguis* ATCC 10556 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, foram ensaiados juntamente com os microrganismos testes garantindo a confiabilidade dos resultados.

A literatura tem mostrado que a resistência bacteriana aos antimicrobianos vem aumentando ao longo do tempo (Brandileone *et al.*, 1998; Latorre, 1998; Prado *et al.*, 1998; Doern *et al.*, 1999; Kristensen *et al.*, 1999), sendo que estudos, como o presente, que visam monitorar a resistência bacteriana em determinadas populações têm se tornado cada vez mais importantes.

Particularmente na cavidade oral, estudos têm mostrado um aumento no número de estreptococos resistentes principalmente após a administração de macrolídeos, em regimes de profilaxia antimicrobiana (Harrison, 1985b; Herbert, 1988; Smith, 1989). O uso indiscriminado desta classe de antimicrobianos contribui para a alta incidência de estreptococos resistentes, como observado na

Espanha (Pérez-Trallero *et al.*, 2001) e no Brasil (Mendes *et al.*, 2001).

O principal mecanismo para a disseminação da resistência bacteriana seria a seleção natural pela inibição ou aniquilação da maioria das cepas sensíveis, resultando em um nicho favorável ao desenvolvimento das resistentes (Sefton, 1999). O uso de antimicrobianos em regimes de curta duração poderia levar à diminuição do fenômeno da resistência, entretanto o uso da amoxicilina neste tipo de regime mostrou um aumento do número de estafilococos resistentes (Wodman, 1985; Harisson, 1985a).

Da mesma forma, no presente trabalho foi observado um aumento na incidência de estreptococos resistentes não somente à claritromicina, mas principalmente a outros macrolídeos (particularmente a eritromicina e azitromicina) após a primeira exposição à claritromicina. O mesmo comportamento pôde ser observado em relação aos estafilococos, porém considerando a penicilina G e a amoxicilina.

Neste trabalho, aproximadamente 96% dos estreptococos foram resistentes à eritromicina, 8% à claritromicina e 68% à azitromicina. Considerando os estreptococos do grupo *viridans* resistentes à eritromicina, foram observados valores menores em termos percentuais na literatura, como por exemplo 40% (Diekema *et al.*, 2001), 38,5% (Ioannidou *et al.*, 2001) e 32% (Wisplenghoff *et al.*, 1999). As diferenças entre as populações observadas no presente estudo e naqueles da literatura poderiam explicar estes dados.

O fato de que o grau de resistência à claritromicina apresentou-se menor (15% na fase 1 e 8% na fase 2) do que o encontrado para outros macrolídeos (azitromicina e eritromicina) parece contraditório, uma vez que os voluntários fizeram uso da claritromicina em dose única em dois períodos distintos (fase 1 e 2). Assim, seria esperado um número maior de resistentes à claritromicina, principalmente nos tempos mais tardios de colheita das amostras. A farmacocinética da claritromicina talvez seja a chave para este paradoxo. O

metabólito primário da claritromicina, o 14-hidróxi-claritromicina pode ser até 3 vezes mais ativo do que o fármaco inicial contra alguns microrganismos. Assim, a combinação da claritromicina e seu metabólito poderia ser responsável pela menor incidência de estreptococos resistentes à mesma (Mensa, 2003).

A resistência dos estreptococos à eritromicina observada neste trabalho sugere que este fármaco provavelmente não teria sucesso terapêutico caso fosse utilizado, pois em quase todos os períodos analisados as cepas apresentaram 100% de resistência. A azitromicina também apresentou uma modesta atividade contra os estreptococos, mostrando um aumento do perfil de resistência com o decorrer do tempo.

Outros estudos já mostraram que a azitromicina tem atividade semelhante à da eritromicina contra muitas espécies Gram-positivas, entre elas *S. pneumoniae*, *E. faecalis*, *S. mutans*, *S. salivarius* e *S. sanguis*, não inibindo os estreptococos resistentes à eritromicina (Neu *et al.*, 1988). Este fato não foi confirmado no presente trabalho, pois a azitromicina, embora tenha apresentado um elevado grau de resistência, mostrou-se mais efetiva que a eritromicina, tanto contra estreptococos como estafilococos. A claritromicina mostrou uma efetividade maior do que aquela da azitromicina e muito maior quando comparada à eritromicina.

A elevada sensibilidade dos estreptococos aos beta-lactâmicos (penicilina G, amoxicilina, amoxicilina + clavulanato, cefalexina e cefalotina) observada no presente estudo, está de acordo com a opinião de Andrade (1999) de que estes fármacos são os ideais para utilização em Odontologia, uma vez que são os estreptococos *viridans* os patógenos mais comumente envolvidos nas infecções bacterianas orais.

Fierobe *et al.* (1999) sugeriram que *Staphylococcus aureus* metilina-resistentes (MRSA) poderiam ser disseminados através das mãos contaminadas de funcionários por cepas provindas de suas narinas, podendo causar infecções pós-

operatórias em pacientes dentro do ambiente hospitalar. Assim, a eliminação de *S. aureus* das narinas poderia resultar em subsequente desaparecimento destes microrganismos em outros nichos do organismo como a pele, axilas e períneo (Reagan *et al.*, 1991).

A verificação do perfil de resistência dos *Staphylococcus* provindos da cavidade nasal poderia prevenir o aparecimento de infecções pós-operatórias (Kluytmans *et al.*, 1995) e, por esse motivo, o presente estudo avaliou também cepas da cavidade nasal.

Considerando-se os estafilococos de uma maneira geral (*epidermidis* + *aureus*) avaliados frente aos antimicrobianos testados, a porcentagem de resistência dos microrganismos foi de 80,5% e 85,3% para a penicilina G e 77,9% e 83,2% para a amoxicilina, nas fases 1 e 2, respectivamente. Isoladamente, independente da fase, 77,7% dos *S. aureus* e 88,4% dos *S. epidermidis* mostraram-se resistentes à penicilina G e 76,5% e 83,7% para a amoxicilina, respectivamente. Os dados de resistência do *S. aureus* para penicilina G, apresentam similaridade aos encontrados na literatura, como os de Adesiyun *et al.*, 1995 (74,5%), da Kruszynska *et al.*, 1997 (82,5%), Adjei & Brenya, 1997 (80%), Kakar *et al.*, 1999 (85,9%), enquanto ROHANI *et al.*, 2000, e Tenssay, 2000, obtiveram, respectivamente, 94,1% e 95% de cepas resistentes.

Os resultados de resistência, 88,6% para a penicilina G, para cepas de *S. epidermidis* observados por Barelli *et al.* (1999) foram similares aos observados no presente estudo.

A metilicina e a oxacilina são penicilinas semi-sintéticas, normalmente estáveis na presença de β -lactamases produzidas pelos estafilococos, diferentemente da penicilina G (Montgomery, 1991). Neste trabalho, este fato pôde ser confirmado, pois não houve qualquer cepa de estafilococos resistente à metilicina ou à oxacilina, porém observou-se alto grau (aproximadamente 80%) de resistência à penicilina G.

A resistência bacteriana às penicilinas, causada pela produção de β -lactamases, pode ser evitada pela co-administração de um inibidor de β -lactamases do tipo ácido clavulânico (Motti, 1990).

O clavulanato de potássio, sal potássico do ácido clavulânico, possui fraca atividade antibacteriana. Na prática, a formulação da amoxicilina com o clavulanato de potássio protege a amoxicilina da degradação por algumas enzimas β -lactamases e estende de forma efetiva seu espectro de ação antimicrobiana, por incluir muitas bactérias normalmente resistentes à amoxicilina e a outros antimicrobianos β -lactâmicos (Andrade, 1999). Sua atividade como inibidor de β -lactamases é eficaz, atuando contra enzimas produzidas por bacilos Gram-negativos, gonococos e estreptococos, o que consagrou seu uso como inibidor de β -lactamases associado às penicilinas (Chardon *et al.*, 1995).

Esta atividade foi demonstrada neste trabalho, pois a resistência apresentada pelos estafilococos frente à amoxicilina, foi totalmente inexistente quando da associação ao clavulanato, pois o percentual de sensibilidade foi 100%.

Kawagushi *et al.* (1996) obtiveram 86,9% de resistência à cefalotina para *S. aureus*. No presente trabalho, não observamos resistência para *S. aureus* e *S. epidermidis* frente a cefalotina e a cefalexina. Entretanto, os autores utilizaram cepas de *S. aureus* meticilina-resistentes colhidas do sangue de doentes.

Para *S. aureus*, a resistência encontrada no presente trabalho frente à eritromicina foi 7,9% na primeira fase e 29,2% na segunda fase. Estes resultados não encontram suporte na literatura consultada, pois valores maiores, como 41% (Couppie *et al.*, 1998), 68,6% (Paniagua *et al.*, 1998), 32% (Kristensen *et al.*, 1999) e 45,9% (Rohani *et al.*, 2001), foram observados, mostrando que existe

uma grande variação nos valores de resistência de cepas de *S. aureus* frente a este antimicrobiano.

No presente estudo a clindamicina, uma droga do grupo das lincosaminas, foi efetiva contra todas as cepas de estafilococos. Além disso, obteve-se 11,5% na primeira fase e 4,4% na segunda fase de estreptococos resistentes à clindamicina, um percentual inferior àqueles obtidos por Limia *et al.* (1999), que estudaram a susceptibilidade de 180 cepas de estreptococos, obtendo 16,6% de resistência a esse antimicrobiano.

Neste trabalho, nenhuma cepa de estafilococo mostrou-se resistente à vancomicina, embora a taxa de resistência aos demais antimicrobianos tenha sido relativamente alta. Tal fato pode ser observado em muitos relatos recentes da literatura, como nos trabalhos de Kruszynska *et al.* (1997) e Sener & Gunalp (1998); Barelli *et al.* (1999); Giglio *et al.* (1999); Wisplinghoff *et al.* (1999); Alghaithy *et al.* (2000); Critchley *et al.* (2000); Luh *et al.* (2000); Rohani *et al.* (2000); Diekema *et al.* (2001); Ioannidou *et al.* (2001); Kennedy *et al.* (2001); Sader *et al.* (2001); que também observaram 100% de sensibilidade para este e diversas outras espécies de microrganismos frente ao mesmo antimicrobiano.

De todos os estreptococos isolados neste trabalho, 10,6% foram resistentes a pelo menos um tipo de antimicrobiano. Este mesmo índice foi de 2,75% para cepas de *S. epidermidis* e de 1,16% para *S. aureus*. Outros autores mostraram resultados muito superiores, como Adesiyun *et al.* (1995) que obtiveram 75,6%, Lilenbaum *et al.* (1998) que encontraram 58,2% e Rouse *et al.* (1998) que obtiveram 100% dos microrganismos isolados resistentes a pelo menos um antibiótico.

Resistência múltipla, ou seja, microrganismos resistentes a 2 ou mais classes de antimicrobianos, foi relatada por Frick *et al.*, 1998 (17,1%); Skull *et al.*,

1999 (17%); Nasrin *et al.*, 1999 (19%); Turnidge *et al.*, 1999 (21,2%); Araj *et al.*, 1999 (44%); Biel *et al.*, 1998 e Sadoyama *et al.*, 2000 (54,1%). Neste trabalho obteve-se 53,6% de resistência múltipla para estreptococos; 45,8% para *S. epidermidis* e 46,5% para *S. aureus*. Horiba *et al.*, 1995, relataram que a resistência múltipla a antimicrobianos de *S. epidermidis* é muito mais freqüente do que de outros estafilococos coagulase-negativos. Os resultados encontrados no presente trabalho mostram que este microrganismo apresenta uma alta taxa de resistência múltipla.

Embora os testes utilizados no presente estudo tenham sido *in vitro*, são estes mesmos testes que devem orientar o clínico para a escolha do antimicrobiano mais eficaz contra um determinado patógeno, particularmente nas infecções de maior gravidade. Em face disto, os resultados aqui obtidos, de uma maneira geral, são alarmantes pois alguns antimicrobianos mostraram-se inócuos contra os microrganismos estudados. Além disso, os microrganismos foram colhidos de voluntários considerados sadios, isto é, não eram pacientes acometidos de nenhuma doença sistêmica debilitante e também não faziam uso constante de antimicrobianos.

7. CONCLUSÃO

Considerando os resultados obtidos, dentro da metodologia empregada neste estudo, pode-se concluir que:

1. O uso da claritromicina, mesmo em dose única, foi capaz de selecionar estreptococos e estafilococos resistentes nas microbiotas nasal e oral de voluntários saudáveis, até 1 semana após a primeira administração da droga.
2. Os microrganismos mostraram maior sensibilidade à claritromicina, nas duas fases do estudo, do que aos outros macrolídeos.
3. De uma maneira geral, as penicilinas mostraram efetividade contra estreptococos mas não contra estafilococos, sendo que os macrolídeos exibiram comportamento inverso.
4. O tempo de colheita das amostras (até 12 horas) após a administração da claritromicina, não afetou o perfil de resistência e o número de bactérias resistentes iniciais.

REFERÊNCIAS*

1. Adesiyun AA, Prabhakar P, Ali C, Lewis M *et al.* Characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical and non-clinical human sources in Trinidad: susceptibility to bacteriophages and antimicrobial agents, and toxigenicity. **Zentralbl Bakteriol.** 1995 Oct; 282(4): 519-32.
2. Adjei, O; Brenya, RC. Secondary bacterial infection in Ghanaian patients with scabies. **East Afr Med J.** 1997 Nov; 74(11): 729-31.
3. Alghaithy AA, Bilal NE, Gedebo M, Weily AH *et al.* Nasal carriage and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolates from hospital and non-hospital personnel in Abha, Saudi Arabia. **Trans R Soc Trop Med Hyg.** 2000 Sep-Oct; 94(5): 504-7.
4. Amsden, GW. Advanced-generation macrolides: tissue-directed antibiotics. **Int J Antimicrob Agents.** 2001; 18 Suppl 1: S11-5.
5. Anderson R, Joone G, van Rensburg, CEJ. An in vitro evaluation of the cellular uptake and intraphagocytic bioactivity of clarithromycin (A-56268, TE-031), a new macrolide antimicrobial agent. **J Antimicrob Chemother.** 1988 Dec; 22(6): 923-33.
6. Andrade, ED. **Terapêutica medicamentosa em odontologia.** 1.ed. São Paulo: Artes Médicas, 1999.
7. Aracil B, Minambres M, Oteo J, Torres C, Gomez-Garcés JL, Alos JI. High prevalence of erythromycin-resistant and clindamycin-susceptible (M phenotype) viridans group streptococci from pharyngeal samples: a reservoir of mef genes in commensal bacteria. **J Antimicrob Chemother.** 2001 Oct; 48(4): 592-4.
8. Araj GF, Bey HA, Itani LY, Kanj SS. Drug-resistant *Streptococcus*

* De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseada no modelo Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline

- pneumoniae in the Lebanon: implications for presumptive therapy. **Int J Antimicrob Agents**. 1999 Aug; 12(4): 349-54.
9. Barelli C, Minto EC, Martinez R, Darini AL. Evaluation of the antimicrobial susceptibilities of coagulase-negative staphylococci by E-test. **Rev Latinoam Microbiol**. 1999 Apr-Jun; 41(2): 67-72.
 10. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardised single disc method. *Am J Clin Pathol*. 1966 Apr;45(4):493-6. *Apud*: Piddock LJ. Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. Antimicrobial Agents Research Group. **J Appl Bacteriol**. 1990 Apr; 68(4): 307-18.
 11. Benson CA, Segreti J, Beaudette FE, Hines DW, Goodman LJ, Kaplan RL *et al*. In vitro activity of A-56268 (TE-031), a new macrolide, compared with that of erythromycin and clindamycin against selected Gram-positive and Gram-negative organisms. **Antimicrob Agents Chemother**. 1987 Feb; 31(2): 328-30.
 12. Biel MA, Brown CA, Levinson RM, Garvis GE, Paisner HM, Sigel ME *et al*. Evaluation of the microbiology of chronic maxillary sinusitis. **Ann Otol Rhinol Laryngol**. 1998 Nov; 107(11 Pt 1): 942-5.
 13. Brandileone MC, Di Fabio JL, Vieira VS, Zanella RC, Casagrande ST, Pignatari AC *et al*. Geographic distribution of penicillin resistance of *Streptococcus pneumoniae* in Brazil: genetic relatedness. **Microb Drug Resist**. 1998 Fall; 4(3): 209-17.
 14. Carricajo A, Treny A, Fonsale N, Bes M, Reverdy ME, Gille Y *et al*. Performance of the chromogenic medium CHROMagar Staph Aureus and the Staphychrom coagulase test in the detection and identification of *Staphylococcus aureus* in clinical specimens. **J Clin Microbiol**. 2001 Jul; 39(7): 2581-3.
 15. Chardon H, Farzaneh S, Labia R, Jarlier V, Nicolas MH, Paul G *et al*. Analysis

- of β -lactamases produced by cephalotin susceptible *Escherichia coli* clinical isolates resistant to co-amoxiclav and ticarcilin clavulanic acid. **J Antimicrob Chemother.** 1995 Jul; 36(1): 267-9.
16. Chin NX, Neu NM, Labthavikul P, Saha G, Neu HC. Activity of A-56268 compared with that clarithromycin and other oral agents against aerobic and anaerobic bacteria. **Antimicrob Agents Chemother.** 1987 Mar; 31(3): 463-6.
 17. Chu SY. Single and multi-dose pharmacokinetics of clarithromycin. **Antimicrob Agents Chemother.** Oct. 1990; In: 30th Annual Interscience Conference. Atlanta, Georgia.
 18. Chu SY, Sennello LT, Sonders, RC. Simultaneous determination of clarithromycin and 14(R)-hydroxycarithromycin in plasma and urine using high performance liquid chromatography with electrochemical detection. **J Chromatogr.** 1991 Nov 15; 571(1-2): 199-208.
 19. Chu SY, Deaton, R, Cavanaugh, J. Absolute bioavailability of clarithromycin after oral administration in humans. **Antimicrob Agents Chemother.** 1992a May; 36(5): 1147-50.
 20. Chu SY, Park Y, Locke C, Wilson, DS, Cavanaugh J. Drug-food interaction potential of clarithromycin, a new macrolide antimicrobial. **J Clin Pharmacol.** 1992b; 32: p.32-36.
 21. Couppie P, Sainte-Marie D, Prevost G, Gravet A, Clyti E, Moreau B *et al.* L'impetigo en Guyane Francaise. Estudos clinique, bacteriologique, toxinologique et de sensibilite aux antibiotiques. **Ann Dermatol Venereol.** 1998 Oct; 125(10): 688-93.
 22. Critchley IA, Thornsberry C, Piazza G, Jones M, Hickey ML, Barth AL *et al.* Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* collected from five centers in Brazil, 1997-98. **Clin Microbiol Infect.** 2000 Apr; 6(4): 178-84.

23. Dajani AS, Taubert KA, Wilson W, Bolger AF, Bayer A, Ferrieri P *et al.*, Prevention of bacterial endocarditis: recommendations by the American Heart Association. **Clin Infect Dis.** 1997 Dec; 25(6): 1448-58.
24. Del-fiol FS, Mattos-Filho TR, Groppo FC. Resistência bacteriana. **Rev Bras Med.** Out. 2000; 57(10).
25. Diekema DJ, Beach ML, Pfaller MA, Jones RN. Antimicrobial resistance in viridans group streptococci among patients with and without the diagnosis of cancer in the USA, Canada and Latin America. **Clin Microbiol Infect.** 2001 Mar; 7(3): 152-7.
26. Doern GV, Brueggemann AB, Huynh H, Wingert E. Antimicrobial resistance with *Streptococcus pneumoniae* in the United States, 1997-98. **Emerg Infect Dis.** 1999 Nov-Dec; 5(6): 757-65.
27. Eliopoulos GM, Reiszner E, Ferraro MJ, Moellering RC. Comparative in-vitro activity of A-56268 (TE-031), a new macrolide antibiotic. **J Antimicrob Chemother.** 1987 Nov; 20(5): 671-5.
28. Farias WV, Sader HS, Leme IL, Pignatari AC. Sensitivity pattern of 117 clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from 12 hospitals. **Rev Assoc Med Bras.** 1997 Jul-Sep; 43(3): 199-204.
29. Fernandes PB, Bailer R, Swanson R, Hanson CW, McDonald E, Ramer N *et al.* In vitro and in vivo evaluation of A-56268 (TE-031), a new macrolide. **Antimicrob Agents Chemother.** 1986 Dec; 30(6): 865-73.
30. Ferrero JL, Bopp BA, Marsh KC, Quigley SC, Johnson MJ, Anderson DJ *et al.* Metabolism and disposition of clarithromycin in man. **Drug Metab Dispos.** 1990 Jul-Aug; 18(4): 441-6.
31. Fierobe L, Decre D, Muller C, Lucet JC, Marmuse JP, Mantz J *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a causative agent of postoperative intra-abdominal infection: relation to nasal colonization. **Clin Infect Dis.** 1999 Nov; 29(5): 1231-8.

32. Floyd-Reising S, Hindler JA, Young LS. In vitro activity of A-56268 (TE-031), a new macrolide antibiotic, compared with that of erythromycin and other antimicrobial agents. **Antimicrob Agents Chemother**. 1987 Apr; 31(4): 640-2.
33. Frick PA, Black DJ, Duchin JS, Deliganis S, McKee WM, Fritsche TR. Prevalence of antimicrobial drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Washington State. **West J Med**. 1998 Dec; 169(6): 364-9.
34. Gevaudan MJ, Bollet C, Mallet MN, de Micco P. Action des antibiotiques sur des variants pigmentés ou non pigmentés de *Mycobacterium avium-intracellulare*. **Pathol Biol** (Paris). 1991 May; 39(5): 429-35.
35. Giglio MS, Farias O, Lafourcade M, Pinto ME.. Surveillance of gram positive cocci susceptibility to betalactams, glycopeptides, and other antimicrobials. **Rev Med Chil**. 1999 Aug; 127(8): 919-25.
36. Gold HS, Moellering RC Jr. Antimicrobial-Drug Resistance. **N Engl J Med**. 1996 Nov 7; 335(19): 1445-53.
37. Groppo, FC. **Influência da evolução do tecido granulomatoso sobre a biodisponibilidade da amoxicilina. Estudo ex vivo, em ratos** [tese]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 1996.
38. Gu JW, Scully BE, Neu HC. Bactericidal activity of clarithromycin and its 14-hydroxy metabolite against *Haemophilus influenzae* and streptococcal pathogens. **J Clin Pharmacol**. 1991 Dec; 31(12): 1146-50.
39. Hardman JG, Limbird LE editores-chefes. **Goodman & Gilman – As bases farmacológicas da terapêutica**. 9.ed. Editora McGraw-Hill Interamericana: Rio de Janeiro, 1996.
40. Hardy DJ, Hanson CW, Hensey DM, Beyer JM, Fernandes PB. Susceptibility *Compylobacter pylori* to macrolides and fluoroquinolones. **J Antimicrob Chemother**. 1988 Nov; 22(5): 631-6.
41. Harrison GA, Rubin MP, Davies RM, Speller DC. Resistance in oral

- streptococci after repetition of a single-dose amoxycillin prophylactic regimen. **J Antimicrob Chemother.** 1985a Apr; 15(4): 501-3.
42. Harrison GA, Rubin MP, Davies RM, Speller DC, Stross WP. Resistance in oral streptococci after repeated three-dose erythromycin prophylaxis. **J Antimicrob Chemother.** 1985b Apr; 15(4): 471-9.
 43. Herbert M, Moore E, Radford J, Kubiak E, Speller D. Oral streptococci resistant to erithromycin after repetition of a regimen designed for dental prophylaxis. **J Antimicrob Chemother.** 1988 May; 21(5): 677-9.
 44. Horiba N, Yoshida T, Suzuki K, Maekawa Y, Ito M, Matsumoto T, *et al.* Isolation of methicillin-resistant staphylococci in the dental operator. **J Endod.** 1995 Jan; 21(1): 21-5.
 45. Horsburgh CR Jr, Gettings J, Alexander LN, Lennox JL. Disseminated *Mycobacterium avium* complex disease among patients infected with human immunodeficiency virus, 1985-2000. **Clin Infect Dis.** 2001 Dec 1;33(11):1938-43. Epub 2001 Oct 24.
 46. Ioannidou S, Tassios PT, Kotsovili-Tseleni A, Foustoukou M, Legakis NJ, Vatopoulos A. Antibiotic resistance rates and macrolide resistance phenotypes of viridans group streptococci from the oropharynx of healthy Greek children. **Int J Antimicrob Agents.** 2001 Mar; 17(3): 195-201.
 47. Jung R, Messick CR, Pendland SL, Tesoro EP, Losendahl KJ, Schriever CA *et al.* Postantibiotic effects and bactericidal activities of clarithromycin-14-hydroxy- clarithromycin, versus those of amoxicillin-clavulanate, against anaerobes. **Antimicrob Agents Chemother.** 2000 Mar; 44(3): 778-9.
 48. Kakar N, Kumar V, Mehta G, Sharma RC, Koranne RV. Clinico-bacteriological study of pyoderms in children. May 1999. **J Dermatol.** 1999 May; 26(5): 288-93.
 49. Kakegawa T, Ogawa T, Hirose S. Mode of inhibition of protein synthesis by TE-031 (A-56268). **Chemotherapy.** 1988; 36: 123-8.

50. Kakegawa T, Hirose S. Mode of inhibition of protein synthesis by metabolites of clarithromycin. **Chemotherapy**. 1990; 38: 317-23.
51. Kawaguchi E, Minamide W, Mori H, Igimi H. The taxonomic distribution, characteristic and susceptibility against antimicrobial agents of methicillin-resistant staphylococci isolated from blood. **Kansenshogaku Zasshi**. 1996 Nov; 70(11): 1147-53.
52. Kennedy HF, Gemmell CG, Bagg J, Gibson BE, Michie JR. Antimicrobial susceptibility of blood culture isolates of viridans streptococci: relationship to a change in empirical antibiotic therapy in febrile neutropenia. **J Antimicrob Chemother**. 2001 May; 47(5): 693-6.
53. Kluytmans JA, Mouton JW, Ijzerman EP, Vandenbroucke-Grauls CM, Maat AW, Wagenvoort JH *et al*. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* as a major risk factor wound infections after cardiac surgery. **J Infect Dis**. 1995 Jan; 171(1): 216-9.
54. Kohno S, Koga H, Yamaguchi K, Masaki M, Inoue Y, Dotsu Y *et al*. A new macrolide, TE-031 (A-56268), in treatment of experimental disease. **J Antimicrob Chemother**. 1989 Sep; 24(3): 397-405.
55. Kohno Y, Yoshida H, Suwa T, Suga T. Comparative pharmacokinetics of clarithromycin (TE-031), a new macrolide antibiotic, and erythromycin in rats. **Antimicrob Agents Chemother**. 1989 May; 33(5): 751-6.
56. Kohno Y, Yoshida H, Suwa T, Suga T. Uptake of clarithromycin by rat lung cells. **J Antimicrob Chemother**. 1990a Oct; 26(4): 503-13.
57. Kohno Y, Ohta K, Suwa T, Suga T. Autobacteriographic studies of clarithromycin and erythromycin in mice. **Antimicrob Agents Chemother**. 1990b Apr; 34(4): 562-7.
58. Kólar M, Urbánek K, Látal T. Antibiotic selective pressure and development of bacterial resistance. **Int J Antimicrob Agents**. 2001 May;17(5):357-63.
59. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn, WC Jr.

- Diagnóstico microbiológico. 5 ed. São Paulo: Medsi, 2001.
60. Kristensen B, Smedegaard HH, Pedersen HM, Andersen MF, Dahlerup JF, Sorensen HT *et al.* Antibiotic resistance patterns among blood culture isolates in a Danish county 1981-1995. **J Med Microbiol**. 1999 Jan; 48(1): 67-71.
 61. Kruszynska E, Bialek M, Janicka G, Bugalski R, Belzyt E, Czajkowski H *et al.* Susceptibility to antibiotics of Staphylococcus aureus strains. **Med Dosw Mikrobiol**. 1997;49(3-4):141-4
 62. Latorre C. *Streptococcus pneumoniae* isolated from a pediatric population: changes in 10 years. **Acta Paediatr**. 1998 Sep; 87(9): 940-4.
 63. Lilenbaum W, Nunes EL, Azeredo MA. Prevalence and antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from the skin surface of clinically normal cats. **Lett Appl Microbiol**. 1998 Oct; 27(4): 224-8.
 64. Limia A, Jimenez ML, Alarcon T, Lopez-Brea M. Five-year analysis of antimicrobial susceptibility of the *Streptococcus milleri* group. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**. 1999 Jun; 18(6): 440-4.
 65. Livermore, DM. Antibiotic resistance in staphylococci. **Int J Antimicrob Agents**. 2000 Nov; 16 Suppl 1: S3-10.
 66. Luh KT, Hsueh PR, Teng LJ, Pan HJ, Chen YC, Lu JJ *et al.* Quinupristin-dalfopristin resistance among gram-positive bacteria in Taiwan. **Antimicrob Agents Chemother**. 2000 Dec; 44(12): 3374-80.
 67. Luna VA, Coates P, Eady EA, Cove JH, Nguyen TT, Roberts MC. A variety of Gram-positive bacteria carry mobile mef genes. **J Antimicrob Chemother**. 1999 Jul; 44(1): 19-25.
 68. Maza de la ML, Pezzlo TM, Baron JE. **Atlas de diagnóstico em microbiologia**. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2001.
 69. McCartney AC. Changing trends in infective endocarditis. **J Clin Pathol**. 1992 Nov; 45(11): 945-8.

70. Medeiros AA. Beta-lactamases. **Br Med Bull.** 1984 Jan; 40(1): 18-27.
71. Mendes CM, Sinto SI, Oplustil CP MENDES. *In vitro* susceptibility of gram-positive cocci isolated from skin and respiratory tract to azithromycin and twelve other antimicrobial agents. **Braz J Infect Dis.** 2001 Oct; (5): 269-76. Epub 2003 Feb 21.
72. Mensa J, Garcia-Vazquez E, Vila J. Macrólidos, cetólidos y estreptograminas. **Enferm Infecc Microbiol Clin.** 2003 Apr; 21(4): 200-7; quiz 208, 219.
73. Moellering RC Jr. Interaction between antimicrobial consumption and selection of resistant bacterial strains. **Scand J Infect Dis Suppl.** 1990; 70: 18-24.
74. Montgomery EH. Antibióticos antibacterianos. *In:* NEIDLE, E.A., YAGIELA, J.A. **Farmacologia e terapêutica para dentistas.** 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p.412-446.
75. Motti EF. Contribuição prática dos novos antibióticos: avanços e perspectivas. **Rev Bras Méd.** jun 1990; 47(6): 236-44.
76. Nasrin D, Collignon PJ, Wilson EJ, Pilotto LS, Douglas RM. Antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* isolated from children. **J Paediatr Child Health.** 1999 Dec; 35(6): 558-61.
77. NCCLS - National Committee For Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing. Villanova, PA, 1984.
78. NCCLS - National Committee For Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 12th informational supplement M100 – S12, 22(1), 2002.
79. Neu HC, Chin NX, Saha G, Labthavikul P. Comparative in vitro activity of the new oral macrolide azithromycin. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis.** 1988 Aug; 7(4): 541-4.
80. Nouwen JL, van Belkum A, Verbrugh HA. Determinants of *Staphylococcus aureus* nasal carriage. **Neth J Med.** 2001 Sep; 59(3): 126-33.

81. Paniagua GL, Monroy E, Garcia O, Vaca S. Effect of beta-lactamase inhibitors on minimum inhibitory concentration of ampicillin and amoxicillin for *Staphylococcus aureus* strains. **Rev Latinoam Microbiol.** 1998 Jul-Dec; 40(3-4): 128-34.
82. Perez-Trallero E, Vicente D, Montes M, Marimon JM, Pineiro L. High proportion of pharyngeal carriers of commensal streptococci resistant to erythromycin in Spanish adults. **J Antimicrob Chemother.** 2001 Aug; 48(2): 225-9.
83. Pfaller MA, Jones RN, Marshall SA, Edmond MB, Wenzel RP. Nosocomial streptococcal blood stream infections in the SCOPE Program: species occurrence and antimicrobial resistance. The SCOPE Hospital Study Group. **Diagn Microbiol Infect Dis.** 1997 Dec; 29(4): 259-63.
84. Perl TM, Golub JE. New approaches to reduce *Staphylococcus aureus* nosocomial infection rates: treating *S. aureus* nasal carriage. **Ann Pharmacother.** 1998 Jan; 32(1): S7-16.
85. Piddock LJ. Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. Antimicrobial Agents Research Group. **J Appl Bacteriol.** 1990 Apr; 68(4): 307-18.
86. Prado V, Pidal P, Arellano C, Lagos R, San Martin O, Levine MM. Antimicrobial multiresistance of *Shigella* sp strains in a semi rural community of northern Santiago. **Rev Med Chil.** 1998 Dec; 126(12): 1464-71.
87. Reagan DR, Doebbeling BN, Pfaller MA, Sheetz CT, Houston AK, Hollis RJ *et al.* Elimination of coincident *Staphylococcus aureus* nasal and hand carriage with intranasal application of mupirocin calcium ointment. **Ann Intern Med.** 1991 Jan 15; 114(2): 101-6.
88. Reichmann P, Konig A, Linares J, Alcaide F, Tenover FC, McDougal L *et al.* A global gene pool for high-level cephalosporin resistance in commensal *Streptococcus* species and *Streptococcus pneumoniae*. **J Infect Dis.** 1997

- Oct; 176(4): 1001-12.
89. Rohani MY, Parasakthi N, Raudzah A, Yasim MY. Susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* isolated in Malaysian hospitals. **J Antimicrob Chemother.** 1999 Dec; 44(6): 852-3.
 90. Rolston K, Gooch G, Ho D. In vitro activity of clarithromycin (A. 56268; TE.031) against Gram-positive bacteria. **J Antimicrob Chemother.** 1989 Mar; 23(3): 455-7.
 91. Roman RS, Smith J, Walker M, Byrne S, Ramotar K, Dyck B *et al.* Rapid geographic spread of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain. **Clin Infect Dis.** 1997 Sep; 25(3): 698-705.
 92. Rouse DJ, Andrews WW, Lin FY, Mott CW, Ware JC, Philips JB 3rd. Antibiotic susceptibility profile of group B streptococcus acquired vertically. **Obstet Gynecol.** 1998 Dec; 92(6): 931-4.
 93. Roszkowski K, Beuth J, Ko HL, Peters G, Pulverer G. Comparative study on the macrolides erythromycin and clarithromycin: antibacterial activity and influence on immune responses. **Zentralbl Bakteriol.** 1990 Sep; 273(4): 518-30.
 94. Ruenis APDB. **Avaliação de modelos farmacocinéticos *in vivo* e *in vitro* para a análise de fármacos** [tese]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 2004.
 95. Sader HS, Jones RN, Ballou CH, Biedenbach DJ, Cered RF; GSMART Latin America Study Group. Antimicrobial susceptibility of quinupristin/dalfopristin tested against gram-positive cocci from Latin America: results from the global SMART (GSMART) surveillance study. **Braz J Infect Dis.** 2001 Feb; 5(1): 21-31.
 96. Sadoyama G, Gontijo Filho PP. Risk factors for methicillin resistant and sensitive *Staphylococcus aureus* infection in a Brazilian university hospital. **Braz J Infect Dis.** 2000 Jun; 4(3): 135-43.

97. Saito A, Ishigawa K, Shinohara M, Fukuhara I, Nakayama I, *et al.* Preclinical and clinical studies on TE-031 (A-56268). 1988. **Chemotherapy**. 36:521-37.
98. Scaglione F, Frascini F. Distribution of clarithromycin (clar) and its metabolite (14-OH) in therapeutically relevant respiratory tract tissues and fluids. 1st International Conference on the Macrolides, Azalides and Streptogramins. Santa Fé, New Mexico, 1992.
99. Sefton AM, Macrolides and changes in the oral flora. **Int J Antimicrob Agents**. 1999 Mar; 11 Suppl 1: S23-9.
100. Sneath, PHA, Mair, NS, Sharpe, ME, Holt, JG. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Baltimore-USA: Williams e Wilkins, 1986. 2v.
101. Sener B, Gunalp A. Trends in antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* in children in a Turkish hospital. **J Antimicrob Chemother**. 1998 Sep; 42(3): 381-4.
102. Simões RP. **Biodisponibilidade relativa entre duas formulações de claritromicina e os efeitos sobre a microbiota nasal de voluntários sadios** [tese]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 2003.
103. Skull S, Shelby-James T, Morris P, Perez G, Yonovitz A, Krause V *et al.* *Streptococcus pneumoniae* antibiotic resistance in Northern Territory children in day care. **J Paediatr Child Health**. 1999 Oct; 35(5): 466-71.
104. Slots J, Taubman MA. **Contemporary oral microbiology and immunology**. 1.ed., Saint Louis: Mosby – Year Book, Inc. 1992.
105. Smith GE, Fulford MR, Matthews RW, Speller DCI. Roxithromycin as a possible agent for prophylaxis of endocarditis: a study in normal volunteers. **J Antimicrob Chemother**. 1989 Mar; 23(3): 417-25.
106. Smith JT, Amyes SG. Bacterial resistance to antifolate chemotherapeutic agents mediated by plasmids. **Br Med Bull**. 1984 Jan; 40(1): 42-6.
107. Spolidorio DMP. **Biotipos de *Streptococcus* grupo mutans e avaliação**

- de parâmetros clínicos e microbiológicos entre escolares de diferentes classes sócio-econômicas** [tese]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 1997.
108. Suwa T, Yoshida H, Kohno Y, Yoshitomi S, Ohta K. . Metabolic fate of TE-031 (A-56268) - absorption, distribution and excretion of 4C-TE-031 in rats, mice and dogs. **Chemotherapy**. 1988a; 36: 213-26.
 109. Suwa T, Yoshida H, Fukushima K, Nagate T. Metabolic fate of TE-031 (A-56268) 1. Comparative pharmacokinetics of TE-031 and erythromycin stearate in rats and mice. **Chemotherapy**. 1988 b; 16: 198-204.
 110. Taubert KA, Dajani AS. Preventing bacterial endocarditis: American Heart Association guidelines. **Am Fam Physician**. 1998 Feb 1; 57(3): 457-68.
 111. Tavares W. **Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antiinfeciosos**. Atheneu, 2. ed., São Paulo, 1996.
 112. Tenssay ZW. Staphylococci: frequency of isolation and antibiotic susceptibility patterns in Jimma Hospital, south-west Ethiopia. **Ethiop Med J**. 2000 Jul; 38(3): 175-84.
 113. Towner KJ. The genetic of resistance. *In*: David Greenwood, **Antimicrobial Chemotherapy**, 3rd. ed. Oxford University Press. Oxford, 1997.
 114. Turnidge JD, Bell JM, Collignon PJ. Rapidly emerging antimicrobial resistances in *Streptococcus pneumoniae* in Australia. Pneumococcal Study Group. **Med J Aust**. 1999 Feb 15; 170(4): 152-5.
 115. Van Bambeke F, Tulkens PM. Macrolides: pharmacokinetics and pharmacodynamics. **Int J Antimicrob Agents**. 2001; 18 Suppl 1: S17-23.
 116. Wisplinghoff H, Reinert RR, Cornely O, Seifert H. Molecular relationships and antimicrobial susceptibilities of viridans group streptococci isolated from blood of neutropenic cancer patients. **J Clin Microbiol**. 1999 Jun; 37(6): 1876-80.
 117. Wollmer P, Pride NB, Rhodes CG, Sanders A, Pike VW, Palmer AJ *et al*.

- Measurement of pulmonary erythromycin concentration in patients with lobar pneumonia by means of positron tomography. **Lancet**. 1982 Dec 18; 2(8312): 1361-4.
118. Woodman AJ, Vidic J, Newman HN, Marsh PD. Effect of repeated high dose prophylaxis with amoxycillin on the resident oral flora of adult volunteers. **J Med Microbiol**. 1985 Feb; 19(1): 15-23.
119. Yoshii T, Ichii M, Kobayashi S, Sano E, Utoh K. Basic and clinical studies on TE-031 (A-56268) in oral surgery. **Chemotherapy**. 1988; 36: 1091-100.
120. Zhanel GG, Dueck M, Hoban DJ, Vercaigne LM, Embil JM, Gin AS *et al*. Review of macrolides and ketolides. Review of macrolides and ketolides: focus on respiratory tract infections. **Drugs**. 2001; 61(4): 443-98.

ANEXO 1 – Exames laboratoriais complementares realizados para atestar a higidez dos voluntários.

- β HCG para as mulheres;
- eletrocardiograma;
- exames hematológicos (hemoglobina, hematócrito, contagem total de eritrócitos, contagem total e diferencial de células brancas, velocidade de sedimentação eritrocitária);
- bioquímicos (glicemia, creatinina, uréia, TGO, TGP, fosfatase alcalina, gama GT, colinesterase, bilirrubina total, proteínas totais, albumina, ácido úrico, sódio, potássio, cloreto);
- sorológicos (hepatite B, hepatite C, HIV);
- urina tipo I;
- proctoparasitológico.

ANEXO 2 – Número de colônias resistentes aos antimicrobianos separadas por voluntário e por fase.

FASE	VOL	PEN G	AMOX	AMOX+CLAV	CEFALEX	CEFALO	AZITRO	ERITRO	CLARITRO	CLINDA	VANCO
1	1						2	4	1	1	1
	3						1	2			
	4						4	4			
	5						4	5			
	6						3	3	1	1	
	7						3	3			
	9						4	4			
	10						3	3			
	11						3	4	1		
	13						5	4			
	14						4	5			
	15						3	6			
	16						6	6			
	18						5	7	2	1	
	19						3	3	2	1	
	20							6			
	21	1	1	1			6	11	1		
	22	8	8				8	10	9	9	8
	23						7	12			
	24						3	7			
2	1						4	5			
	3						5	7	1		
	4						6	6	2		
	5						5	5			
	6						5	5			
	7						5	5			
	9						5	5			
	10		1				7	8			
	11						6	6			
	13						8	8	2	2	
	14						8	8			
	15						5	4			
	16						8	8			
	18						5	6			
	19						7	9	1		
	20						2	5			
	21		1				10	10	3	2	
	22	2	2				7	7	2	2	2
	23						7	10			
	24						5	6			

ANEXO 3 – Parecer de aprovação pelo Comitê de Ética.



**FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

✉ Caixa Postal 6111
13083-970 Campinas, SP
☎ (0__19) 3788-8936
fax (0__19) 3788-8925
✉ cep@head.fcm.unicamp.br

CEP, 29/10/01
(Grupo II)

PARECER PROJETO: N° 190/2001

I-IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “EFEITOS SOBRE A MICROBIOTA ORAL E NASAL DE INDIVÍDUOS SADIOS SUBMETIDOS A UMA DOSE ÚNICA DE 500MG DE CLARITOMICINA MERCK COMPARADA A UMA DOSE ÚNICA DE 500MG DE CLARITOMICINA ABBOT”

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Eduardo Abib Júnior

INSTITUIÇÃO: Synchropar/Clinica São Lucas

APRESENTAÇÃO AO CEP: 16/08/2001

II - OBJETIVOS

Correlacionar a farmacocinética das formas comerciais da claritromicina 500 mg, a Claritromicina- do Merck S.A. Indústrias químicas e o Klaricid- Abbot laboratórios do Brasil Ltda., com sua eficácia na redução da microbiota oral e nasal de voluntários saudáveis, em diferentes períodos de tempo.

III - SUMÁRIO

Trata-se estudo aberto, randomizado, cruzado onde voluntários receberão as 2 formulações do medicamento claritromicina (cuja concentração sérica são equivalentes, segundo o autor) em 2 períodos distintos. Vinte e quatro voluntários sadios, de ambos os sexos, com idade entre 18 e 45 anos, receberão dose única de 500mg e será avaliada a contagem de microorganismos no esfregaço nasal e na saliva antes da administração da droga, e após 80 min, 120min, 360min, e 720 min da administração. Previamente ao estudo serão avaliadas as condições de saúde dos sujeitos e colhidos exames para bioquímica e sorologias. Os sujeitos necessitarão de internação por 2 períodos de 36 h e terão seus custos remunerados com a quantia de R\$ 25,00. O estudo prevê também seguro por um período de 6 meses após o início da pesquisa.

ANEXO 3 – Parecer de aprovação pelo Comitê de Ética.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

O apresenta-se nos moldes estabelecidos pelas resoluções 196 e 251 do CNS/MS. A justificativa do protocolo centra-se no interesse em estabelecer que a claritromicina pode ser um substituto seguro de outras drogas na profilaxia odontológica da endocardite bacteriana, de forma que parece haver uma relação custo-benefício favorável. O Termo Consentimento Livre e Esclarecido encerra as informações necessárias aos sujeitos.

SITUAÇÃO DO PROJETO: APROVADO

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e 251/97, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa supracitado.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

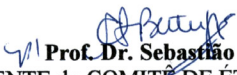
Relatório final deve ser apresentado ao CEP, ao término do estudo.

ANEXO 3 – Parecer de aprovação pelo Comitê de Ética.

VII - DATA DA REUNIÃO

Aprovado em 29 de outubro de 2001.

A ser homologado na XI Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 13 de novembro de 2001.


Prof. Dr. Sebastião Araújo
PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP