

EFEITOS DE ANTIBIÓTICOS EM UM MODELO DE BIOFILME *IN VITRO* COM MÚLTIPLAS ESPÉCIES BACTERIANAS SUBGENGIVAIS

Geisla Mary S. Sores, Flavia Teles, Luciene Figueiredo, Lynn Martin, Michele Patel, Magda Feres (orientadora UnG), Ricardo Teles (orientador Instituto Forsyth) - Pós-doutorado em Odontologia
geislamarly@gmail.com

RESUMO:

As doenças periodontais são infecções mistas causadas por espécies bacterianas organizadas em biofilmes que colonizam as superfícies dentárias. Embora já termos demonstrado em estudos anteriores benefícios do emprego de antibióticos sistêmicos no tratamento dessas infecções o conhecimento sobre a ação dos agentes antimicrobianos no biofilme subgengival é pouco explorada. Comparar os efeitos antimicrobianos de diferentes concentrações de amoxicilina (AMX), metronidazol (MET), azitromicina (AZM) e MET+AMX em um modelo de biofilme *in vitro* com múltiplas espécies bacterianas. Um inóculo com 10^5 células de 40 espécies bacterianas subgengivais foi preparado em caldo de *Brain Heart Infusion* (BHI) + 1% de hemina + 5% de sangue de ovelha. Esse inóculo foi dispensado em três placas de 96 poços no dispositivo de biofilme de *Calgary*. As placas receberam uma tampa contendo 96 pinos de poliestireno e foram incubadas em anaerobiose, à 37°C. Após 72 horas, os pinos foram transferidos diariamente para placas contendo meio fresco. Testes antimicrobianos iniciaram após 7 dias. Três pinos de cada placa foram removidos e processados pela técnica de *checkerboard DNA-DNA hybridization* para determinar a composição dos biofilmes. A partir de 4µg/ml de AMX, 10µg/ml de MTZ e 8µg/ml de AZM; os antibióticos foram diluídos separadamente em série para se obter 4 concentrações (1:1, 1:3, 1:9 e 1:27). Solução de clorexidina à 0,12% (CHX) foi utilizada como controle positivo. Pinos cobertos com biofilmes foram transferidos para placas de 96 poços com as diferentes concentrações dos antibióticos e incubadas durante 12, 24 e 36 horas. O percentual de redução na atividade metabólica dos biofilmes foi determinada utilizando cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) e espectrofotometria. Significância das diferenças entre os antibióticos foi determinada usando ANOVA e o teste de comparações múltiplas de Bonferroni. Os biofilmes que se formaram foram compostos de 35/40 espécies inoculadas. Os patógenos periodontais *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *E.nodatum*, *P.micra*; e espécies dos gêneros *Actinomyces*, *Fusobacterium*, *Capnocytophaga* e *Campylobacter* foram consistentemente detectados nos biofilmes. O ensaio com o TTC revelou que a CHX inibiu o metabolismo do biofilme em $95 \pm 0,8\%$ (média \pm DP). As reduções no percentual do metabolismo do biofilme para MET+AMX, AMX, AZT, e MTZ foram: $83 \pm 28\%$, $82 \pm 21\%$, $78 \pm 21\%$, $45 \pm 12\%$ ** (concentrações iniciais); $78 \pm 23\%$, $54 \pm 31\%$, $44 \pm 36\%^*$, $27 \pm 25\%^{***}$ (diluição 1:3); $72 \pm 27\%$, $21 \pm 24\%^{***}$, $19 \pm 20\%^{***}$, $27 \pm 11\%^{***}$ (diluição1:9); e $56 \pm 34\%$, $19 \pm 22\%^*$, $10 \pm 10\%^{***}$, $19 \pm 14\%^*$ (diluição1:27), respectivamente (* p <0,05, ** p <0,01, *** p <0,001 em comparação com os valores para MET+AMX). A combinação MET+AMX teve um maior efeito antimicrobiano sobre biofilmes com 35 espécies desenvolvidos *in vitro*, do que estes antibiótico sozinhos ou AZM.

DESCRITORES: Anti-infecciosos; Placa Dentária; Microbiologia; Doença Periodontais

Estudo financiado pela CAPES (Brasil), Grant # 4986 / 10-5 e NIH / NIDCR U01-DE021127-01