

ANDRÉ ANDRADE DE AGUIAR

**Avaliação da microbiota bucal em pacientes sob uso crônico
de penicilina G benzatina**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título
de Doutor em Ciências

Área de concentração: Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Max Grinberg

São Paulo

2009

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Aguiar, André Andrade de

Avaliação da microbiota bucal em pacientes sob uso crônico de penicilina G benzatina / André Andrade de Aguiar. -- São Paulo, 2009.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Departamento de Cardio-Pneumologia.

Área de concentração: Cardiologia.

Orientador: Max Grinberg.

Descritores: 1.Febre reumática 2.Cardiopatia reumática 3.Penicilina G benzatina
4.Streptococci Viridans 5.Endocardite bacteriana

USP/FM/SBD-148/09

Dedico este trabalho a:

Meus pais, pela dedicação, carinho, amor e todos os ensinamentos que serviram de alicerce para minha formação como profissional e como homem.

Minha irmã, que sempre me aconselhou, apoiou, torceu e vibrou com minha trajetória até hoje.

Minha esposa, pelo exemplo, pela compreensão, pelos conselhos, pelo apoio e pelo amor que sempre alimentou a minha busca pelos desafios e pelo sucesso.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus. Por superar diversos obstáculos a mim impostos; por não desistir quando tudo, inúmeras vezes, parecia impossível de se realizar e pelas pessoas que foram colocadas em meu caminho e protagonizaram o êxito deste trabalho.

À Silvia Kimie Osugui, Fleury Medicina Diagnóstica, pelo intenso esforço no desenho da metodologia do projeto e interesse no seu sucesso.

À Selma Teles Atayde Nellesen, Fleury Medicina Diagnóstica, pelas inúmeras análises microbiológicas feitas e toda paciência em explicá-las a mim no início do trabalho e pelo esforço em concluirmos dentro dos prazos estabelecidos.

À Elza Toshie Sakagami, Fleury Medicina Diagnóstica, por todo apoio técnico prestado em todo o percurso do trabalho.

Aos funcionários do Fleury Medicina Diagnóstica que participaram e colaboraram de alguma maneira para o sucesso deste estudo.

Às técnicas de enfermagem Amélia e Amélia pela colaboração nas diversas aplicações das injeções de Benzetacil nos pacientes da Liga de Combate à Febre Reumática do HCFMUSP.

À Rute Mello Diniz Ribeiro, Unidade Clínica de Valvopatias do InCor, pela colaboração em todo o cadastro de pacientes e registro dos dados coletados neste estudo.

À Mônica Udo Junqueira Kondo, Unidade Clínica de Valvopatias do InCor, pela dedicação, esforço, seriedade e, principalmente a amizade durante estes mais de 5 anos de pesquisa.

Ao Dr. Ricardo Simões Neves, Unidade de Odontologia do InCor, pela oportunidade a mim oferecida quando me apresentou ao meu orientador, Prof. Dr. Max Grinberg.

Ao Dr. Caio Márcio Figueiredo Mendes, Fleury Medicina Diagnóstica, por todo o apoio durante o desenho do projeto e pela minha introdução junto à equipe de microbiologia do Fleury.

Ao Prof. Dr. Luiz Antônio Machado César, Unidade Clínica de Coronariopatia Crônica do InCor, pelo espaço cedido em seu ambulatório para a inclusão dos pacientes do grupo controle deste estudo.

Ao Prof. Dr. Luiz Felipe Pinho Moreira, Unidade de Cirurgia Torácica e Cardiovascular, pela colaboração na análise, interpretação e ilustração dos resultados desta pesquisa.

Ao Dr. Guilherme Sobreira Spina, Unidade Clínica de Valvopatias do InCor e Liga de Combate à Febre Reumática do HCFMUSP , pela ajuda, ensinamentos, amizade e interesse durante todos esses anos de trabalho para que tudo desse certo.

Ao Dr. Roney Orismar Sampaio, Unidade Clínica de Valvopatias do InCor, pelos ensinamentos, paciência, amizade e intensa ajuda para a conclusão deste estudo.

Ao Dr. Jorge Luiz Mello Sampaio, Fleury Medicina Diagnóstica, pela expressiva colaboração, ensinamentos, paciência e interesse para que atingíssemos o sucesso.

Ao Prof. Dr. Max Grinberg, diretor da Unidade Clínica da Valvopatias do InCor, pela confiança em mim depositada, pela oportunidade, pelos ensinamentos e pela orientação nestes quase seis anos de trabalho.

À minha esposa Lucimara pela compreensão dos inúmeros atrasos, jantares cancelados, noites no computador... E pelo apoio incondicional em todas as fases deste trabalho.

A todos os pacientes que participaram desta pesquisa, sem os quais nada disto seria possível, e aos que desejaram, mas não puderam em virtude dos critérios de inclusão do estudo.

Se . . .

Se és capaz de manter a tua calma, quando,
todo mundo ao redor já a perdeu e te culpa.
De crê em ti quando estão todos duvidando,
e para esses no entanto achar uma desculpa.

Se és capaz de esperar sem te desesperares,
ou, enganado, não mentir ao mentiroso,
Ou, sendo odiado, sempre ao ódio te esquivares,
e não parecer bom demais, nem pretensioso.

Se és capaz de pensar sem que a isso só te atires;
de sonhar - sem fazer dos sonhos teus senhores.
Se, encontrando, a Desgraça e o Triunfo, conseguires,
tratar da mesma forma a esses dois impostores.

Se és capaz de sofrer a dor de ver mudadas,
em armadilhas, as verdades que disseste
E as coisas, por que deste a vida estraçalhadas,
e refazê-las com o bem pouco que te reste.

Se és capaz de arriscar numa única parada,
tudo quanto ganhaste em toda a tua vida.
E perder e, ao perder, sem nunca dizer nada,
resignado, tornar ao ponto de partida.

De forçar coração, nervos, músculos, tudo,
a dar seja o que for que neles ainda existe.
E a persistir assim quando, exausto, contudo,
resta a vontade em ti, que ainda ordena: Persiste!

Se és capaz de, entre a plebe, não te corromperes,
e, entre Reis, não perder a naturalidade.
E de amigos, quer bons, quer maus, te defenderes,
se a todos podes ser de alguma utilidade.

Se és capaz de dar, segundo por segundo,
ao minuto fatal todo valor e brilho.
Tua é a Terra com tudo o que existe no mundo,
e - o que ainda é muito mais - és um Homem, meu filho!

(Joseph Rudyard Kipling, 1909)

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de tabelas, figuras e gráficos

Resumo

Summary

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVO	5
3 CASUÍSTICA E MÉTODOS	
3.1 Casuística	6
3.2 Métodos	10
3.3 Análise estatística	21
4 RESULTADOS	
4.1 População estudada	23
4.2 Análise qualitativa	24
4.3 Análise quantitativa	26
5 DISCUSSÃO	
5.1 A relação Odontologia x Cardiopatia Reumática	31
5.2 Resultados	33
5.3 Considerações finais	37
6 CONCLUSÕES	39
7 ANEXOS	40
8 REFERÊNCIAS	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FR	Febre Reumática
SGA	Streptococcus β hemolítico do grupo A de Lancefield
CR	Cardiopatia Reumática
PGB	Penicilina G Benzatina
UI	Unidades Internacionais
IM	Intramuscular
EI	Endocardite Infecciosa
ETNB	Endocardite trombótica não-bacteriana
AHA	American Heart Association
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
GE	Grupo de Estudo
GC	Grupo Controle
VMGA II S	Viability Medium Göteborg Anaerobically prepared and sterilized
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
UFC	Unidade Formadora de Colônia
ATCC	American Type Culture Collection
CIM ₅₀	Concentração Inibitória Mínima para 50% dos microrganismos

CIM₉₀

Concentração Inibitória Mínima para

90% dos microorganismos

χ^2

Teste do Qui-quadrado

LISTAS DE FIGURAS, TABELAS E GRÁFICOS

Figuras

Figura 1 – Meio de transporte VMGA II S	pág.11
Figura 2 – Diluições a partir do meio de transporte	pág.12
Figura 3 – Fluxograma da coleta e plantio primário das amostras de saliva	pág.13
Figura 4 – Teste de fluorescência positivo	pág.19
Figura 5 – Fotografia da Fita Etest na cepa <i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	pág.21

Tabelas

Tabela 1 – Distribuição da população estudada por gênero	pág.23
Tabela 2 – Variação da idade nos grupos estudados	pág.23
Tabela 3 – Tipos de cardiopatias reumáticas presentes	pág.24
Tabela 4 – Número e tipo de próteses valvares presentes	pág.24
Tabela 5 – Culturas positivas para <i>S. sanguinis</i> , <i>S. oralis</i> e outras espécies de <i>Streptococcus</i>	pág.25
Tabela 6 – CIM ₅₀ e CIM ₉₀ para os <i>S. sanguinis</i> (µg/mL)	pág.28

Tabela 7 – Distribuição dos pacientes quanto aos níveis de sensibilidade à penicilina G dos <i>S. sanguinis</i>	pág.28
Tabela 8 – CIM ₅₀ e CIM ₉₀ para os <i>S. oralis</i> (µg/mL)	pág.29
Tabela 9 – Distribuição dos pacientes quanto aos níveis de sensibilidade à penicilina G dos <i>S. oralis</i>	pág.29

Gráficos

Gráfico 1 – Distribuição dos valores das UFC/mL de saliva em pacientes colonizados por <i>S. sanguinis</i>	pág.26
Gráfico 2 – Distribuição dos valores das UFC/mL de saliva em pacientes colonizados por <i>S. oralis</i>	pág.27
Gráfico 3 – Distribuição dos valores das CIM em µg/mL para a espécie <i>S. sanguinis</i>	pág.28
Gráfico 4 – Distribuição dos valores das CIM em µg/mL para a espécie <i>S. oralis</i>	pág.30

RESUMO

A Febre Reumática, complicação tardia de uma infecção de orofaringe causada pelo *Streptococcus pyogenes* (estreptococo β -hemolítico do grupo A de Lancefield), tem como consequência a Cardiopatia Reumática, explicada pelo mimetismo molecular entre proteínas cardíacas humanas e a associação de proteínas e carboidratos da membrana do *S. pyogenes*. A profilaxia secundária com a PGB 1.200.000 UI IM propõe-se a evitar novos surtos, sendo administrada em intervalos de vinte e um dias nos países com alto índice de estreptococcia.

A lesão valvar predispõe à Endocardite Infecciosa, que resulta de bacteriemias causadas por focos infecciosos de origem bucal em cerca de 40% dos casos. Os *Streptococcus Viridans* constituem o grupo mais comumente encontrado nas Endocardites Infecciosas, em especial os *Streptococcus sanguinis* e *Streptococcus oralis*. O efeito do uso crônico da PGB não foi estudado com especificidade para essa microbiota.

Assim, foi avaliada, qualitativa e quantitativamente, a microbiota bucal de 100 pacientes, aos 7 e 21 dias, após profilaxia secundária para a Febre Reumática com a PGB 1.200.000 UI IM e comparada com a de 100 pacientes portadores de doença arterial coronariana sem antecedentes de Febre Reumática. As espécies avaliadas foram divididas em *S. sanguinis*, *S. oralis* e outras espécies de *Streptococcus Viridans*.

Foram coletadas amostras de saliva pela mastigação de goma de parafina e transportadas em meio VMGA II S. As culturas foram semeadas em ágar Columbia CNA com 5% de sangue desfibrinado puro de carneiro com acréscimo de penicilina G. e incubadas a 35°C em estufa de CO₂ por 72 horas. As colônias sugestivas de *Streptococcus* foram submetidas a testes bioquímicos para confirmação de gênero e espécie. A concentração inibitória mínima foi determinada pelo método Etest e interpretada segundo os padrões do *Clinical and Laboratory Standards Institute*.

Não houve diferença quanto à presença do *S. sanguinis* nos grupos estudados (P=0,40). O *S. oralis* prevaleceu aos 7 dias de PGB em relação ao grupo controle (P=0,01). Quanto à identificação de outras espécies, houve maior número de cepas nos pacientes do grupo controle quando comparados aos do grupo de estudo aos 7 e 21 dias de PGB (P<0,001).

Os números de UFC/ml de *S. sanguinis*, *S. oralis* e de outras espécies foram comparados entre os grupos e não houve diferença entre eles (P=0,96; P=0,60 e P=0,77; respectivamente). Quanto às CIM do *S. sanguinis* e do *S. oralis*, não houve diferença entre os grupos (P=0,79 e P=0,13; respectivamente).

Todos os testes estatísticos foram realizados em um nível de significância de 5%.

Concluiu-se que o *S. oralis* prevaleceu aos 7 dias de PGB 1.200.000 UI IM; os *Streptococcus* Viridans e outras espécies prevaleceram no grupo controle; o número de UFC/mL de saliva não diferiu nos grupos estudados, a susceptibilidade dos *S. sanguinis* e *S. oralis* à penicilina G não foi alterada

pela ação da PGB 1.200.000 UI IM a cada 21 dias e, por fim, a PGB não provocou reações de hipersensibilidade em nenhum paciente do estudo.

SUMMARY

Rheumatic fever is the result of a *Streptococcus pyogenes* (group A β -hemolytic *Streptococcus*) infection of the upper respiratory tract. Rheumatic heart disease is a rheumatic fever consequence and is elucidated by the molecular mimicry between human cardiac proteins and group A streptococcal proteins and carbohydrates association. The secondary prophylaxis with 1,200,000 U BPG every three weeks is used for prevention of recurrent rheumatic fever in developing countries.

Valvar defects are a risk for infective endocarditis which is resulted of bacteriemia caused for oral infectious focuses in 40% of cases. Viridans streptococci are the predominant group recovered in infective endocarditis, specially *Streptococcus sanguinis* and *Streptococcus oralis*. The effect of chronic BPG wasn't studied with specificity to these pathogens yet.

Therefore, the oral microbiota was evaluated, qualitatively and quantitatively, at 7 and 21 days after secondary prophylaxis with BPG to rheumatic fever (study group), in a hundred patients and in comparison to another hundred patients with coronary heart disease who never acquired rheumatic fever (control group). The species evaluated were divided in *S. sanguinis*, *S. oralis* and another *Streptococcus* species.

It was collected samples of chewing-stimulated saliva (1ml) and transported in VMGA II S medium. The samples were cultured in pure and with penicillin G 5% sheep blood Columbia ágar (CNA), incubated for 72 hours in an

atmosphere containing 5% CO₂ at 35°C. The strains that were suggestive to Streptococcus were identified by biochemical tests to confirm bacteria species and genus. Minimal inhibitory concentration was determined by Etest method and interpreted in accordance to Clinical and Laboratory Standards Institute.

The results showed that there was no difference in *S. sanguinis* presence in all groups ($P=0.40$). *S. oralis* prevailed in 7 days BPG group in comparison to control group ($P=0.01$). The control group showed the highest number of others species in comparison to 7 and 21 days BPG ($P<0.001$).

CFU/ml numbers of *S. sanguinis*, *S. oralis* and other species strains were compared in 7 and 21 days BPG to control group and there was no difference among themselves ($P=0.96$, $P=0.60$ and $P=0.77$; respectively). There was no difference in *S. sanguinis* and *S. oralis* MICs among the study and control groups ($P=0.79$ and $P=0.13$).

All statistic tests were done at 5% significance level.

It was concluded that *S. oralis* prevailed in 7 days BPG group in comparison to control group; other species of Viridans streptococci prevailed in control group. The number of CFU/mL did not differ in both studied groups; the penicillin susceptibility of *S. sanguinis* and *S. oralis* did not change by BPG every three weeks and, by the end, it was not observed hypersensitivity reactions to penicillin in neither of the patients of this study.

1. INTRODUÇÃO

A febre reumática (FR), também designada doença reumática, é uma complicação tardia não-suprativa de uma infecção de orofaringe que atinge indivíduos hipersensíveis aos antígenos do *Streptococcus pyogenes* (SGA) e atinge 3-4 % das crianças não tratadas¹⁻⁶. A mais importante consequência da FR é a cardiopatia reumática (CR), que surge cerca de 8 a 12 semanas após a atividade reumática em 30 % das crianças acometidas por FR^{2, 5, 7-15}.

Atualmente, a CR é um problema para os sistemas de saúde pública do Brasil. A CR é considerada doença onerosa para o sistema previdenciário brasileiro, pois limita o trabalho de uma parcela da população economicamente ativa e ocasiona múltiplas internações hospitalares e cirurgias, correspondendo a aproximadamente 30 % das cirurgias cardíacas realizadas no país^{5, 10-15}.

O mimetismo molecular, entre antígenos do SGA e proteínas humanas, é considerado o mecanismo responsável para a associação da infecção estreptocócica e as reações auto-ímmunes observadas na patogênese da FR e CR. Epítomos da proteína M e do carboidrato N-acetilglicosamina, presentes na parede celular do SGA, produzem anticorpos que identificam miosina, tropomiosina, vimentina e laminina como auto-antígenos cardíacos, conduzindo o endotélio valvar à inflamação, infiltração celular, deixando cicatrizes valvares. O endotélio valvar ativado faz aumentar expressivamente a quantidade de moléculas de adesão, que facilitam a ligação de linfócitos T

CD4 + e, conseqüentemente, estes extravasam para o interior das valvas, levando ao ciclo de cicatrização, neovascularização e infiltração de linfócitos^{8, 11-16}.

A profilaxia primária é o mais importante aspecto na abordagem de saúde pública sobre a FR. Baseia-se no diagnóstico precoce de infecções de orofaringe pelo SGA e no tratamento com antibióticos bactericidas. O antibiótico de eleição para erradicar o SGA no trato respiratório superior é a penicilina G benzatina (PGB) em dose única de 600.000 unidades internacionais (UI) via intramuscular (IM) para crianças de até 27 kg e 1.200.000 UI IM para pacientes acima desse peso^{2-6, 10, 15, 17-19}.

A profilaxia secundária, que se propõe a evitar novos surtos, baseia-se no uso continuado de medicamentos bactericidas ou bacteriostáticos com o intuito de evitarem-se novas infecções estreptocócicas. O regime de escolha sugerido para países com altos índices de FR aguda, como o Brasil, é a PGB nas mesmas doses preconizadas acima a cada 21 dias^{2, 7, 15, 20-25}.

O portador de CR faz parte do grupo de pacientes com risco de adquirir endocardite infecciosa (EI). A EI é uma infecção potencialmente fatal que resulta, principalmente, da interação de um patógeno presente na corrente sanguínea com a matriz de moléculas e plaquetas de uma endocardite trombótica não bacteriana (ETNB) depositadas em válvulas cardíacas danificadas, em defeitos congênitos ou em áreas submetidas a correções cirúrgicas do endocárdio^{2, 4, 15, 26-31}.

A bacteriemia pode ocorrer espontaneamente devido a traumas na superfície mucosa ou pode advir de um foco infeccioso, como uma infecção

do trato geniturinário, uma pneumonia ou um abscesso dento-alveolar. Atividades diárias de higiene oral, assim como procedimentos e instrumentações cirúrgicas ou dentais envolvendo mucosa ou tecido contaminado, causam bacteriemia transitória. Já em 1885, *Sir William Osler* havia identificado a associação entre EI e bacteriemia advinda de procedimentos cirúrgicos^{30, 32-40}.

Os *Streptococcus Viridans* constituem o grupo mais comumente encontrado nas EI, em especial os *Streptococcus sanguinis* e *Streptococcus oralis*. Estes *Streptococcus* possuem uma proteína FimA, que é um antígeno receptor de lipoproteínas e funciona como a principal adesina da matriz de plaqueta-fibrina presente na ETNB^{30, 36, 41}.

Há pouco mais de meio século, o criador dos critérios para doença reumática, Thomas Duckett Jones (1899-1954), liderou o comitê da American Heart Association (AHA), que publicou a primeira diretriz para a prevenção da EI, que recomendava a associação de 600.000 UI de penicilina aquosa com 600.000 UI de penicilina procaína IM 30 minutos antes do procedimento odontológico^{6, 30, 42}.

Recentemente³⁰ a AHA retirou a recomendação da profilaxia antibiótica a pacientes com cardiopatia reumática sem história de EI prévia ou a portadores de prótese valvar cardíaca, mesmo para se submeterem a procedimentos associados a sangramentos de tecidos duros e moles, como a cirurgia periodontal, a raspagem subgingival e a limpeza periodontal^{30, 34}. Entretanto o regime profilático padrão com uma simples dose de 2 g de amoxicilina via oral uma hora antes do início da realização de qualquer um

destes procedimentos ainda é utilizado por dentistas e cardiologistas em países como o Brasil, haja vista o alto índice de estreptococcia ao qual a população desses países está submetida^{27-29, 33, 35-37, 39}.

Apesar de o regime de profilaxia secundária para a FR a cada 3 semanas ser amplamente recomendado^{2, 5, 7, 21-25}; encontramos somente um estudo que avaliou a sua influência sobre os *Streptococcus* α -hemolíticos na cavidade oral de crianças, com o objetivo de determinar o desenvolvimento de resistência a antimicrobianos, porém sem especificidade para os *S. sanguinis* e *S. oralis*, responsáveis por cerca de 40% das EI⁴³.

Vários fatores que constituem o processo cíclico em torno do combate à febre reumática e seus desdobramentos, especialmente sob a forma de lesão valvar cardíaca e endocardite infecciosa, persistem como condições e questionamentos ainda não elucidados.

A inexistência, na literatura, de investigações voltadas à avaliação da microbiota bucal, com o objetivo de verificar se o uso crônico da PGB 1.200.000 UI IM de 21 em 21 dias protegeria os pacientes portadores da cardiopatia reumática contra os principais agentes etiológicos da EI, estimulou o nosso estudo para identificar, quantificar e testar a susceptibilidade à penicilina dos *S. sanguinis* e *S. oralis* do grupo Viridans.

2. OBJETIVO

Avaliar a influência da penicilina sobre a microbiota bucal, com ênfase nos *S. sanguinis* e *S. oralis* em culturas de amostras de saliva de indivíduos sob a profilaxia secundária para a febre reumática com a penicilina G benzatina 1.200.000 UI IM a cada 21 dias.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. CASUÍSTICA

Este estudo foi desenvolvido no período compreendido entre setembro de 2004, data em que a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) aprovou a concessão de auxílio à pesquisa, e maio de 2008, fim das análises microbiológicas.

Os indivíduos que preencheram os critérios de inclusão foram convidados a participar do estudo e houve um esclarecimento verbal prévio em relação aos objetivos, ao sigilo quanto às informações coletadas e também quanto ao risco inerente sobre os procedimentos que seriam realizados. Os pacientes incluídos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, Anexo A, aprovado pela Comissão de Ética e Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) em conjunto com o protocolo de pesquisa em sessão de 25 de novembro de 2004.

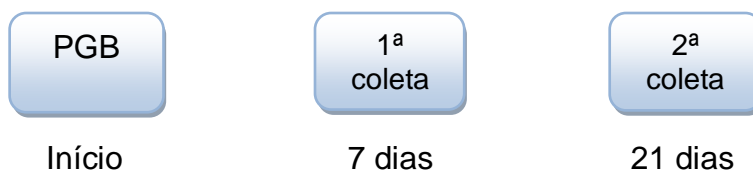
Para o desenvolvimento deste estudo caso-controle foram selecionados os primeiros 200 pacientes que compareceram às suas consultas de acompanhamento, por amostragem casual e contínua, constituindo-se dois grupos distintos:

Grupo de Estudo (GE) – Cem pacientes com história de FR, sob regime de profilaxia secundária com a PGB 1.200.000 UI IM a cada 3 semanas, acompanhados pela Liga de Combate à Febre Reumática do HCFMUSP.

Os pacientes que participaram desse grupo atenderam aos seguintes critérios de seleção:

- a) Estar sob regime de profilaxia secundária, com a PGB 1.200.000 UI intramuscular há pelo menos 6 meses e em uso regular;
- b) Idade entre 10 e 65 anos;
- c) Ausência de atividade reumática;
- d) Ausência de infecção aguda;
- e) Não estar sob antibioticoterapia para fins terapêuticos;
- f) Ausência de *Diabetes mellitus* insulino dependente.

Esses pacientes foram informados de que seria necessário comparecerem em três ocasiões distintas: para tomar a PGB na data que deveriam tomá-la, para coletar a primeira amostra de saliva e para coletar a segunda amostra de saliva, momento em que poderiam optar por tomar a PGB, ou não, na Liga de Combate à Febre Reumática do HCFMUSP. As PGB utilizadas foram frascos-ampola de 4 mL (Eurofarma Laboratórios Ltda.) e foram aplicadas por um auxiliar de enfermagem do HCFMUSP.

Desenho do GE:

Grupo Controle (GC) – Cem pacientes matriculados na rotina ambulatorial da Unidade Clínica de Coronariopatia Crônica do Instituto do Coração do HCFMUSP.

Foram critérios para a seleção dos pacientes que constituíram o grupo controle:

- a) Comprovação de doença arterial coronariana pela cinecoronariografia;
- b) Idade entre 10 e 65 anos;
- c) Ausência de FR;
- d) Ausência de qualquer tipo de defeito valvar ou qualquer tipo de cardiopatia que seja de risco para a EI;
- e) Ausência de infecção aguda;
- f) Não estar sob antibióticoterapia para fins terapêuticos;
- g) Não ter sofrido síndrome coronariana aguda há menos de 3 meses;
- h) Não ter sofrido acidente vascular encefálico isquêmico há menos de 3 meses;
- i) Ausência de *Diabetes Mellitus* insulino dependente.

Esses pacientes não poderiam ter sofrido um acidente vascular cerebral isquêmico ou uma síndrome coronariana aguda há menos de três meses, o que poderia alterar a microbiota bucal^{27, 29, 30, 34, 44, 45}.

Todos os pacientes tiveram a cavidade oral inspecionada para atender aos critérios de inclusão, que determinavam a ausência de infecção aguda sistêmica ou oral.

Tamanho amostral

Admite-se que, dos casos de EI, 40% são causados pelos *S. sanguinis* e *S. oralis* do grupo Viridans^{33, 41}. Assim, supondo que, neste estudo, todos os pacientes tivessem diagnóstico estabelecido de EI, seria observada uma porcentagem entre 30% e 50% dos casos com os *S. sanguinis* e *S. oralis* como agentes etiológicos. Assim, para obter um intervalo de confiança para esta proporção de 95%, são necessários, no mínimo, 93 casos. Para esse cálculo utilizamos a fórmula abaixo⁴⁶:

$$n=(z \text{ alfa}/2/e)^2 \cdot p' \cdot (1-p')$$

Consideramos que a proporção da presença de *Streptococcus* na amostra a ser avaliada estaria próxima de 40% e fixamos os valores de alfa e e em: alfa = 0,05 e e = 0,10 , de tal forma que⁴⁶:

$$P(0,30 \leq p \leq 0,50) = 0,95$$

Para a obtenção de uma estimativa da proporção de presença dos *Streptococcus* na amostra e seu respectivo intervalo de confiança a 95% tivemos⁴⁶:

$$n = (1,96/0,10)^2 \cdot (0,40 \cdot 0,60) = 92,1 \text{ casos.}$$

3.2. MÉTODOS

Amostras clínicas e intervalos de coleta

As análises quantitativas e qualitativas dos *Streptococcus Viridans* presentes na cavidade oral foram realizadas por meio de culturas de amostras de saliva.

As coletas de amostras dos pacientes do GE foram realizadas no sétimo e no vigésimo primeiro dia após a dose profilática de PGB. Nos pacientes do GC, foi realizada uma única coleta.

A coleta de saliva através da mastigação de uma goma de parafina é descrita como método de referência quando comparada à utilização de kits industrializados disponíveis comercialmente⁴⁷⁻⁵⁰.

Coleta de saliva

As amostras de saliva foram obtidas por estimulação através da mastigação, durante 3 a 5 minutos, de um bloco de parafina inodora, insípida e incolor, resultando no volume aproximado de 1 mL⁴⁷⁻⁵⁰. A amostra de saliva foi coletada em um frasco de plástico descartável de 80 mL com tampa rosqueada e, a seguir, com uma pipeta Pasteur, foi transferido 1 mL da amostra para um frasco com 5,7 mL de meio de transporte "Viability

Medium Göteborg Anaerobically prepared and Sterilized” (VMGA II S, Figura 1)⁵⁰. Os frascos de meio de transporte com as amostras foram transportados em contato com gelo reciclável, em caixa de isopor e processados em até 12 horas após a coleta.



Figura 1. Meio de transporte VMGA II S

Os processamentos das trezentas amostras obtidas dos dois grupos estudados foram realizados no Setor de Microbiologia do Fleury Medicina Diagnóstica S/A – Unidade Jabaquara, São Paulo (capital).

Cultivo das amostras de saliva

O plantio primário foi realizado em três meios distintos, utilizando como base o ágar Columbia CNA:

- 1- Ágar Columbia CNA com 5% de sangue desfibrinado de carneiro;

2- Ágar Columbia CNA com 5% de sangue desfibrinado de carneiro acrescido de penicilina G (0,25 µg/mL de meio);

3- Ágar Columbia CNA com 5% de sangue desfibrinado de carneiro acrescido de penicilina G (0,25 µg/mL de meio) e anfotericina B (0,5 µg/mL de meio).

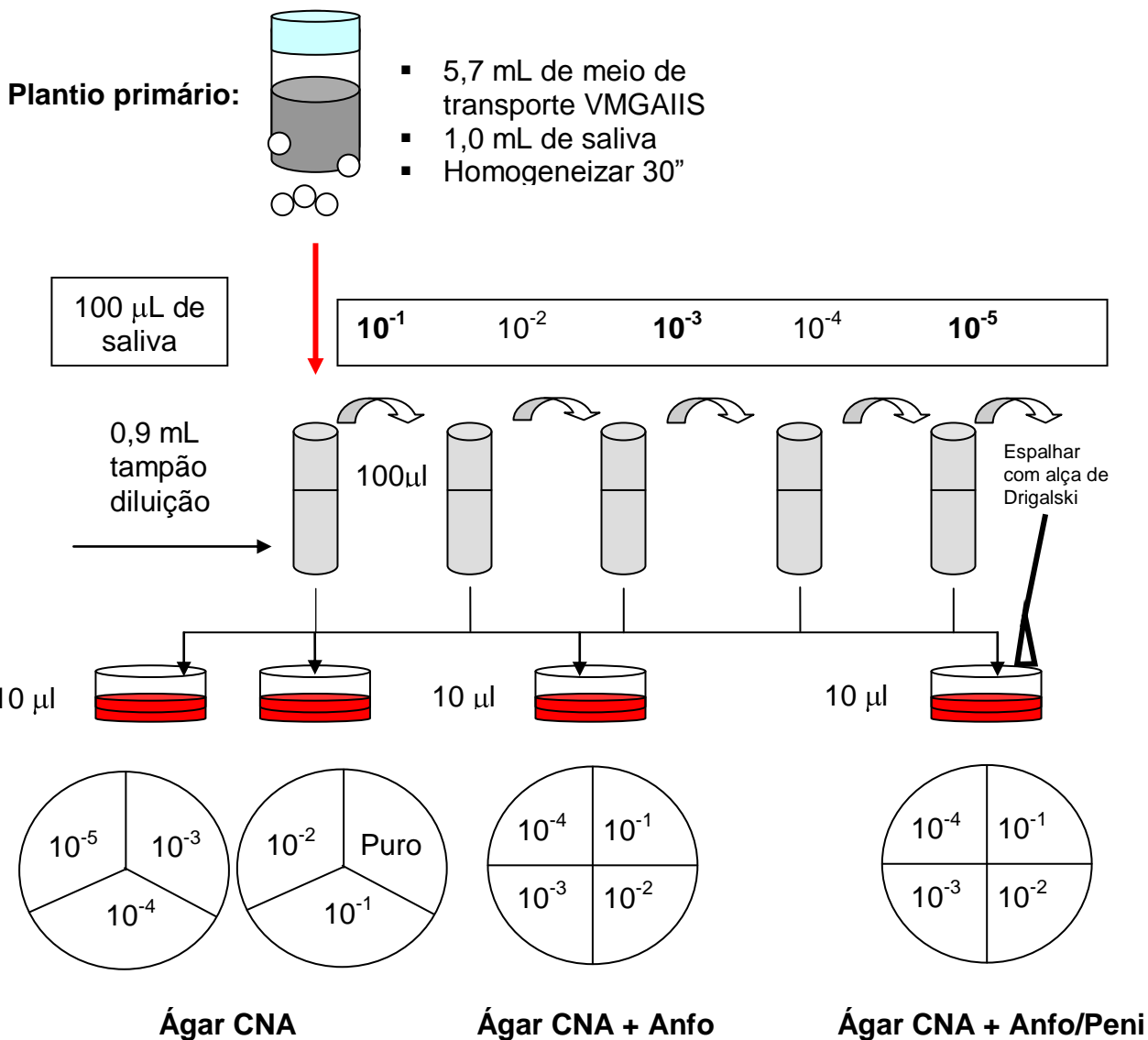
A concentração de penicilina G correspondeu ao limite inferior da sensibilidade intermediária, segundo os critérios interpretativos propostos pelo “Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI)⁵¹. O ágar CNA foi utilizado em função de sua composição, que contém sulfato de colistina e ácido nalidíxico, antimicrobianos que impedem o crescimento de bacilos e cocos gram-negativos presentes na microbiota oral^{9, 52-54}.

O meio de transporte com a amostra foi homogeneizado por cerca de 30 segundos em vórtex e, a seguir, 100 µL foram transferidos para um tubo de ensaio com 0,9 mL de salina tamponada. A suspensão obtida foi homogeneizada e, a seguir, 100 µL foram transferidos para um tubo com 0,9 mL de salina tamponada. O procedimento foi repetido até totalizar cinco diluições sucessivas. Alíquotas de 10 µL foram transferidas para os meios sólidos (Figuras 2 e 3).



Figura 2. Diluições a partir do meio de transporte

Amostra Clínica: 1mL de saliva em meio de transporte VMGAIS



Foram semeadas 4 placas:

2 placas de CNA: Puro, 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵

1 placa de CNA: 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴

1 placa de CNAAP: 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴

Figura 3. Fluxograma da coleta e plantio primário das amostras de saliva

As culturas foram incubadas a 35 °C em estufa de CO₂ (5%) por 72 horas. O número de colônias presentes na diluição com crescimento não confluyente foi aferido nas placas com e sem penicilina G. A contagem no meio com anfotericina B e penicilina foi realizada apenas caso o crescimento de leveduras impedisse a contagem no meio com apenas penicilina G⁵³. O número de unidades formadoras de colônias (UFC) presentes na saliva foi calculado com a seguinte equação:

$$\text{UFC/mL} = \text{colônias na placa} \times 6,7 \times 10^2 \times 10^n$$

Onde 6,7 é o fator para correção da diluição da amostra no meio de transporte, 10² é o fator de correção para UFC/mL, e n é o número da diluição.

Identificação das espécies de *Streptococcus*

A identificação das espécies *S. sanguinis* e *S. oralis* foi realizada, inicialmente, com o kit de identificação para *Streptococcus* API 20 Strep (Biomérieux). Porém, em várias amostras, havia superposição de espécies. Dessa forma, foram acrescentados três substratos com radicais 4-metil-umbeliferil à seqüência de provas bioquímicas: α-D-glicosidase, β-N-acetilgalactosidase e β-N-acetilglicosidase, método eficaz para identificar as espécies do subgrupo do *Streptococcus mitis* quando adicionado às demais provas bioquímicas descritas em nossa metodologia^{52, 55}. O método de

seqüenciamento genético foi descartado, apesar da excelência comprovada^{52, 56, 57}, devido à inviabilidade de recursos financeiros para custear a identificação das espécies presentes nas trezentas amostras de saliva⁵⁸.

Testes de triagem

As colônias foram examinadas inicialmente utilizando-se a microscopia pelo método de Gram e o teste da catalase⁵². Colônias de cocos gram-positivos negativas para o teste da catalase foram reisoladas em ágar sangue de carneiro a 5% para testes bioquímicos subseqüentes e testadas quanto a sua susceptibilidade à optoquina⁵⁴.

Teste da catalase

Uma massa de crescimento bacteriano equivalente a cerca de 10 colônias foi colocada em contato com uma gota de solução de peróxido de hidrogênio a 3% e, a seguir, foi avaliada a formação de bolhas. As amostras positivas para o teste da catalase (formação de bolhas) foram excluídas das análises subseqüentes. Para controle de qualidade, foram utilizadas as amostras ***Staphylococcus aureus*** ATCC (“American Type Culture Collection”) 25923 e ***Streptococcus pyogenes*** ATCC 19615, respectivamente controles positivo e negativo⁵².

Teste de sensibilidade à optoquina

Utilizando alça microbiológica estéril, uma colônia foi removida de uma cultura pura e, a seguir, espalhada cerca de 50% da superfície de uma placa de ágar hidrolisado de soja (TSA) com sangue de carneiro a 5%. A seguir foi aplicado um disco com 5 µg de optoquina no centro da área semeada. A cultura foi incubada em estufa de CO₂ por 12 a 24 horas e, em seguida, observada quanto à presença de halo de inibição. Espécimes isolados com halo inibição igual ou inferior a 13 mm foram classificados como *Streptococcus Viridans*. Em contrapartida, os com diâmetro igual ou superior a 14 mm foram excluídos do estudo por terem sido classificadas como *Streptococcus pneumoniae*. Para o controle de qualidade, foi utilizada a cepa *S. pneumoniae* ATCC 49619⁵⁴.

Testes de fermentação de carboidratos

A metabolização de carboidratos foi avaliada em um caldo infuso de coração adicionado do indicador de pH púrpura de bromocresol (16 mg/L) e o substrato na concentração final de 1%. Foram testados os seguintes carboidratos: inulina, manitol, rafinose, sorbitol e trealose. A fermentação foi detectada visualmente pela viragem do indicador de pH da cor púrpura para o amarelo. O controle de qualidade foi realizado com as cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25175 e *S. sanguinis* ATCC 10556. Foi preparada uma suspensão equivalente ao padrão 0,5 da escala de

McFarland e, a seguir, foram transferidos para cada tubo cerca de 10 µL. Os testes foram incubados por 72 horas a 35 °C⁵².

Hidrólise da arginina

Foi utilizada a base para descarboxilação de Moeller com arginina a 1%. O controle de qualidade foi realizado com as cepas *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031⁵⁴. Foi preparada uma suspensão equivalente ao padrão 0,5 da escala de McFarland e a seguir foram transferidos para o tubo teste cerca de 10 µL. Os testes foram incubados por 72 horas a 35 °C. Testes com coloração roxa foram considerados positivos⁵².

Hidrólise da esculina

Para a avaliação da hidrólise da esculina, foi utilizado o ágar hidrolisado de soja adicionado de esculina a 0,1% e citrato férrico amoniacal a 0,05%. Para controle de qualidade, foram utilizadas as cepas *Escherichia coli* ATCC 25922 e *K. pneumoniae* ATCC 13883. Foi preparada uma suspensão equivalente ao padrão 0,5 da escala de McFarland e, a seguir, foram transferidos para o tubo teste cerca de 10 µL. Os testes foram incubados por 72 horas a 35 °C. Testes com enegrecimento do meio foram considerados positivos^{52, 54}.

Produção de urease

A produção de urease foi avaliada utilizando-se o caldo Uréia R, que contém extrato de levedura 0,01%, uréia 2%, KH_2PO_4 9,1 mg/100 mL, Na_2HPO_4 9,5 mg/100 mL e vermelho de fenol 1 mg/100 mL. Para controle de qualidade, foram utilizadas as cepas *E. coli* ATCC 25922 e *K. pneumoniae* ATCC 13883. Foi preparada uma suspensão equivalente ao padrão 0,5 da escala de McFarland e, a seguir, foram transferidos para o tubo teste cerca de 10 μL . Os testes foram incubados por 24 horas a 35 °C. Testes com coloração rosa intensa foram considerados positivos^{52, 54}.

Teste de Voges-Proskauer

A produção de acetoína foi avaliada utilizando-se o meio Clark-Lubs modificado, com peptona 0,7%, glicose 0,5%, KH_2PO_4 0,5%. O reagente intensificador de cor utilizado foi α -naftol a 5% em etanol a 95% e o reagente oxidante foi KOH 40% com creatina a 0,3%. Para controle de qualidade foram utilizadas as cepas *E. cloacae* ATCC13047 e *E. coli* ATCC 11775. Foi preparada uma suspensão equivalente ao padrão 0,5 da escala de McFarland e, a seguir, foram transferidos para o tubo teste cerca de 10 μL . Os testes foram incubados por 72 horas a 35 °C. Testes com coloração vermelha foram considerados positivos⁵².

Alfa-D-Glicosidase, Beta-N-Acetilgalactosidase e Beta-N-acetilglicosidase

A atividade glicosídica foi avaliada utilizando-se substratos com radicais 4-metil-umbeliferil. As soluções de substrato foram preparadas na concentração 100 µg/mL em tampão TES 50 mM pH 7,5. O crescimento bacteriano obtido em ágar sangue de carneiro a 5% por 24 horas em estufa de CO₂ a 5%, a 35 °C foi utilizado para preparar uma suspensão equivalente ao padrão 1,0 da escala de McFarland. Os testes foram realizados misturando-se partes iguais (50 µL) de solução de substrato e suspensão bacteriana. As reações foram incubadas a 35 °C por 3 horas em ar ambiente. A leitura visual foi realizada sob luz ultravioleta (365 nm), e foram considerados positivos os testes com fluorescência superior àquela basal do substrato não inoculado⁵² (Figura 4).

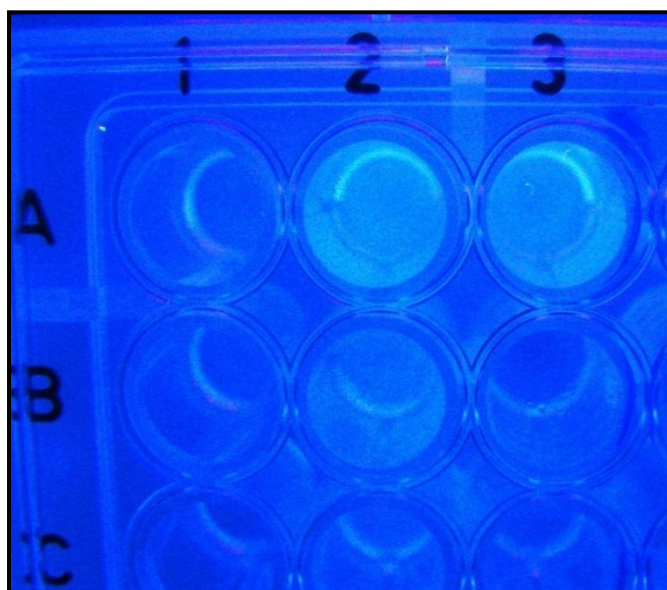


Figura 4. Teste de fluorescência positivo

Determinação da concentração inibitória mínima para penicilina G

A concentração inibitória mínima (CIM) para penicilina G das amostras de *S. sanguinis* e *S. oralis*, isoladas do ágar CNA com penicilina G, foi determinada utilizando-se fitas de Etest. Culturas puras e com 24 horas de crescimento foram utilizadas para preparar uma suspensão com turbidez equivalente ao padrão 0,5 da escala de McFarland em solução salina a 0,85%. A suspensão foi espalhada em placa de ágar Mueller-Hinton sangue de carneiro a 5% e, após a evaporação do excesso de umidade da superfície do meio, foi aplicada a fita de Etest com penicilina G. Os testes foram incubados em estufa de CO₂ a 5% a 35 °C por 20-24 horas⁵². A interpretação do resultado foi realizada de acordo com o documento M100-S18, 2008, do CLSI⁵¹. O CLSI publicou, em janeiro de 2008, essa padronização, que é a mais recente para interpretação das concentrações inibitórias mínimas de diferentes fármacos para as cepas de microrganismos de maior importância do ponto de vista epidemiológico. O intervalo de interpretação utilizado para a penicilina G, no grupo Viridans, é 0,125 µg/mL a 4 µg/mL. No entanto, se quisermos realizar a interpretação para a penicilina via oral, temos que nos basear nos critérios interpretativos para *S. pneumoniae*, espécie incluída no subgrupo do *S. mitis* após estudos de seqüenciamento genético comprovarem sua semelhança ao grupo Viridans^{51, 57}. O controle de qualidade foi realizado com a cepa *S. pneumoniae* ATCC 49619 (Figura 5).

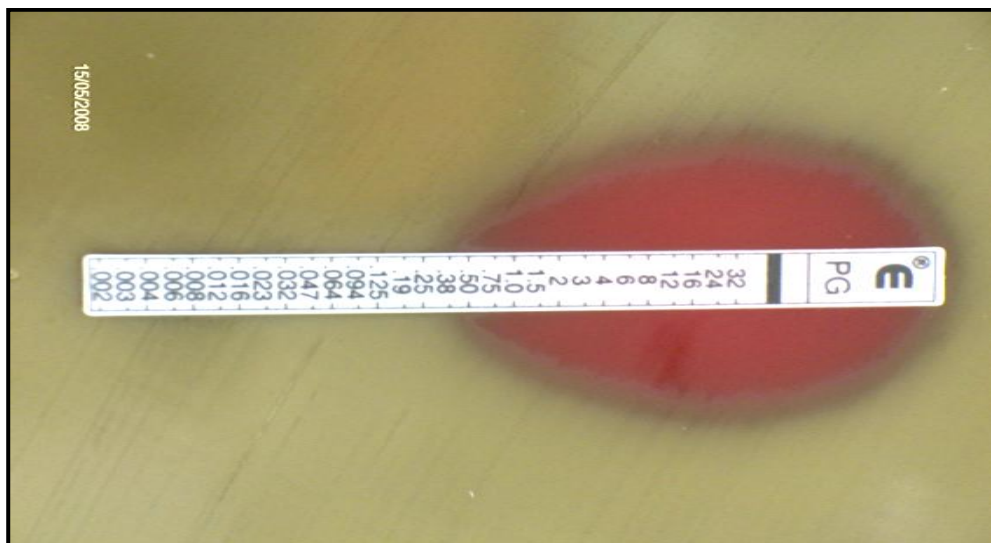


Figura 5. Fotografia da Fita Etest na cepa *S. pneumoniae* ATCC 49619

3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados estatisticamente em duas etapas da seguinte forma:

Análise descritiva

Para as variáveis quantitativas, essa análise foi realizada por meio da observação dos valores mínimos e máximos do cálculo de médias e desvios-padrão e medianas. Para as variáveis qualitativas calcularam-se as frequências absolutas e relativas^{46, 59}.

Análise comparativa

Para se testar a homogeneidade de grupos em relação às proporções, foi utilizado o teste exato de Fisher e o teste do Qui-quadrado (χ^2), que são indicados para a comparação de duas e três proporções não pareadas respectivamente⁴⁶.

Para o estudo da evolução dos GC e GE, em relação às variáveis quantitativas, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) e o teste de Kruskal-Wallis para a comparação de variáveis numéricas de três ou mais grupos^{46, 59}.

Todos os testes foram realizados admitindo-se o nível de significância de 5%⁴⁶.

4. RESULTADOS

4.1. POPULAÇÃO ESTUDADA

As características demográficas dos 200 pacientes, divididos em seus respectivos grupos, foram demonstradas nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 – Distribuição da população estudada por gênero

Gênero	Grupo Controle	Grupo de Estudo
Masculino	38	62
Feminino	62	38
TOTAL	100	100

Ao empregarmos o teste exato de Fisher, verificamos diferença entre os grupos quanto ao número de homens e mulheres ($P=0,001$)

Tabela 2 – Variação da idade nos grupos estudados

Grupo	Mínima-Máxima	Média \pm Desvio Padrão
Controle	39-65	55 \pm 6,1
Estudo	10-53	26,5 \pm 8

Os tipos de CR e próteses valvares presentes nos 100 pacientes do GE foram apresentadas nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 3 – Tipos de cardiopatias reumáticas presentes

Cardiopatía Reumática	Número de pacientes
Estenose mitral	25
Insuficiéncia mitral	54
Estenose aórtica	14
Insuficiéncia aórtica	27

Tabela 4 – Número e tipo de próteses valvares presentes

Prótese Valvar	Número de pacientes
Biológica mitral	8
Metálica mitral	2
Biológica aórtica	3
Metálica aórtica	1

4.2. ANÁLISE QUALITATIVA

As 300 amostras obtidas dos 200 pacientes foram divididas em três grupos: GC, GE – 7 dias e GE – 21 dias.

Avaliou-se, primeiramente, a presença ou ausência dos *Streptococcus* dividindo-os em três grupos: *S. sanguinis*, *S. oralis* e outras espécies (*S. mitis*, *S. cristatus*, *S. peroris*, *S. salivarius*, *S. mutans*, *S. gordonii*, *S. parasanguinis*, *S. anginosus* e *S. vestibularis*; todas pertencentes ao grupo Viridans).

Tabela 5 – Culturas positivas para *S. sanguinis*, *S. oralis* e outras espécies de *Streptococcus*

Grupos	<i>S. sanguinis</i>	<i>S. oralis</i>	Outras espécies
GC	15	82	84
GE – 7 dias ¹	9 ¹	95 ¹	61
GE – 21 dias ²	11 ²	87 ²	58

NOTA: GC – Grupo Controle

GE – Grupo de Estudo

¹Pacientes sob ação da PGB 7 dias

²Pacientes sob ação da PGB 21 dias

Na análise dos dados contidos na Tabela 5, observou-se um pequeno número de amostras em que o *S. sanguinis* cresceu e, então, ao aplicar o teste χ^2 , $P=0,40$. Porém, a análise estatística foi fragmentada através do teste exato de Fisher para confrontarmos os grupos entre si. Ao compararmos GC x GE – 7 dias, GC x GE – 21 dias e GE – 7 dias x GE – 21 dias, não houve diferença ($P=0,28$, $P=0,53$ e $P=0,81$; respectivamente).

A análise da Tabela 5 permitiu verificar um número maior de culturas positivas para o *S. oralis* no GE – 7 dias ao empregar o teste χ^2 ($P=0,01$). Por conseguinte, a análise estatística foi estratificada comparando os grupos entre si. Foi aplicado o teste exato de Fisher, mostrando diferença somente entre o GC e o GE – 7 dias ($P=0,007$), pois GC x GE – 21 dias e GE – 7 dias x GE – 21 dias não diferiram ($P=0,53$ e $P=0,81$, respectivamente).

Os dados contidos na Tabela 5 apresentam uma diferença importante entre o número de culturas positivas de outras espécies de *Streptococcus* no grupo controle em comparação aos grupos sob efeito da PGB (χ^2 , $P<0,001$). Então, aplicou-se o teste exato de Fisher para comparar os grupos

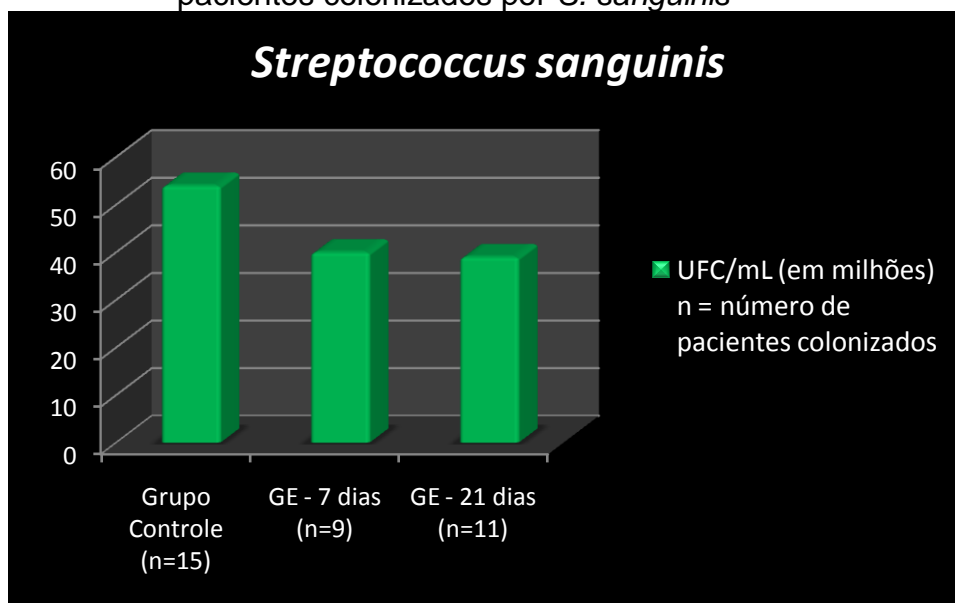
separadamente, o que permitiu verificar uma diferença entre o GC e o GE – 7 dias ($P < 0,001$) e entre o GC e GE – 21 dias ($P < 0,001$). Entre os grupos sob ação da PGB aos 7 e aos 21 dias não houve diferença ($P = 0,77$).

4.3. ANÁLISE QUANTITATIVA

As análises dos números de UFC/mL de saliva no GC, GE – 7 dias e GE – 21 dias, assim como os valores das CIM, foram subdivididas da seguinte forma: *S. sanguinis*, *S. oralis* e outras espécies de *Streptococcus*.

Os valores das UFC/mL de saliva para o *S. sanguinis* estão dispostos no Anexo B e demonstrados conforme suas medianas em conjunto com os dados da análise qualitativa para a espécie. Foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis, em que $P = 0,98$, comprovando que os grupos não diferiram.

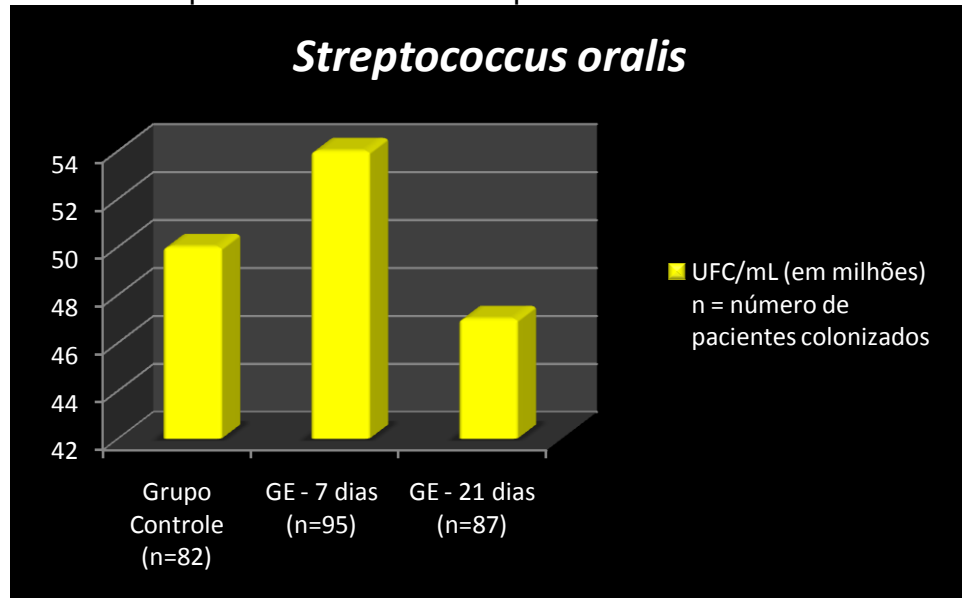
Gráfico 1. Distribuição dos valores das UFC/mL de saliva em pacientes colonizados por *S. sanguinis*



As quantidades de UFC/mL do *S. oralis* estão dispostas no Anexo C e ilustradas no Gráfico 2 em conjunto com os dados da análise qualitativa

demonstrados anteriormente para a espécie. Ao serem submetidas ao teste estatístico de Kruskal-Wallis, não houve diferença ($P=0,73$).

Gráfico 2. Distribuição dos valores das UFC/mL de saliva em pacientes colonizados por *S. oralis*



Para as outras espécies de *Streptococcus*, as quantidades de UFC/mL de saliva foram dispostas no Anexo D. O teste ANOVA (análise de variância) demonstrou ausência de diferença ($P=0,77$).

Quanto à CIM do *S. sanguinis*, realizou-se o teste de Kruskal-Wallis e não houve diferença ($P=0,79$). A distribuição dos valores está disposta no Anexo E, e ilustrada no Gráfico 3. A Tabela 6 apresenta os dados em forma de CIM₅₀ e CIM₉₀, o que demonstra a concentração mínima para erradicar, respectivamente, 90% e 50% dos *S. sanguinis* cultivados. A Tabela 7 mostra a distribuição dos grupos quanto à sensibilidade à penicilina.

Tabela 6 – CIM₅₀ e CIM₉₀ para os *S. sanguinis* (µg/mL)

	Grupo Controle	Grupo de Estudo 7 dias ¹	Grupo de Estudo 21 dias ²
CIM 50	0,125	0,250	0,190
CIM 90	0,750	0,500	0,380

NOTA: CIM – Concentração inibitória mínima

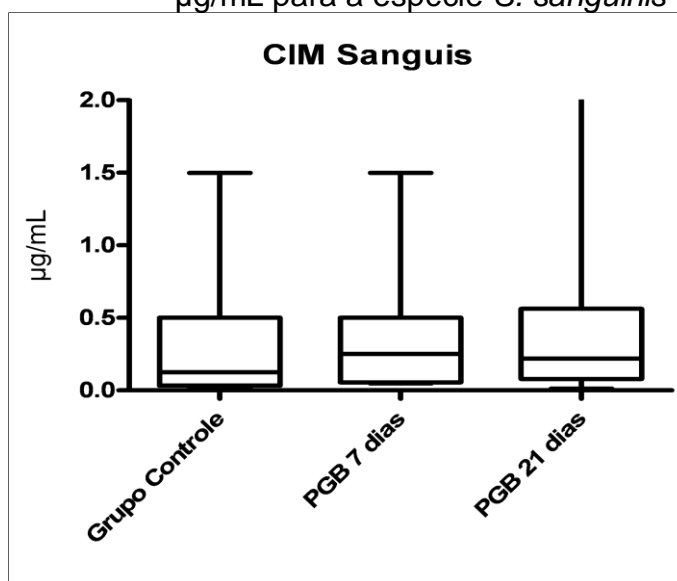
¹Pacientes sob ação da PGB 7 dias

²Pacientes sob ação da PGB 21 dias

Tabela 7 – Distribuição dos pacientes quanto aos níveis de sensibilidade à penicilina G dos *S. sanguinis*

	Grupo Controle	Grupo de Estudo 7 dias	Grupo de Estudo 21 dias
Sensível	53,3% (8/15)	33,3% (3/9)	45,5% (5/11)
Resistência intermediária	46,7% (7/15)	66,7% (6/9)	45,5% (5/11)
Resistência de alto nível	-	-	9% (1/11)

NOTA: PGB – Penicilina G benzatina

Gráfico 3. Distribuição dos valores das CIM em µg/mL para a espécie *S. sanguinis*

Os valores obtidos das CIM do *S. oralis* foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis e não houve diferença ($P=0,13$). A distribuição dos valores está disposta no Anexo F e ilustrada no Gráfico 4. A Tabela 8 apresenta a CIM₅₀ e CIM₉₀ para os *S. oralis* cultivados e a Tabela 9 a distribuição dos grupos quanto à sensibilidade à penicilina.

Tabela 8 – CIM₅₀ e CIM₉₀ para os *S. oralis* (µg/mL)

	Grupo Controle	Grupo de Estudo 7 dias¹	Grupo de Estudo 21 dias²
CIM 50	0,094	0,25	0,25
CIM 90	1,5	1,0	1,0

NOTA: CIM – Concentração inibitória mínima

¹Pacientes sob ação da PGB 7 dias

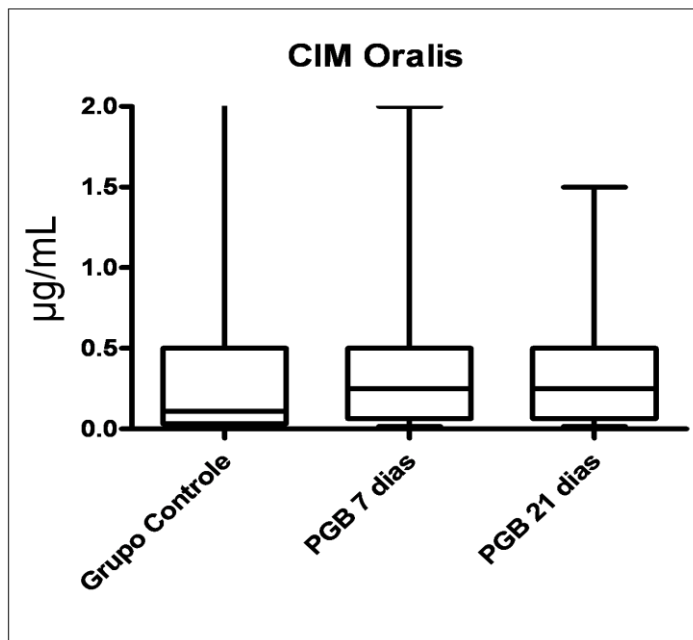
²Pacientes sob ação da PGB 21 dias

Tabela 9 – Distribuição dos pacientes quanto aos níveis de sensibilidade à penicilina G dos *S. oralis*

	Grupo Controle	Grupo de Estudo 7 dias	Grupo de Estudo 21 dias
Sensível	56,1% (46/82)	41,1% (39/95)	44,8% (39/87)
Resistência intermediária	37,8% (31/82)	58,9% (56/95)	55,2% (48/87)
Resistência de alto nível	6,1% (5/82)	-	-

NOTA: PGB – Penicilina G benzatina

Gráfico 4. Distribuição dos valores das CIM em $\mu\text{g/mL}$ para a espécie *S. oralis*



5. DISCUSSÃO

5.1. A RELAÇÃO ODONTOLOGIA X CARDIOPATIA REUMÁTICA

Revisando a literatura e confrontando o regime de profilaxia secundária para a FR com a PGB 1.200.000 UI IM a cada três semanas contra quatro semanas, concluiu-se que, em países onde o risco para a FR é baixo, devem-se seguir as recomendações da AHA e da Organização Mundial de Saúde e continuar com o regime de administração da PGB mensal; porém, em países onde existe um alto risco para a FR, a adoção do regime a cada três semanas é mandatória, haja vista o alto índice de estreptococcia a que esses indivíduos encontram-se expostos. A duração do regime de profilaxia é um assunto controverso, pois não existem recomendações baseadas em evidências científicas. No Brasil, em geral, quando se tem FR sem cardite, a profilaxia tem duração de cinco anos, ou até os 18 anos de idade; na presença de cardite sem seqüela valvar ou com mínima seqüela, cerca de dez anos, ou até os 25 anos de idade; e, com seqüela valvar, a profilaxia deve ser mantida por toda a vida^{2, 4, 5, 7, 10, 21, 23-25}.

O regime de profilaxia secundária para a FR com a PGB é direcionado para erradicar o SGA do trato respiratório superior. Porém, a influência da PGB sobre os *S. sanguinis* e *S. oralis*, maiores causadoras da EI, não foi verificada³³. Recentemente foi publicado um estudo no qual foi avaliado o efeito da PGB crônica para profilaxia secundária da FR em crianças na

susceptibilidade do grupo Viridans a alguns tipos de antibióticos, porém com uma casuística inexpressiva⁴³.

Os pacientes portadores da CR, até o último *Guidelines* da AHA³⁰, deveriam tomar uma dose antibiótica profilática antes de procedimentos capazes de causar bacteremias realizados no trato geniturinário, respiratório ou estomatognático^{27-29, 33, 35-37, 39}. Apesar de restrições à profilaxia antibiótica para EI terem sido sugeridas, segundo Ito³⁶, cada país tem que avaliar o custo- benefício segundo sua própria experiência com a doença.

Atividades diárias envolvendo higiene oral e alimentação, segundo alguns estudos, respondem por mais de cinco mil minutos de bacteremia a cada mês^{30, 34, 35, 60}, demonstrando que o risco de EI não ocorre apenas nos procedimentos cirúrgicos odontológicos.

Alguns estudos sugerem o aumento de cepas de *Streptococcus* Viridans resistentes a antibióticos e, com isso, o surgimento de falha nos regimes de profilaxia antibiótica para a EI, mas as populações avaliadas não compreendiam com especificidade os pacientes portadores da CR sob profilaxia secundária da FR com PGB^{33, 43, 61-65}. Nosso estudo qualificou, quantificou e mensurou, através das CIMs, a susceptibilidade das cepas bacterianas pesquisadas à penicilina G.

5.2. RESULTADOS

A caracterização da casuística demonstrou a prevalência do sexo feminino no grupo de estudo (62/100) e do sexo masculino no grupo controle (62/100). A média de idade do grupo de estudo foi aproximadamente a metade da do grupo controle, ($26,5 \pm 8$) versus (55 ± 6) respectivamente. Devido à captação dos pacientes de forma aleatória e contínua, houve uma heterogeneidade em relação ao sexo e à idade, explicada pela prevalência da FR por mulheres jovens⁶⁶ e da doença arterial coronariana por homens de meia idade⁶⁷. Do ponto de vista estatístico, a diferença entre os grupos quanto ao sexo poderia representar um viés para efeito de comparação, porém um levantamento epidemiológico em saúde bucal realizado pelo DATASUS, em 1996, mostra que não há diferença dos índices de dentes cariados, perdidos e obturados entre os sexos masculino e feminino em todas as unidades da federação do Brasil⁶⁸. A diferença entre as médias das idades também não foi considerada um viés. A existência de vastos estudos em torno microbiota da cavidade oral e faringe mostram que a colonização do *S. sanguinis* e *S. oralis* no biofilme oral inicia-se a partir da infância e modifica-se somente em razão do desequilíbrio na microbiota bucal, ocorrido na vigência das infecções periodontais^{41, 55, 69, 70}, consideradas como fator de exclusão em nosso estudo.

Os tipos de cardiopatias reumáticas presentes foram registrados com o objetivo de caracterizar o grupo de estudo. A insuficiência mitral, segundo a literatura, é a valvopatia mais prevalente na cardiopatia reumática¹¹⁻¹⁵.

Nossos resultados corroboram esse conceito, pois essa valvopatia prevaleceu em 54% dos pacientes do grupo de estudo.

Os *S. sanguinis* e *S. oralis* são comensais habituais da cavidade oral presentes na formação inicial da placa bacteriana dentária, representando cerca de 80% dos *Streptococcus* desta fase^{41, 69-71}. A PGB 1.200.000 UI IM exerce ação bactericida sobre os *Streptococcus* sensíveis em fase de multiplicação ativa⁷², o que, hipoteticamente, determinaria uma diminuição desses microrganismos na cavidade oral dos pacientes do GE.

O *S. sanguinis* foi identificado em todos os grupos, entretanto em um pequeno número de pacientes, corroborando com o único estudo que encontramos em pacientes sob profilaxia para a FR com a PGB 1.200.000 UI⁴³. Sua presença no GC foi comparada ao GE – 7 dias e ao GE – 21 dias, não havendo diferença ($P=0,40$). Isso demonstrou que a PGB não interferiu no crescimento da espécie. O pequeno número de amostras em que o *S. sanguinis* cresceu difere da literatura em dois estudos^{69, 70}. Vale lembrar que há uma grande dificuldade para realizar o isolamento das UFC morfológicamente dentro das diluições das amostras semeadas nos meios de cultura para submetê-las aos testes bioquímicos que comprovam a qual espécie a cepa isolada pertence. Além disso, esses estudos utilizaram a metodologia clássica para identificação de *Streptococcus* através de kits comerciais de identificação aliados aos testes padrões de triagem para o gênero. Porém, em nosso estudo, foi adotada a metodologia em que Ruoff et al.⁵⁵ estabelecem a realização de testes bioquímicos com adição de três substratos fluorogênicos para a correta identificação das espécies do gênero

Streptococcus sem a superposição de espécies, como ocorre na utilização desses kits comerciais.

O *S. oralis* foi identificado em todos os grupos de pacientes, e, na comparação entre eles, houve maior presença deste microrganismo no GE – 7 dias quando comparada ao GC ($P=0,007$). A coleta da saliva do GE – 7 dias situa-se no período que representa a maior concentração do fármaco no soro¹⁸. Isso evidencia a não influência da PGB no microrganismo mais prevalente na placa bacteriana, segundo a literatura^{58, 69, 70, 73}.

Na análise da identificação de outras espécies, houve uma maior presença destas no GC em relação aos pacientes que estavam sob efeito da PGB ($P<0,001$), evidenciando o efeito deste fármaco sobre a microbiota bucal presente no grupo tratado. Comparando-se o GC ao GE – 7 dias e ao GE – 21 dias, há uma maior presença de outras espécies no GC ($P<0,001$, $P<0,001$, respectivamente). Um estudo recentemente publicado comparou a susceptibilidade à penicilina do grupo Viridans entre uma pequena população de crianças sob profilaxia secundária para FR com a PGB e crianças saudáveis. O número de espécies identificadas não diferiu entre os dois grupos estudados, porém a casuística foi inexpressiva para inferir conclusões sólidas, segundo os próprios autores⁴³.

Os números das UFC/mL de saliva de *S. sanguinis*, de *S. oralis* e de outras espécies de *Streptococcus* foram comparados entre GC, GE – 7 dias e GE – 21 dias, e não houve diferença estatística entre eles ($P=0,98$; $P=0,73$ e $P=0,77$, respectivamente), o que corrobora com a literatura encontrada³³.

Quanto às CIM do *S. sanguinis* e do *S. oralis*, não houve diferença estatística entre os grupos ($P=0,79$ e $P=0,13$, respectivamente). Ao observarmos as CIM₉₀ do *S. sanguinis* e *S. oralis* (Tabelas 6 e 8), verificamos a ausência de diferença das CIMs nas duas espécies, no GC, GE – 7 dias e GE – 21 dias. Os critérios interpretativos para os testes de sensibilidade dilucionais são baseados na técnica da microdiluição, na qual as concentrações testadas variam como uma progressão geométrica com fator 2. Portanto, diferenças de uma diluição usualmente são consideradas limitação metodológica, e diferenças de duas ou mais diluições são consideradas significativas.

Ao observarmos as Tabelas 7 e 9, verificamos a presença de resistência de alto nível do *S. oralis* apenas em 6% dos pacientes do GC. Devido ao fato de esses pacientes não estarem sob pressão antimicrobiana, a explicação mais plausível para essa resistência seria o contato com crianças, haja vista a idade mais avançada dos pacientes desse grupo. O contato com infantes é causa do aparecimento de microbiota com resistência de alto nível devido ao alto índice de infecções recorrentes orofaríngeas e pulmonares⁷⁴.

O uso crônico da PGB no GE não alterou de modo significativo a susceptibilidade dos *S. sanguinis* e *S. oralis* à penicilina G. Nossos achados estão de acordo com o único estudo publicado que encontramos, o qual avaliou a influência da PGB crônica sobre a susceptibilidade dos *Streptococcus Viridans* aos antibióticos⁴³. A literatura enfatiza o aumento da resistência, ou dos valores das CIM, dos *Streptococcus Viridans* e, portanto,

a elevação do número de cepas resistentes a antibióticos isoladas em hemoculturas positivas para EI. Porém, esses pacientes encontravam-se sob antibióticoterapia via oral e os intervalos das CIMs diferem dos padronizados pelo CLSI^{43, 61-63, 65, 75-77}.

5.3 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo permite inferir que a PGB crônica não altera de modo significativo a susceptibilidade à penicilina dos *S. sanguinis* e *S. oralis*, principais espécies isoladas nas EI.

Muita ênfase tem sido dada à falta de eficácia da profilaxia antibiótica contra a EI na última diretriz para combate e prevenção da EI, pois existem estudos que demonstram sua ocorrência mesmo sob essa modalidade de tratamento previamente a um procedimento odontológico capaz de causar bacteriemia. Além disso, alertam para o risco de anafilaxia ao administrar a profilaxia padrão para EI com 2g de amoxicilina.

Entretanto, os países que publicaram essa diretriz estão em patamares opostos ao do brasileiro, haja vista o regime mensal adotado para a profilaxia da FR devido à baixa incidência da doença naquelas populações.

A população brasileira está exposta a um alto índice de estreptococcia, motivo pelo qual se encontra na 12ª posição mundial de incidência da FR e o regime adotado para sua profilaxia é com a penicilina de 21 em 21 dias.

O sistema de saúde é deficiente no país. Com isso, uma grande parcela das pessoas desenvolve a CR e expõe-se ao risco de adquirir a EI.

A principal porta de entrada da EI é a boca e as condições de saúde bucal da população são precárias.

Apesar do alerta em torno do risco da anafilaxia na administração da penicilina, não observamos nenhum tipo de reação de hipersensibilidade em aproximadamente 200 injeções de PGB realizadas durante nosso estudo.

Dessa forma, são necessários estudos direcionados à população brasileira para conhecermos a nossa realidade e, então, adaptá-la às mudanças sugeridas pela AHA. Enquanto aguardamos esses dados, seria prudente continuarmos a aplicar as recomendações da penúltima diretriz da AHA, na qual a profilaxia para a EI é recomendada aos pacientes portadores da CR previamente a procedimentos que causem bacteriemia no trato geniturinário, trato respiratório e sistema estomatognático.

O nosso estudo contribui para a interface entre a Odontologia e Medicina, pois demonstra que, sob a ação da PGB prolongada, não há a diminuição da principal microbiota envolvida na etiologia da EI e, então, a profilaxia antibiótica prévia a procedimentos que causem bacteriemia faz-se necessária.

6. CONCLUSÕES

Nosso estudo possibilitou as conclusões:

A penicilina G benzatina provocou uma maior colonização pelo *Streptococcus oralis* 7 dias após a sua administração;

A colonização pelo *Streptococcus sanguinis* não foi alterada durante o ciclo da penicilina G benzatina;

A quantidade de *Streptococcus Viridans não-sanguinis* e *não-oralis* diminuiu aos 7 e 21 dias após a administração da penicilina G benzatina;

A susceptibilidade dos *Streptococcus sanguinis* e *Streptococcus oralis* à penicilina G não foi alterada durante o ciclo da penicilina G benzatina;

A penicilina G benzatina não provocou reações de hipersensibilidade em nenhum paciente do estudo.

7. ANEXOS

Anexo A – Termo de consentimento livre e esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DA
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE :.....
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M F
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO: Nº: APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)
2. RESPONSÁVEL LEGAL
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M F
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO: Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD (.....).....

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA BUCAL EM PACIENTES SOB USO CRÔNICO DE PENICILINA G BENZATINA
2. PESQUISADOR: André Andrade de Aguiar
CARGO/FUNÇÃO: Doutorando
INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 75200 (Conselho Regional de Odontologia de São Paulo)
UNIDADE DO HCFMUSP: Unidade Clínica de Cardiopatias Valvares do Instituto do Coração do HC FMUSP

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO RISCO MÍNIMO RISCO MÉDIO
 RISCO BAIXO RISCO MAIOR

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 24 meses

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

Você está sendo convidado (a) a participar deste estudo por ter tido Febre Reumática ou por ter doença nas coronárias. O objetivo do trabalho é ver quais as bactérias da boca de quem toma Benzetacil e comparar com as da boca de quem tem doença nas coronárias.

Vamos fazer um exame de dentista de sua boca e vamos pedir para que você mastigue uma goma de parafina, sem gosto, sem cheiro, e esterilizada. Após 3 a 5 (três a cinco) minutos você vai cuspir a saliva formada em um frasco. Isto será feito em 2 (duas) ocasiões: 1 (uma) e 3 (três) semanas após ter tomado o Benzetacil. Esta parafina não causa nenhum mal a sua saúde.

O desconforto é mínimo, pois é um exame de sua boca, o dentista só vai olhar, sem mexer nos seus dentes. Mesmo se você engolir a goma, ela não oferece risco a sua saúde.

Você terá como benefícios saber como está a sua saúde bucal e receber orientações.

Sua participação não é obrigatória, e a não participação, não influenciará no seu tratamento no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP.

OBS.: Se você tem doença nas coronárias, esse exame só será feito uma vez.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE

GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

1. A qualquer momento você poderá solicitar informações sobre o andamento da pesquisa. Você poderá também conversar com o pesquisador e esclarecer qualquer dúvida a respeito da pesquisa.
2. Você tem a liberdade de retirar seu consentimento para participar desta pesquisa a qualquer momento sem que isso cause prejuízo ao seu atendimento médico.
3. As informações sobre você são confidenciais e serão tratadas com sigilo e com privacidade. Somente serão fornecidas a outras pessoas autorizadas por você. As observações feitas, não serão identificadas como sendo suas.
4. Se houver qualquer problema resultante desta pesquisa você terá disponível o atendimento médico no Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
5. Você não receberá nenhuma compensação financeira pela participação nesta pesquisa.

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS

Pesquisador Responsável: Prof^o Dr. Max Grinberg

Unidade Clínica de Cardiopatias Valvares do Instituto do Coração do HCFMUSP

Rua Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44, Ambulatório Bloco II, Divisão de Clínica

Telefone: 3069-5056

Pesquisador Executante: André Andrade de Aguiar

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa

São Paulo, de de 2005.

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

assinatura do pesquisador
André Andrade de Aguiar

Anexo B – Número de UFC/mL de *S. sanguinis*

Paciente	Grupo Control	PGB 7 dias	PGB 21 dias
1	10000000	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-
4	-	-	-
5	-	-	-
6	-	-	-
7	-	-	-
8	-	-	-
9	14000000	-	-
10	-	-	-
11	62000000	-	-
12	-	19000000	1600000
13	-	20000000	-
14	-	-	-
15	-	-	8000000
16	-	-	-
17	-	-	-
18	-	-	-
19	-	-	-
20	10000000	-	-
21	-	-	-
22	-	-	-
23	-	-	-
24	-	-	-
25	-	-	-
26	-	-	-
27	54000000	-	130000000
28	-	-	27000000
29	-	-	-
30	-	1300000	100000000
31	330000000	27000000	-
32	-	-	-
33	60700000	-	-
34	-	-	200000000
35	-	-	-
36	17000000	-	-

“continua”

Paciente	Grupo Controle	"continuação"	
		PGB 7 dias	PGB 21 dias
37	-	-	-
38	-	5000000	-
39	-	-	-
40	-	-	-
41	-	-	-
42	-	-	-
43	-	-	-
44	-	-	-
45	-	-	80000000
46	-	-	-
47	-	-	-
48	-	-	-
49	-	-	-
50	-	-	-
51	-	-	-
52	-	-	-
53	200000000	-	-
54	-	-	2000000
55	-	-	-
56	-	270000000	-
57	-	-	-
58	-	-	-
59	-	-	-
60	-	-	-
61	-	-	-
62	-	-	-
63	130000000	-	-
64	-	-	-
65	-	-	-
66	-	-	-
67	-	-	-
68	-	-	-
69	-	-	-
70	-	-	-
71	-	-	-
72	-	-	-
73	-	-	-
74	-	-	-
75	540000	-	-
76	-	-	-

"continua"

Paciente	Grupo Controle	"conclusão"	
		PGB 7 dias	PGB 21 dias
77	-	-	-
78	-	-	330000000
79	-	400000000	-
80	-	-	200000000
81	-	-	-
82	-	-	320000000
83	-	-	-
84	-	-	-
85	-	-	-
86	-	-	-
87	-	-	-
88	-	-	-
89	-	-	-
90	130000000	400000000	-
91	-	-	-
92	-	1000000000	-
93	130000000	-	-
94	390000000	-	-
95	-	-	-
96	-	-	-
97	-	-	-
98	270000000	-	-
99	-	-	-
100	-	-	-

Anexo C – Número de UFC/mL de *S. oralis*

Paciente	Grupo Controle	PGB 7 dias	PGB 21 dias
1	6000000	40000000	1300000
2	360000	-	-
3	4000000	200000000	5400000
4	74000000	15000000	-
5	10000000	-	1300000000
6	-	40000000	2000000
7	80000000	130000000	1300000
8	4000000	2000000	21000000
9	-	230000000	30000000
10	1700000	3500000	4700000000
11	40000000	8000000	50000000
12	240000000	3400000000	-
13	80000000	210000000	67000000
14	-	670000000	12000000
15	120000000	110000000	-
16	100000000	33000000	-
17	3300000	130000000	54000000
18	-	4000000000	2100000000
19	27000000	2700000	230000000
20	-	2000000	450000000
21	20000000	300000000	3300000
22	16000000	20000000	54000000
23	-	19000000	19000000
24	100000000	270000000	120000000
25	200000000	8000000	20000000
26	1000000000	20000000	-
27	-	-	27000000
28	47000000	2000000	40000000
29	20000	57000000	80000000
30	2000000	1000000	-
31	130000000	-	390000000
32	-	40000000	1700000000
33	-	25000000	300000000
34	54000000	67000000	54000000
35	110000000	150000000	1200000
36	27000000	8700000	12000000
37	-	54000000	13000000

“continua”

Paciente	Grupo Controle	"continuação"	
		PGB 7 dias	PGB 21 dias
38	-	48000000	33000000
39	200000	14000000	10000000
40	210000000	46000000	140000000
41	1300000	74000000	10000000
42	53000000	13000000	330000000
43	5400000	23000000	20000000
44	130000000	27000000	23000000
45	100000000	2700000	27000000
46	13000000	8700000	15000000
47	670000	15000000	170000000
48	1300000	15000000	13000000
49	20000000	60000000	44000000
50	20000000	40000000	77000000
51	30000000	10000000	17000000
52	13000000	67000000	130000000
53	-	20000000	29000000
54	33000000	27000000	10000000
55	540000	10000000	30000000
56	80000000	230000000	27000000
57	13000000	28000000	-
58	340000	33000000	340000000
59	-	80000000	480000000
60	-	41000000	15000000
61	200000000	33000000	20000000
62	800000000	200000000	20000000
63	-	33000000	
64	1300000000	54000000	190000000
65	270000000	60000000	40000000
66	330000000	130000000	140000000
67	330000000	33000000	80000000
68	1000000	13000000	130000000
69	54000000	20000000	230000000
70	1300000	130000000	1500000000
71	540000000	270000000	430000000
72	8000000	330000000	530000000
73	570000000	540000000	20000000
74	33000000	60000000	100000000
75	54000000	74000000	13000000
76	33000000	15000000	40000000

"continua"

Paciente	Grupo Controle	“conclusão”	
		PGB 7 dias	PGB 21 dias
77	100000000	54000000	200000000
78	270000000	54000000	54000000
79	200000000	540000000	54000000
80	800000000	13000000	-
81	130000000	2700000	17000000
82	-	60000000	-
83	54000000	19000000	-
84	270000000	210000000	47000000
85	2700000	54000000	10000000
86	2000000	480000000	54000000
87	23000000	54000000	54000000
88	54000000	54000000	42000000
89	40000000	30000000	47000000
90	-	-	3300000
91	200000000	1300000	33000000
92	40000000	20000000	-
93	54000000	20000000	27000000
94	48000000	3300000	5400000
95	5200000	8000000	81000000
96	130000000	80000000	13000000
97	-	21000000	13000000
98	100000000	81000000	270000000
99	200000000	8000000	21000000
100	540000000	17000000	130000000

Anexo D – Número de UFC/mL de *Streptococcus* de outras espécies

Paciente	Grupo Controle	PGB 7 dias	PGB 21 dias
1	8000000	2100000	20000000
2	7640000	43000000	13000000
3	5700000	30000000	80000
4	-	270000	5000000
5	10700	670000	34000000
6	24740000	27000000	20000000
7	17000000	100000000	1000000
8	11300000	130000000	540000
9	54000000	6700000	37000000
10	6700000	540000000	330000000
11	60000000	20000000	-
12	-	-	26000000
13	-	54000000	-
14	20470000	-	-
15	-	130000000	2300000
16	94000000	1900000	500000000
17	10000000	4000000	-
18	127000000	1000000000	2500000000
19	17300000	400000000	-
20	15000000	54000000	1300000
21	15000000	110000000	-
22	3690000	-	130000000
23	68000000	130000000	180000000
24	80000000	-	67000000
25	-	5400000	-
26	5400000000	-	210000000
27	270000000	19000000	4000000
28	-	2700000	33000000
29	26700000	-	-
30	20000000	-	380000000
31	-	-	-
32	60000000	-	1000000000
33	800000000	-	270000000
34	54000000	130000000	670000000
35	60700000	1000000000	-
36	20000000	-	40000000
37	813300000	270000000	-

“continua”

Paciente	Grupo Controle	"continuação"	
		PGB 7 dias	PGB 21 dias
38	81000000	-	33000000
39	1300000	-	80000000
40	4000000	-	80000000
41	27000000	100000000	-
42	200000	-	1000000000
43	67000000	270000000	130000000
44	6700000	130000000	54000000
45	340000000	-	-
46	40000000	2000000	270000000
47	340000	-	-
48	1300000000	-	-
49	-	80000000	-
50	67000000	600000000	-
51	6000000	20000000	-
52	54000000	240000000	-
53	542700000	4700000	-
54	67000000	150000000	4000000
55	101000000	-	-
56	3400000	-	-
57	17000000	-	2700000
58	80270000	-	400000000
59	810000000	-	-
60	82700000	-	-
61	540000000	27000000	-
62	330000000	540000000	-
63	230000000	-	80000000
64	2000000	-	87000000
65	20000000	-	-
66	540000000	-	-
67	170000000	470000000	-
68	804300000	27000000	13000000
69	10000000	23000000	-
70	130000000	-	540000000
71	1040000000	670000000	-
72	33000000	-	200000000
73	-	670000000	-
74	33000	27000000	330000000
75	-	67000000	-
76	184000000	-	54000000

"continua"

Paciente	Grupo Controle	"conclusão"	
		PGB 7 dias	PGB 21 dias
77	130000000	7400000	-
78	1300000	47000000	-
79	1500000	270000000	73000000
80	302000000	-	-
81	-	-	20000000
82	4700000	270000000	-
83	-	8100000	13000000
84	270000000	-	-
85	200000000	30000000	-
86	53000000	810000000	-
87	54000000	47000000	86000000
88	130000000	47000000	150000000
89	20000000	-	13000000
90	230000	40000000	8000000
91	-	160000000	60000000
92	2400000000	-	690000000
93	1300000	13000000	470000000
94	-	-	60000000
95	350000000	-	940000000
96	100000000	5400000	-
97	324000000	27000000	54000000
98	-	-	-
99	-	370000000	47000000
100	-	200000000	34000000

Anexo E – Tabela de distribuição dos valores da CIM da espécie *S. sanguinis*

Paciente	Grupo Controle	PGB 7 dias	PGB 21 dias
1	0,125	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-
4	-	-	-
5	-	-	-
6	-	-	-
7	-	-	-
8	-	-	-
9	0,25	-	-
10	-	-	-
11	1,5	-	-
12	-	0,25	0,38
13	-	0,047	-
14	-	-	-
15	-	-	0,75
16	-	-	-
17	-	-	-
18	-	-	-
19	-	-	-
20	0,032	-	-
21	-	-	-
22	-	-	-
23	-	-	-
24	-	-	-
25	-	-	-
26	-	-	-
27	0,75	-	0,012
28	-	-	0,094
29	-	-	-
30	-	0,047	0,094
31	0,19	0,5	-
32	-	-	-
33	0,032	-	-
34	-	-	0,25
35	-	-	-

“continua”

Paciente	Grupo Controle	"continuação"	
		PGB 7 dias	PGB 21 dias
36	0,064	-	-
37	-	-	-
38	-	0,5	-
39	-	-	-
40	-	-	-
41	-	-	-
42	-	-	-
43	-	-	-
44	-	-	-
45	-	-	-
46	-	-	-
47	-	-	-
48	-	-	-
49	-	-	-
50	-	-	-
51	-	-	-
52	-	-	-
53	0,047	-	-
54	-	-	0,5
55	-	-	-
56	-	0,064	-
57	-	-	-
58	-	-	-
59	-	-	-
60	-	-	-
61	-	-	-
62	-	-	-
63	0,016	-	-
64	-	-	-
65	-	-	-
66	-	-	-
67	-	-	-
68	-	-	-
69	-	-	-
70	-	-	-
71	-	-	-
72	-	-	-
73	-	-	-
74	-	-	-

"continua"

Paciente	Grupo Controle	"conclusão"	
		PGB 7 dias	PGB 21 dias
75	0,5	-	-
76	-	-	-
77	-	-	-
78	-	-	0,19
79	-	0,125	-
80	-	-	0,032
81	-	-	-
82	-	-	8
83	-	-	-
84	-	-	-
85	-	-	-
86	-	-	-
87	-	-	-
88	-	-	-
89	-	-	-
90	0,064	1,5	-
91	-	-	-
92	-	0,38	-
93	0,016	-	-
94	0,5	-	-
95	-	-	-
96	-	-	-
97	-	-	-
98	1,5	-	-
99	-	-	-
100	-	-	-

Anexo F – Tabela de distribuição dos valores da CIM da espécie *S. oralis*

Paciente	Grupo Controle	PGB 7 dias	PGB 21 dias
1	4	0,032	0,5
2	0,016	-	-
3	0,016	0,016	0,19
4	0,5	0,094	-
5	0,094	-	1
6	-	1,5	1
7	0,094	0,75	0,75
8	0,047	0,5	0,064
9	-	0,19	0,25
10	0,5	0,5	1
11	0,094	0,5	0,047
12	0,38	0,38	-
13	0,5	0,5	0,25
14	-	0,38	0,047
15	0,023	0,047	-
16	0,047	0,064	-
17	0,19	0,047	0,094
18	-	0,047	0,047
19	0,032	1	0,5
20	-	0,125	0,064
21	0,016	0,25	0,25
22	0,047	0,38	0,5
23	-	0,75	1,5
24	0,012	0,38	1
25	2	0,094	0,25
26	3	0,38	-
27	-	-	0,047
28	0,064	0,25	0,047
29	0,38	1	0,25
30	8	0,25	-
31	0,016	-	0,023
32	-	0,38	0,047
33	-	0,25	0,064
34	0,047	0,016	0,25
35	0,047	0,75	1

"continua"

Paciente	Grupo Controle	“continuação”	
		PGB 7 dias	PGB 21 dias
36	0,023	0,094	0,094
37	-	0,094	0,023
38	-	0,75	0,064
39	0,75	0,064	0,094
40	0,047	0,064	0,064
41	0,5	0,25	0,75
42	0,032	0,047	0,016
43	2	0,032	0,047
44	0,032	0,032	0,047
45	0,064	0,38	0,094
46	0,064	0,125	0,19
47	0,008	0,064	0,094
48	1	0,75	1
49	0,032	0,064	0,094
50	0,25	0,50	0,75
51	1,25	0,38	0,5
52	0,032	0,032	0,047
53	-	1,0	1,5
54	0,5	1,0	1,5
55	0,75	0,032	0,047
56	0,125	0,19	0,125
57	1,5	0,125	
58	0,38	0,25	0,094
59	-	0,19	0,064
60	-	0,25	0,5
61	0,032	0,50	0,125
62	0,5	0,50	1,5
63	-	0,025	-
64	0,032	1	0,5
65	1,5	0,25	0,38
66	0,023	0,25	0,5
67	0,023	0,125	0,5
68	0,25	0,5	0,125
69	0,064	0,5	1
70	0,5	0,5	0,047
71	0,047	0,032	0,125
72	1	0,125	0,125
73	0,19	0,064	0,125
74	0,016	0,064	0,023

“continua”

Paciente	Grupo Controle	"conclusão"	
		PGB 7 dias	PGB 21 dias
75	0,094	0,38	0,38
76	0,38	0,38	0,125
77	0,023	0,047	0,19
78	0,5	0,25	0,5
79	0,75	0,5	0,38
80	0,047	0,125	-
81	0,125	0,125	0,125
82	-	2	-
83	0,25	0,125	-
84	0,5	0,125	0,38
85	2	1,5	0,5
86	4	0,5	0,5
87	0,25	1	0,25
88	0,047	0,125	0,125
89	0,064	0,064	0,19
90	-	-	0,5
91	0,032	0,38	0,5
92	1,5	0,38	-
93	0,016	0,064	0,75
94	0,5	1	0,38
95	0,012	0,25	0,75
96	0,125	0,5	0,75
97	-	0,19	0,125
98	0,25	0,032	0,032
99	0,032	2	0,75
100	0,75	0,047	0,38

8 – REFÊRÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Coleman DJ, McGhie D, Tebbutt GM. Further studies on the reliability of the bacitracin inhibition test for the presumptive identification of Lancefield group A streptococci. *J Clin Pathol.* 1977;30(5):421-6.
2. Dajani AS, Bisno AL, Chung KJ, Durack DT, Gerber MA, Kaplan EL, Millard HD, Randolph MF, Shulman ST, Watanakunakorn C. Prevention of rheumatic fever: a statement for health professionals by the Committee on Rheumatic Fever, Endocarditis and Kawasaki Disease of the Council on Cardiovascular Disease in the young, the American Heart Association. *Pediatr Infect Dis J.* 1989;8(5):263-6.
3. Aboul Dahab OM, Darhous MS, Abdel Rahman R. The incidence of Streptococcus pyogenes in throat and plaque cultures in cases with acute throat infections. *Egypt Dent J.* 1993;39(4):527-32.
4. Breese BB, Bellows MT, Fischel EE, Kuttner A, Massell BF, Rammelkamp CH, Schlesinger ER. Prevention of rheumatic fever. *Circulation.* 1953;7(2):316-9.
5. da Silva CH. Rheumatic fever: a multicenter study in the state of Sao Paulo. Pediatric Committee--Sao Paulo Pediatric Rheumatology Society. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo.* 1999;54(3):85-90.
6. Denny FW. T. Duckett Jones and rheumatic fever in 1986. T. Duckett Jones Memorial Lecture. *Circulation.* 1987;76(5):963-70.

7. Lue HC, Wu MH, Hsieh KH, Lin GJ, Hsieh RP, Chiou JF. Rheumatic fever recurrences: controlled study of 3-week versus 4-week benzathine penicillin prevention programs. *J Pediatr*. 1986;108(2):299-304.
8. Roberts S, Kosanke S, Terrence Dunn S, Jankelow D, Duran CM, Cunningham MW. Pathogenic mechanisms in rheumatic carditis: focus on valvular endothelium. *J Infect Dis*. 2001;183(3):507-11.
9. Sanchez-Perez L, Acosta-Gio AE. Caries risk assessment from dental plaque and salivary *Streptococcus mutans* counts on two culture media. *Arch Oral Biol*. 2001;46(1):49-55.
10. Snitcowsky R. Rheumatic fever prevention in industrializing countries: problems and approaches. *Pediatrics*. 1996;97(6 Pt 2):996-8.
11. Guglielmi L, Kalil J. Febre Reumática: Conhecimento Atual da Etiopatogenia. In: Socesp, editor. Manual de Cardiologia. São Paulo: Aquaprint; 1996. p. 265-74.
12. Kaplan EL. Febre Reumática. In: Braunwald E., Fauci A. S., Kasper D. L., Hauser S. L., Longo D. L., Jameson J. L., editors. Harrison medicina interna 15 ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill; 2002. p. p.2074-6.
13. Spina GS. Doença Reumática. In: Lopes A.C., editor. Tratado de clínica médica. 1 ed. São Paulo: Roca; 2006. p. 616-24.
14. Tarasoutchi F, Spina GS. Profilaxia da febre reumática. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*. 2005;15(1):85-91.

15. de Oliveira JJ, Silva SR, Vijle JD. [Rheumatic disease]. *Arq Bras Cardiol.* 1997;69(1):69-77.
16. Sampaio RO, Fae KC, Demarchi LM, Pomerantzeff PMA, Aiello VD, Spina GS, Tanaka AC, Oshiro SE, Grinberg M, Kalil J, Guilherme L. Rheumatic heart disease: 15 years of clinical and immunological follow-up. *Vasc Health Risk Manag.* 2007;3(6):1007-17.
17. Brundage JF, Gunzenhauser JD, Longfield JN, Rubertone MV, Ludwig SL, Rubin FA, Kaplan EL. Epidemiology and control of acute respiratory diseases with emphasis on group A beta-hemolytic streptococcus: a decade of U.S. Army experience. *Pediatrics.* 1996;97(6 Pt 2):964-70.
18. Decourt LV, Santos SR, Snitcowsky R, Pileggi F, Tsuzuki H, de Araujo Abreu AM, Zalc S. [Serum levels of benzathine penicillin G after intramuscular administration]. *Arq Bras Cardiol.* 1983;40(1):3-8.
19. Gunzenhauser JD, Longfield JN, Brundage JF, Kaplan EL, Miller RN, Brandt CA. Epidemic streptococcal disease among Army trainees, July 1989 through June 1991. *J Infect Dis.* 1995;172(1):124-31.
20. Snitcowsky R, Mansur A, Grinberg M. Aspectos da profilaxia da doença reumática. *Ars Curandi Cardiologia.* 1980;3:31-8.
21. Ayoub EM. Prophylaxis in patients with rheumatic fever: every three or every four weeks? *J Pediatr.* 1989;115(1):89-91.
22. Currie BJ. Are the currently recommended doses of benzathine penicillin G adequate for secondary prophylaxis of rheumatic fever? *Pediatrics.* 1996;97(6 Pt 2):989-91.

23. Herdy GV, Souza DC, Barros PB, Pinto CA. [Secondary prophylaxis in rheumatic fever. Oral antibiotic therapy versus benzathine penicillin]. *Arq Bras Cardiol.* 1996;67(5):331-3.
24. Lue HC, Wu MH, Wang JK, Wu FF, Wu YN. Long-term outcome of patients with rheumatic fever receiving benzathine penicillin G prophylaxis every three weeks versus every four weeks. *J Pediatr.* 1994;125(5 Pt 1):812-6.
25. Kassem AS, Zaher SR, Abou Shleib H, el-Kholy AG, Madkour AA, Kaplan EL. Rheumatic fever prophylaxis using benzathine penicillin G (BPG): two- week versus four-week regimens: comparison of two brands of BPG. *Pediatrics.* 1996;97(6 Pt 2):992-5.
26. Carmona IT, Diz Dios P, Scully C. An update on the controversies in bacterial endocarditis of oral origin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002;93(6):660-70.
27. Dajani AS, Taubert KA, Wilson W, Bolger AF, Bayer A, Ferrieri P, Gewitz MH, Shulman ST, Nouri S, Newburger JW, Hutto C, Pallasch TJ, Gage TW, Levison ME, Peter G, Zuccaro G, Jr. Prevention of bacterial endocarditis. Recommendations by the American Heart Association. *JAMA.* 1997;277(22):1794-801.
28. Little JW. Management of patients susceptible to bacterial endocarditis and related infections. *J Dent Educ.* 1993;57(11):811-4.
29. Shulman ST, Amren DP, Bisno AL, Dajani AS, Durack DT, Gerber MA, Kaplan EL, Millard HD, Sanders WE, Schwartz RH, et al. Prevention of bacterial endocarditis. A statement for health professionals by the

- Committee on Rheumatic Fever and Bacterial Endocarditis of the Council on Cardiovascular Diseases in the Young of the American Heart Association. *Am J Dis Child*. 1985;139(3):232-5.
30. Wilson W, Taubert KA, Gewitz M, Lockhart PB, Baddour LM, Levison M, Bolger A, Cabell CH, Takahashi M, Baltimore RS, Newburger JW, Strom BL, Tani LY, Gerber M, Bonow RO, Pallasch T, Shulman ST, Rowley AH, Burns JC, Ferrieri P, Gardner T, Goff D, Durack DT. Prevention of infective endocarditis: guidelines from the American Heart Association: a guideline from the American Heart Association Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease Committee, Council on Cardiovascular Disease in the Young, and the Council on Clinical Cardiology, Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group. *Circulation*. 2007;116(15):1736-54.
 31. Wright AJ, Wilson WR. Experimental animal endocarditis. *Mayo Clin Proc*. 1982;57(1):10-4.
 32. Chayakul P, Hortiwakul R, Yipintsoi T, Ingviya N. Varidans streptococci in the oral flora of the patients at risk for infective endocarditis: species and penicillin susceptibilities. *J Med Assoc Thai*. 2002;85(7):825-30.
 33. Darhous MS, Dahab OM, el Atar E, el Ghafary E. Dental, oral and bacteriological aspects in patients at risk of subacute bacterial endocarditis. *Egypt Dent J*. 1993;39(4):533-9.

34. Gould FK, Elliott TS, Foweraker J, Fulford M, Perry JD, Roberts GJ, Sandoe JA, Watkin RW, Working Party of the British Society for Antimicrobial C. Guidelines for the prevention of endocarditis: report of the Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. *J Antimicrob Chemother.* 2006;57(6):1035-42.
35. Guntheroth WG. How important are dental procedures as a cause of infective endocarditis? *Am J Cardiol.* 1984;54(7):797-801.
36. Ito HO. Infective endocarditis and dental procedures: evidence, pathogenesis, and prevention. *J Med Invest.* 2006;53(3-4):189-98.
37. Little JW. Management of the patient with a history of rheumatic fever in dental practice. *J Oral Med.* 1978;33(2):47-53.
38. Martin MV, Longman LP, Forde MP, Butterworth ML. Infective endocarditis and dentistry: the legal basis for an association. *Br Dent J.* 2007;203(1):E1; discussion 38-9.
39. Strom BL, Abrutyn E, Berlin JA, Kinman JL, Feldman RS, Stolley PD, Levison ME, Korzeniowski OM, Kaye D. Dental and cardiac risk factors for infective endocarditis. A population-based, case-control study. *Ann Intern Med.* 1998;129(10):761-9.
40. Grinberg M, Décourt LV. Princípios de Osler, critérios de Jones e métodos propedêuticos modernos no diagnóstico da endocardite infecciosa. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo.* 1995;5(4):389-97.
41. Herzberg MC. Oral Streptococci in Health and Disease. In: Stevens D. L., Kaplan E. L., editors. *Streptococcal Infections: clinical aspects,*

- microbiology and molecular pathogenesis. 1st ed. New York: Oxford Universe Press; 2000. p. 333-70.
42. Massel BF, Dow JW, Jones TD. Orally administered penicillin in patients with rheumatic fever. *J Am Med Assoc.* 1948;138(14):1030-6.
 43. Bilavsky E, Eliahou R, Keller N, Yarden-Bilavsky H, Harel L, Amir J. Effect of benzathine penicillin treatment on antibiotic susceptibility of viridans streptococci in oral flora of patients receiving secondary prophylaxis after rheumatic fever. *J Infect.* 2008;56(4):244-8.
 44. Rubenfire M, Grossman NS, Kaciroti N, Apsey DJ, Loesche WJ. Anaerobic dental flora and the acute coronary syndrome. *Coron Artery Dis.* 2007;18(2):111-6.
 45. Duval X, Alla F, Doco-Lecompte T, Le Moing V, Delahaye F, Mainardi JL, Plesiat P, Celard M, Hoen B, Leport C. Diabetes mellitus and infective endocarditis: the insulin factor in patient morbidity and mortality. *Eur Heart J.* 2007;28(1):59-64.
 46. Rosner B. *Fundamentals of Biostatistics.* 2nd ed. Boston, M.A.: PWS Publishers; 1986.
 47. Jensen JL, Karatsaidis A, Brodin P. Salivary secretion: stimulatory effects of chewing-gum versus paraffin tablets. *Eur J Oral Sci.* 1998;106(4):892-6.
 48. Lenander-Lumikari M, Johansson I, Vilja P, Samaranayake LP. Newer saliva collection methods and saliva composition: a study of two Salivette kits. *Oral Dis.* 1995;1(2):86-91.

49. Ono K, Inoue H, Masuda W, Morimoto Y, Tanaka T, Yokota M, Inenaga K. Relationship of chewing-stimulated whole saliva flow rate and salivary gland size. *Arch Oral Biol.* 2007;52(5):427-31.
50. Dahlen G, Pipattanagovit P, Rosling B, Moller AJ. A comparison of two transport media for saliva and subgingival samples. *Oral Microbiol Immunol.* 1993;8(6):375-82.
51. CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighteenth Informational Supplement.* CSLI document M100-S18. Wayne, P. A.: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008. v.28.
52. Murray PR. *Manual of Clinical Microbiology.* 8th ed. Washington, D. C.: ASM Press; 2003. v.1.
53. Gold OG, Jordan HV, Van Houte J. A selective medium for *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol.* 1973;18(11):1357-64.
54. Pezzlo M. Aerobic Bacteriology. In: Isenberg H. D., editor. *Clinical Microbiology Procedures Handbook.* Washington, D.C.: American Society for Microbiology Press; 1992. p. 1.20.5-1..6.
55. Ruoff KL, Whiley RA, Beighton D. *Streptococcus*. In: Murray P. R., editor. *Manual Of Clinical Microbiology.* Washington, D.C.: ASM Press; 2003. p. 405-21.
56. Alam S, Brailsford SR, Adams S, Allison C, Sheehy E, Zoitopoulos L, Kidd EA, Beighton D. Genotypic heterogeneity of *Streptococcus oralis* and distinct aciduric subpopulations in human dental plaque. *Appl Environ Microbiol.* 2000;66(8):3330-6.

57. Kawamura Y, Whiley RA, Shu SE, Ezaki T, Hardie JM. Genetic approaches to the identification of the mitis group within the genus *Streptococcus*. *Microbiology*. 1999;145 (Pt 9):2605-13.
58. Rudney JD, Larson CJ. Identification of oral mitis group streptococci by arbitrarily primed polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol*. 1999;14(1):33-42.
59. Timm NH. *Multivariate Analysis with Applications in Educations and Psychology*. 1st ed. Monterrey, C.A.: Brooks/Cole; 1975.
60. Roberts GJ. Dentists are innocent! "Everyday" bacteremia is the real culprit: a review and assessment of the evidence that dental surgical procedures are a principal cause of bacterial endocarditis in children. *Pediatr Cardiol*. 1999;20(5):317-25.
61. Erickson PR, Herzberg MC. Emergence of antibiotic resistant *Streptococcus sanguis* in dental plaque of children after frequent antibiotic therapy. *Pediatr Dent*. 1999;21(3):181-5.
62. Hall GE, Baddour LM. Apparent failure of endocarditis prophylaxis caused by penicillin-resistant *Streptococcus mitis*. *Am J Med Sci*. 2002;324(1):51-3.
63. Holbrook WP, Olafsdottir D, Magnusson HB, Benediktsdottir E. Penicillin tolerance among oral streptococci. *J Med Microbiol*. 1988;27(1):17-22.
64. Kuriyama T, Karasawa T, Nakagawa K, Saiki Y, Yamamoto E, Nakamura S. Bacteriologic features and antimicrobial susceptibility in

- isolates from orofacial odontogenic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2000;90(5):600-8.
65. Tuohy M, Washington JA. Antimicrobial susceptibility of viridans group streptococci. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1997;29(4):277-80.
66. Pomerantzeff PMA, Brandão CMA, Faber FN, Grinberg M, Cardoso LF, Tarasoutchi F, Stolf NAG, Verginelli G, Jatene AD. Plástica da valva mitral em portadores de febre reumática. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 1998;13(3):211-5.
67. Neves RS, Neves ILI, Giorgi DMA, Grupi CJ, César LAM, Hueb WA, Grinberg M. Efeitos do uso da adrenalina na anestesia local odontológica em portador de coronariopatia. *Arq Bras Cardiol.* 2007;88(5):545-51.
68. Datasus. Levantamento Epidemiológico em Saúde Bucal. Ministério da Saúde; 1996 [updated 1996; cited 01/12/2008]; Available from: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sbucal/sbbr.def>.
69. de Almeida PF, Franca MP, Santos SP, Moreira RS, Tunes UR. Microbiota estreptocócica associada com a formação inicial da placa dental. *R Ci Med Biol.* 2002;1(1):33-41.
70. Frandsen EV, Pedrazzoli V, Kilian M. Ecology of viridans streptococci in the oral cavity and pharynx. *Oral Microbiol Immunol.* 1991;6(3):129-33.
71. Sobrinho AS. Flora Normal da Cavidade Oral e Mecanismos de Defesa do Hospedeiro. *Rev Ass Paul Cirurg Dent.* 1983;37(2):108-15.

72. Utimi JA. Benzetacil. benzilpenicilina benzatina. [bula de remédio]. Eurofarma 2005.
73. Jeon EH, Han JH, Ahn TY. Comparison of bacterial composition between human saliva and dental unit water system. *J Microbiol.* 2007;45(1):1-5.
74. Lorian VI. *Antibiotics in laboratory medicine*. 4th ed. Baltimore, M.D.: Maple Press; 1996. v.1.
75. Knoll B, Tleyjeh IM, Steckelberg JM, Wilson WR, Baddour LM. Infective endocarditis due to penicillin-resistant viridans group streptococci. *Clin Infect Dis.* 2007;44(12):1585-92.
76. Levy CS, Kogulan P, Gill VJ, Croxton MB, Kane JG, Lucey DR. Endocarditis caused by penicillin-resistant viridans streptococci: 2 cases and controversies in therapy. *Clin Infect Dis.* 2001;33(4):577-9.
77. Nishi J, Yoshinaga M, Nomura Y, Dajani AS, Taubert KA, Ferrieri PL. Prevalence of penicillin-resistant viridans streptococci in the oral flora of Japanese children at risk for infective endocarditis. *Circulation.* 1999;99(9):1274-5.