

Uso do metronidazol como medida preventiva de infecções anaeróbicas pós- exodênticas. Estudo experimental em ratos.

Effect of metronidazole in anaerobic pos exodonty dental infection. Experimental study in rats.

Gilson Machado D'Antonio

Professor Assistente Doutor Departamento de Patologia – UNESP e professor na FAI

Percy Sampaio Camargo

Professor Titular Aposentado Departamento de Patologia do Campus de Araçatuba - UNESP

Resumo

Com intuito de estudar o efeito do metronidazol na prevenção da alveolite, os autores provocaram alveolite experimental em dois grupos de ratos; O grupo experimental foi previamente protegido (8 horas antes da exodontia) com uma dose na concentração 1mg do medicamento, ministrado por intubação gástrica, e repetida com intervalo de 8 horas até completar 48 horas do pós-operatório. Nossos resultados permitem concluir que o metronidazol na concentração utilizada reduz a incidência e o grau de severidade do alveolite nos animais experimentais, como também modifica a qualidade e quantidade da flora bacteriológica dos mesmos.

Palavras-chave

Alveolite - anaeróbios - antibióticos.

Abstract

In order to study the effect of metronidazole in alveolitis prevention; The authors produced experimental alveolitis in two groups of rats, the experimental one was previously protected with 1mg concentration of the drug (8 hours before surgery). The drug was given by gastric intubation, which was repeated each 8 hours till 48 hours pos-exodonty. Our results allow us to conclude that metronidazole in 1mg concentration, reduced incidence and severity degree of alveolitis in the experimental animals as well as modifie the bacterial quality and quantity of them.

Key-words

Alveolitis - anaerobics - antibiotics.

Introdução

As alveolites continuam sendo um problema pós-operatório de significância. Nas exodontias ela ocorre entre 2 a 3% dos casos. Essa incidência aumenta para 20 a 30% quando se analisa especificamente as avulsões dos terceiros molares inferiores impactados (BIRN, 1973; BUTLER & SWEET, 1977; GOLDMAN; PANZER; ATKINSON, 1973; ROOD & DANFORD, 1981). Na literatura específica encontramos várias referências sobre aspectos etiológicos das alveolites (AWANG, 1989; BIRN, 1970; 1972; 1973; GOLDMAN; PANZER; ATKINSON, 1973; GONÇALVES, 1970; MACGREGOR & HART, 1970; SASAKI, 1966; SASAKI & OKAMOTO, 1968). Birn (1973) fez extensa revisão sobre o assunto e comentou o aspecto multifatorial desse processo inflamatório.

Como todos os processos infecciosos, a instalação da alveolite depende de fatores predisponentes e de fatores determinantes. Os primeiros se relacionam com o estado geral e resistência do hospedeiro e com a intensidade do trauma e os segundos relacionados com a presença, virulência e quantidade de microorganismos (D'ANTONIO, 1984; MACGREGOR & HART, 1970). Em várias publicações podemos encontrar referências sobre o fator bacteriano como componente etiológico. Sasaki (1966) isolou Estafilococos; Brown; Merrill; Allen (1970), Estreptococos. Mac Gregor & Hart (1970), evidenciaram os anaeróbios. Birn (1973) demonstrou a capacidade fibrinolítica das bactérias.

D'Antonio (1984) demonstrou ser, as anaeróbias, fator desencadeante nas alveolites.

As bactérias anaeróbicas estão presentes no sulco gengival, nas bolsas periodontais e nos canais radiculares de dentes com polpas necrosadas (FRANDSEN et al, 1994; MATUSOW & GOODALL, 1983; SLOTS, 1979; SUNDQVIST, 1976). O potencial de virulência desses microorganismos tem sido evidenciado em várias pesquisas (ALLENSPACH-PETRZILKA & GUGGENHEIM, 1982; KASTELEIN et al, 1981; SOCRANSKY & GIBBONS, 1965; SUNDQVIST et al. , 1979; TAKAZOE; TANAKA; HOMMA, 1971).

Desde que as bactérias anaeróbias indígenas podem ser agente etiológico em infecções endógenas, os clínicos têm se preocupado em prevenir tais infecções com antimicrobianos efetivos contra as mesmas. O metronidazol foi eficiente nas infecções nas intracranianas e periodontopatias (DORNBUSCH; NORD; OLSSON, 1979; FRANDSEN et al, 1994; GREENSTEIN, 1993; HEIJL & LINDE, 1982, LEKOVIC et al., 1983 ; LINDHE et al. 1983; LOESCHI et al., 1992; LOESCH, 1981; SANDER et al., 1994; WARNER; PERKINS; CORDEIRO, 1979).

Rood & Danford (1981) usaram com sucesso o metronidazol como único agente terapêutico para controle de alveolites, em humanos. Entretanto, esses autores nada mencionaram sobre as possíveis espécies de bactérias presentes.

D'Antonio (1984) desenvolveu um modelo experimental de contaminação dos alvéolos dentais de ratos capaz de provocar alveolite em 100% dos animais. Essa metodologia permitiu desenvolver uma série de projetos visando uma melhor compreensão do papel das bactérias anaeróbicas nesse processo infeccioso assim como sua prevenção e terapêutica.

No presente pretendemos estudar a eficiência do metronidazol na prevenção de infecções do alvéolo dental de ratos por bactérias anaeróbicas estritas.

Material e Métodos

Foram utilizados 40 ratos, *Rattus norvegicus*, albinus, wistar, machos, pesando entre 120 e 140 gramas. Todos os animais foram alimentados com ração sólida (ração ativada produtor – Anderson Clayton) e água ad libitum, durante toda a fase experimental, exceto nas

24 horas pós-cirurgia. Os animais foram divididos em dois grupos, vinte ratos considerados como animais controle (Grupo I) e vinte animais tratados (Grupo II).

Tratamento cirúrgico. Após anestesia por inalação com éter sulfúrico e antissepsia com tintura de merthiolate a 1:1000 (Eli Lilly do Brasil Ltda), o incisivo superior direito de cada rato foi extraído segundo técnica descrita por Okamoto (1984).

Contaminação. Os animais de ambos os grupos tiveram seus alvéolos contaminados com uma suspensão de secreção purulenta, obtidas de ratos doadores com supuração alveolar abundante, contendo no mínimo 105 unidades formadoras de colônias (u.f.c.) de bactérias anaeróbicas por ml (D'ANTONIO, 1984).

Medicação preventiva. Os animais do grupo II receberam 8 horas antes da exodontia, uma dose de 1 mg de metronidazol (Flagyl Pediátrico, suspensão a 4% - Laboratório Rhodia S/A) por intubação gástrica. Após a exodontia a medicação com metronidazol foi repetida, na mesma dose, com intervalos de 8 horas, até completar 48 horas pós-operatório.

Observação clínica. Os animais foram observados diária e clinicamente e anotado o grau de intensidade do processo inflamatório em fichas individuais, obedecendo ao seguinte critério: (-) = alvéolo sem sinal evidente de alveolite

(+) = alvéolo com pouca secreção sero-sanguinolenta

(++) = alvéolo com secreção purulenta evidente

(+++) = alvéolo com secreção purulenta abundante

(++++) = alvéolo com secreção purulenta abundante com aumento volumétrico da região alveolar (D'ANTONIO, 1984).

Coleta de material para exame bacteriológico. Sempre que houve secreção purulenta o material foi coletado introduzindo nos alvéolos, cones de papel absorvente estéreis. Após 1 minuto de permanência nos alvéolos os cones foram removidos, transferidos para frascos com dois ml de meio de transporte contendo substância redutora (MRT) e pérolas de vidro (VAN DER WIJL KORSTANJE, 1973; VAN PALESNTEIN HELDERMAN, 1975). As suspensões foram homogêneas e conservadas em nitrogênio líquido para processamento posterior (BUTLER & SWEET, 1977).

Bacteriologia. Sempre que houve secreção purulenta foram feitos esfregaços, os quais foram corados pelo método de Gram. Foram observados no mínimo dez campos microscópicos com lente de imersão, e anotados em fichas individuais os aspectos qualitativos e

quantitativos da flora presente. Além da bacterioscopia, as amostras de secreções foram semeadas em Reinforced Clostridial Agar (E.Merck, Darmstadt) enriquecido com sangue hemolisado adicionado de hemina (Microbiologia - Rio de Janeiro) e vitamina K (Synkavit, 1 mg/ml - Laboratório Roche - RCASHK) e incubados em anaerobiose estrita pelo sistema GAS-PAK e em câmara contendo resíduo de oxigênio e CO2 gerado por chama de vela para as facultativas, para estudo qualitativo e quantitativo da flora (D'ANTONIO, 1984).

Resultado

O grau de infecção dos animais experimentais dos Grupos I (controle) e II (tratados/Flagyl) estão expostos na tabela I.

No grupo controle a incidência de alveolite foi de

100% e atingiu um grau de severidade superior ao grupo Flagyl, onde a redução de ocorrência de alveolite foi de 40%.

A bacterioscopia dos esfregaços das secreções purulentas e/ou sero-sanguinolentas dos alvéolos dos ratos corados pelo Gram apresentaram uma predominância dos bastonetes Gram negativos pequenos.

Em quantidade menor observou-se bastonetes Gram negativos maiores. A presença de cocos Gram positivos foi observada em vários esfregaços, mas não foi em 100% como os bacilos Gram negativos.

A proporção das bactérias anaeróbicas é predominante em relação às facultativas no grupo controle (Fig.1), por outro lado esta proporção não se repete no grupo Flagyl onde notamos um aumento das bactérias facultativas em relação às anaeróbias (Tabela II e III e Fig. 2).

Tabela I – Condições clínicas dos alvéolos dentais dos animais dos grupos experimentais

| Grupo I - Controle | | Grupo II - Flagyl | |
|--------------------|------------------|-------------------|------------------|
| Rato Nº. | Grau de Infecção | Rato Nº. | Grau de Infecção |
| 20 | ++ | 00 | + |
| 21 | ++++ | 01 | + |
| 22 | +++ | 02 | + |
| 23 | * | 03 | ++ |
| 24 | +++ | 04 | - |
| 25 | ++ | 05 | + |
| 26 | ++ | 06 | - |
| 27 | ++++ | 07 | - |
| 28 | ++++ | 08 | + |
| 29 | +++ | 09 | + |
| 30 | +++ | 10 | + |
| 31 | ++ | 11 | - |
| 32 | +++ | 12 | + |
| 33 | +++ | 13 | - |
| 34 | ++ | 14 | + |
| 35 | +++ | 15 | ++ |
| 36 | +++ | 16 | - |
| 37 | ++ | 17 | - |
| 38 | ++++ | 18 | - |
| 39 | +++ | 19 | * |

* Óbito no pós-operatório

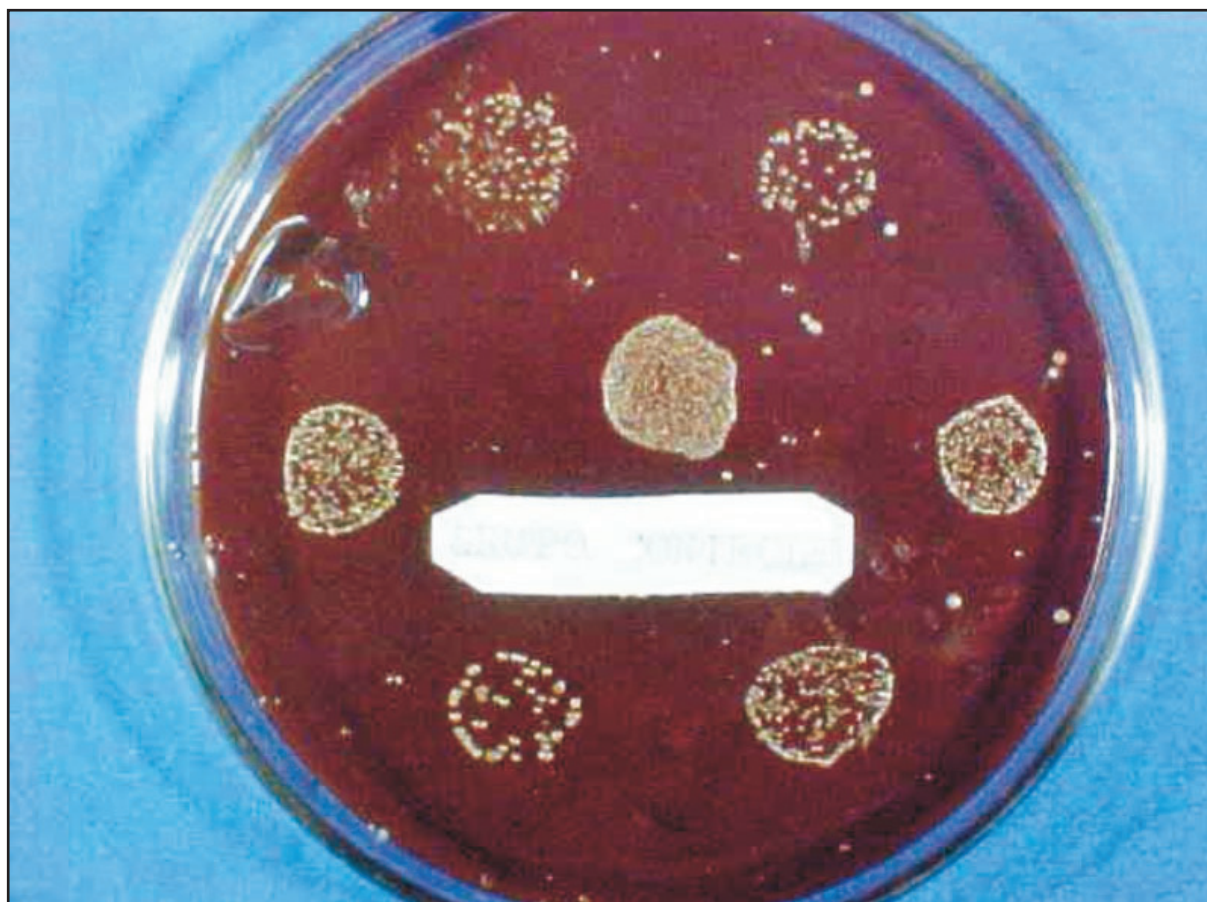


Fig. 1 - Cultura em anaerobiose da secreção purulenta dos animais controle. Crescimento de anaeróbios em quantidade

Tabela II – Grupo controle total e porcentagem de bactérias viáveis

| Ratos Nº. | Grau de Infecção | Total de Viáveis ufc x 10 ³ | Facultativas ufc x 10 ³ | Anaeróbias ufc x 10 ⁻³ | Facultativas % | Anaeróbias % |
|----------------------------|------------------|--|------------------------------------|-----------------------------------|----------------|--------------|
| 20 | ++ | 16.100 | 1.100 | 15.000 | 6.8 | 93.2 |
| 21 | ++++ | 32.000 | 10.000 | 22.000 | 31.3 | 68.7 |
| 22 | +++ | 35.000 | 2.000 | 33.000 | 5.8 | 94.2 |
| 23 | +++ | - | - | - | - | - |
| 24 | +++ | 2.300.000 | - | 2.300.000 | 0 | 100 |
| 25 | ++ | 41.000 | 6.000 | 35.000 | 14.6 | 85.4 |
| 26 | ++ | 75.500 | 7.500 | 68.000 | 10.0 | 90.0 |
| 27 | ++++ | 762.000 | - | 760.000 | 0.3 | 99.7 |
| 28 | ++++ | 1.280.000 | 80.000 | 1.200.000 | 6.3 | 93.7 |
| 29 | +++ | 498.000 | 18.000 | 480.000 | 3.6 | 96.4 |
| 30 | +++ | 563.000 | 13.000 | 550.000 | 2.3 | 97.7 |
| 31 | ++ | 361.200 | 1.200 | 360.000 | 0.3 | 99.7 |
| 32 | +++ | 1.662.000 | 12.000 | 1.650.000 | 0.7 | 99.3 |
| 33 | +++ | 133.100 | 2.400 | 130.700 | 1.8 | 98.2 |
| 34 | ++ | 200.000 | 14.000 | 186.000 | 7.0 | 93.0 |
| 35 | +++ | 820.000 | - | 820.000 | 0 | 100 |
| 36 | +++ | 180.000 | 40.000 | 140.000 | 22.2 | 77.8 |
| 37 | ++ | 44.100 | 1.100 | 43.000 | 2.5 | 97.5 |
| 38 | ++++ | 600.000 | - | 600.000 | 0 | 100 |
| 39 | +++ | 88.200 | 6.200 | 82.000 | 7.1 | 92.9 |
| Média de 19 animais | - | 510.063 | 11.394 | 498.669 | 2.3 | 97.7 |

Tabela III – Grupo Flagyl total e porcentagem de bactérias viáveis

| Ratos Nº | Grau de Infecção | Total de Viáveis | Facultativas | Anaeróbias | Facultativas % | Anaeróbias % |
|----------------------------|------------------|------------------|----------------|---------------|----------------|--------------|
| 00 | + | 280.000 | 180.000 | 100.000 | 64.2 | 35.8 |
| 01 | + | 12.200 | 6.200 | 6.200 | 50.8 | 49.2 |
| 02 | + | 105.000 | 105.000 | | 100 | 0 |
| 03 | ++ | 310.000 | 270.000 | 40.000 | 87.1 | 12.9 |
| 05 | + | 140.000 | 110.000 | 30.000 | 78.5 | 21.5 |
| 08 | + | 165.000 | 90.000 | 75.000 | 54.5 | 45.5 |
| 09 | + | 285.000 | 180.000 | 105.000 | 63.2 | 36.8 |
| 10 | + | 400.000 | 280.000 | 120.000 | 70.0 | 30 |
| 12 | + | 160.000 | 160.000 | - | 100 | 0 |
| 14 | + | 400.000 | 320.000 | 80.000 | 80 | 20 |
| 15 | ++ | 209.400 | 209.400 | - | 100 | 0 |
| Média de 11 animais | - | 224.236 | 173.690 | 50.546 | 77.5 | 22,5 |

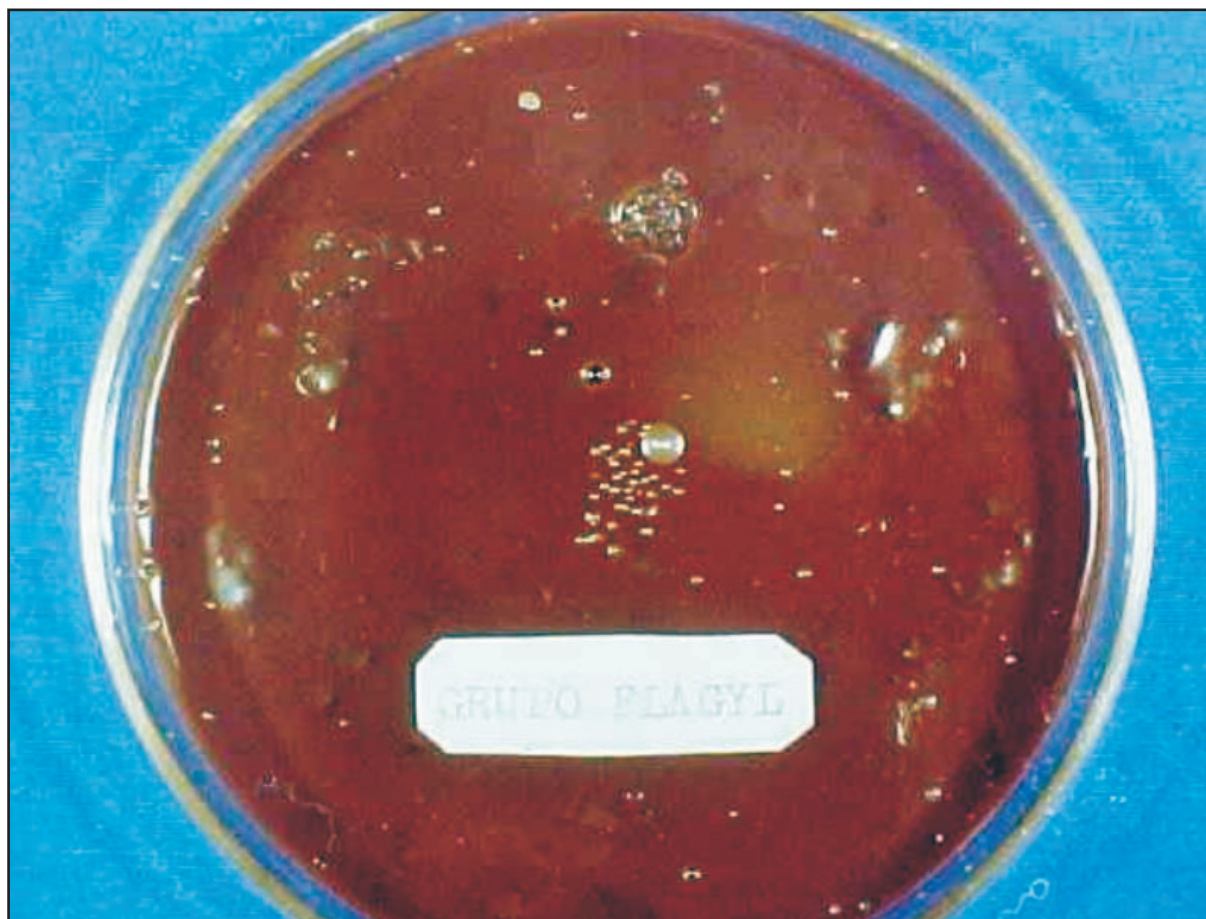


Fig.2 - Cultura em anaerobiose da secreção purulenta dos animais do Grupo Flagyl. Redução considerável dos anaeróbios.

No grupo controle a média u.f.c. para os anaeróbicos foi de 498 x 102 enquanto os facultativos apresentaram uma média de 11 x 102. Por outro lado, no grupo Flagyl as culturas apresentaram uma média de u.f.c. de 50 x 102 para as anaeróbias e 173 x 102 para os facultativos (Tabelas II e III).

No grupo controle, das 19 amostras encubadas, todas apresentaram crescimento em GASPAC, e em chama de vela apenas três não apresentaram crescimento. No grupo Flagyl, três amostras não apresentaram crescimento em anaerobiose e todas cresceram em chama de vela. As amostras do grupo Flagyl incubadas em anaerobiose apresentaram sempre menor número de u.f.c. (Fig. 1 e 2).

As placas de RCASHK que foram incubadas a 37°C por seis dias em anaerobiose apresentaram quatro tipos morfológicos de colônias. Um tipo ocorreu em 46,6% das culturas sendo em maior número no controle, era circular medindo de 1 a 2mm de diâmetro, branco fosco acinzentado, não apresentavam hemólise, sensível ao oxigênio, e o teste de peroxidase em lâmina foi sempre negativo na coloração de Gram predominavam formas bizarras tipo esferoplastos Gram negativos. Mesmo em culturas de três dias estas bactérias apresentavam ainda formas esferóides apesar de possuírem um contorno mais nítido. Estas cepas foram submetidas a teste de sensibilidade a antibióticos apresentando o seguinte padrão: resistência à penicilina e vancomicina e sensíveis à clindamicina cloranfenicol e tetraciclina. Este tipo morfológico foi classificado como Bacteroides presuntivamente *B. fragilis*.

Outro biotipo que ocorreu em proporção percentual de 20%, na coloração de Gram apresentou-se como cocos esféricos Gram positivos formando cachos pequenos. Prova da catalase em lâmina, positiva, coagulase negativa, facultativo quanto ao oxigênio. Presuntivamente classificado como *Staphylococcus* sp muito provavelmente o *S. epidermidis*.

Em 33,3% das culturas foram isoladas outro morfotipo colonial que na coloração de Gram apresentavam-se de forma esférica, ou ligeiramente ovalada, Gram positivo geralmente em pares às vezes formando cordões pequenos, colônias pequenas (1 a 2mm de diâmetro), crescimento apenas em anaerobiose, catalase negativa. Este morfotipo foi classificado como *Peptostreptococcus* sp presuntivamente *P. anaerobius*.

Foram isolados ainda mais dois morfotipos coloniais que pela reação tintorial eram bacilos Gram negativos

grandes. Porém por sua ocorrência percentual ter sido muito pequena, ambas ocorreram em apenas um animal, não foi levada em consideração quanto à etiologia da alveolite.

Discussão

Muito embora os animais dos dois grupos experimentais, do presente trabalho, tenham sido submetidos à mesma metodologia empregada por D'Antonio (1984) na qual se obteve 100% de alveolite, notamos na tabela I que o emprego do metronidazol reduz sua incidência em 40%. Este fato demonstra que o metronidazol, que já é utilizado no tratamento de infecções pós-exodônticas (Alveolite, Dry Socket), Rood & Danford (1981), pelos resultados aqui apresentados demonstra atuar também na prevenção da mesma.

O grau de severidade da alveolite no grupo controle, atingindo o índice de (++++) , juntamente com o número de u.f.c. maior em condições anaeróbicas, mostra a importância das bactérias anaeróbicas como fator desencadeante na alveolite dos animais experimentais, concordando com os resultados de D'Antonio (1984). A redução do grau de severidade das alveolites nos animais do grupo Flagyl, sendo neste grupo o índice máximo de (++) , bem como a diminuição do número de bactérias anaeróbicas e o predomínio das facultativas invertendo o resultado obtido no grupo controle, reforça o papel dos anaeróbicos na implantação da alveolite, principalmente a de grau de severidade maior, e sua presença impede em grande parte a instalação das facultativas. A diminuição das anaeróbias observadas no grupo Flagyl pelo uso do metronidazol, favorece a implantação das facultativas e aeróbias cuja virulência é bem menor, determinando o aparecimento com grau de severidade menor. Esta mudança na composição qualitativa da flora diminuindo o número de anaeróbios pelo uso do metronidazol, está de acordo com os trabalhos de Heijl e Lindhe (1982) e Lindhe et al. (1983).

O resultado do exame bacteriológico revelou predominância de uma cepa presuntivamente classificada como *Bacteroides fragilis*, porém esta cepa não foi encontrada em 100% dos animais do grupo controle como era de se esperar, isso provavelmente se deva ao fato de ser uma bactéria anaeróbica estrita e por problemas de ordem técnica como a de não ter utilizado meio pré-reduzido e glove box, não foi possível manter a mesma em condições viáveis para sua recupera-

ção. No grupo Flagyl sua baixa ocorrência é explicada pela ação seletiva do metronidazol sobre os anaeróbios que além de diminuir em número determinou também uma diminuição percentual desta cepa em relação ao grupo controle. Muito embora os problemas técnicos para manutenção de viabilidade das mesmas fossem iguais em ambos os grupos, essa diferença reforça a participação da mesma no desencadeamento da alveolite bem como no agravamento do grau de severidade observada no exame clínico e comprovada na análise histológica. As demais cepas puras anaeróbias isoladas estão de acordo com os resultados bacteriológicos de D'Antonio (1984).

Conclusão

Baseados nos resultados do presente trabalho pode-se concluir que:

- o metronidazol na concentração de 1mg por ml reduz em 40% a alveolite nos animais experimentais;
- o metronidazol modifica a qualidade de microbiota na alveolite dos ratos no presente trabalho;
- as bactérias anaeróbicas determinam maior grau de severidade nas alveolites dos animais experimentais;
- o metronidazol usado preventivamente na clínica odontológica diminuiria ainda mais a incidência das alveolites principalmente onde infecções predisponentes como pericoronarite, (rica em anaeróbicos), estejam presentes;
- trabalhos com concentrações maiores de metronidazol são necessários para estudar a efetividade contra as bactérias anaeróbicas.

Referências

ALLENSPACH-PETZILKA, G.E.; GUGGENHEIM, B. Bacteroides melaninogenicus ss. intermedium invasion of rat gingival tissue. **J. Periodont. Res.**, 17: 456-9, 1982.

AWANG, M.N. The aetiology of dry socket. **A review. Int. Dent. J.**, 39: 236-240, 1989.

BIRN, H. Bacteria and fibrinolytic activity in "Dry Socket". **Acta odont. scand.**, 28: 773-83, 1970.

BIRN, H. Fibrinolytic activity of alveolar bone in "Dry Socket". **Acta odont. scand.**, 30: 23-32, 1972.

BIRN, H. Etiology and pathogenesis of fibrinolytic alveolitis ("dry socket"). **Int. J. Oral Surg.**, 2:211-63, 1973.

BROWN, L.R.; MERRIL, S.S.; ALLEN, R.S. Microbiologia study of intraoral wounds. **J. Oral Surg.**, 28: 89-95, 1970.

BUTLER, D.P.; SWEET, J.B. Effect of lavage on the incidence of localized osteitis in mandibular third molar extraction sites. **Oral Surg.**, 44(1): 14-20, 1977.

D'ANTONIO, G.M. Contaminação pós-exodôntica do alvéolo dental de ratos. Estudo microbiológico e histológico. 1984. Tese (Doutorado em Microbiologia). Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP. Araçatuba, 1984.

DORNBUSCH, K.; NORD, C.E.; OLSSON-LILJEQVIST. Antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria with special reference to Bacteroides fragilis. **Scand. J. Infect. Dis. suppl.**, 19: 17-25, 1979.

FRANSEN, E.V.G.; SANDER, L.; ARNBJERG, D.; THEILADE, E. Effect of local metronidazole application on periodontal healing following guided tissue regeneration. Microbiological findings. **J. Periodontol.**, 64 (10):921-928, 1994.

GOLDMAN, D.R.; PANZER, J.D.; ATKINSON, W.H. Prevention of dry socket by local application of lincomycin in Gelfoam. **Oral Surg.**, 35(4): 472-4, 1973.

GONÇALVES, R.J. Alveolites. Tratamento preventivo e curativo. **Bol. Fac. Odont. Piracicaba**, (UEC), (40):1-13, 1970.

GREENSTEIN, G. The role of metronidazole in the treatment of periodontal diseases. **J. Periodontol.**, 64(1):1-15, 1993.

HEIJL, L.; LINDE, J. The effect of metronidazole on established gingivitis and plaque in beagles dogs. **J. Periodontol.**, 53: 180-7, 1982.

- KASTELEIN, P.; VAN STEEMBERGEN, T.J.M.; BRAS, J.M.; DE GRAAFF, J. An experimentally induced phlegmonous abscess by a strain of *Bacteroides gingivalis* in guinea pigs and mice. **Antonie Van Leeuwenhoek**, 47:1-9, 1981.
- LEKOVIC, V.; KENNEY, E.B.; CARRANZA, Jr. F.A.; ENDRES, B. The effect of metronidazole on human periodontal disease. **J. Periodontol.**, 54(8):476-80, 1983.
- LINDHE, J.; LILJENBERG, B.; ADIELSON, B.; BORJESSON, I. Use of metronidazole as a probe in the study of human periodontal disease. **J. clin. Periodontol.**, 10:100-12, 1983.
- LOESCHE, W. J.; GIORDANO, J. R.; HUJOEL, P. SCHWARCZ, J. ; SMITH, B. A. Metronidazole in periodontitis: reduced need for surgery. **J. Clin. Periodontol.** 19:103-12, 1992.
- LOESCH, W.J.; SYED, S.A.; MORRISON, E.C.; LAUGHON, B.; GROSSMAN, N.S. Treatment of periodontal infections due to anaerobic bacteria with short-term treatment with metronidazole. **J. clin. Periodontol.**, 8: 29-44, 1981.
- MACGREGOR, A.J.; HART, P. Bacteria of the extraction wound. **J. oral surg.**, 28(12): 885-7, 1970.
- MATUSOW, R.J.; GOODALL, L.B. Anaerobic isolates in primary pulpal-alveolar cellulitis cases: Endodontic resolutions and drug therapy consideration. **J. Endod.**, 9(12): 535-43, 1983.
- OKAMOTO, T. Estudo histoquímico da reatividade do tecido conjuntivo alveolar após extrações dentais. 1964. Tese (Doutorado em Cirurgia Bucal) - Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP, Araçatuba. 1964.
- ROOD, J.P.; DANFORD, M. Metronidazole in the treatment of dry socket. **Int. J. oral surg.**, 10: 345-7, 1981.
- SANDER, L.; FRANSEN, E. V. G.; ARNBJERG, D.; WARREN, K.; KARRING, T. Effect of local metronidazole application on periodontol following guided tissue regeneration, clinical findings. **J. Periodontol.**, 65(10): 914-920, 1994.
- SASAKI, T. Tratamento local de infecção de alvéolo dental após exodontia. Tese (Doutorado em Cirurgia Bucal) - Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, Araçatuba, 1966.
- SASAKI, T. ; OKAMOTO, T. - Tratamento local das infecções do alvéolo dental após exodontia. **Rev. bras. Odont.**, 25(150): 82-92, 1968.
- SLOTS, J. Subgingival microflora and periodontal disease. **J. clin. Periodont.**, 6: 351-82, 1979.
- SOCRANSKY, S.S. ; GIBBONS, R.J. Required role of *Bacteroides melaninogenicus* in mixed anaerobic infections. **J. Infect. Dis.**, 115: 247-53, 1965.
- SUNDQVIST, G. Bacterial studies of necrotic dental pulps. Umea, Sweden, University of Umea, 1976 (thesis). In. SUNDQVIST, G. ; JOHANSSON, E. - Neutrophil chemotaxis induced by anaerobic bacteria isolated from necrotic dental pulps. **Scand. J. dent. Res.**, 88: 113-21, 1980.
- SUNDQVIST, G.; ECKERBOM, M.I.; LARSSON, A.P.; SJOGREN, U.T. Capacity of anaerobic bacteria from necrotic dental pulps to induce purulent infection. **Infect. Immun.**, 25: 685-93, 1979.
- TAKAZOE, I.; TANAKA, M.; HOMMA, T. A pathogenic strain of *Bacteroides melaninogenicus*. **Archs oral Biol.**, 16:817-22, 1971.
- VAN DER WIJL KORSTANJE, J.A.A. - Bifidobacterien en entero cocen in de darmflora van de mens. 1973. Tese (Doutorado) - Universidade de Utrecht. Utrecht, Holanda. 1973..
- VAN PALESNTEIN HELDERMAN, W.H. Bacteria and enzymes in the gingival crevice and gingivitis. 1975. Tese (Doutorado) - Universidade de Utrecht. Utrecht, Holanda. 1975.
- WARNER, J.F.; PERKINS, R.L.; CORDEIRO, L. Metronidazole therapy of anaerobic bacteremia, meningitis and brain abscess. **Arch. int. Med.**, 139:167-9, 1979.