

Metronidazol: Mecanismos de ação sobre anaeróbios e fatores envolvidos na resistência adquirida

Metronidazole: Mechanisms of action on anaerobes and factors involved in acquired resistance

Metronidazol: Mecanismos de acción sobre anaerobios y factores implicados en la resistencia adquirida

Recebido: 04/01/2025 | Revisado: 07/01/2025 | Aceitado: 07/01/2025 | Publicado: 11/01/2025

Nathalia Galvão Schneidereit¹

ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-4129-0010>

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Brasil

E-mail: nathalia.schneidereit@unesp.br

Ana Claudia Okamoto¹

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8594-9754>

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Brasil

E-mail: ana.okamoto@unesp.br

Robson Varlei Ranieri¹

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-8803-0995>

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Brasil

E-mail: robson.ranieri@unesp.br

Ellen Cristina Gaetti Jardim²

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2471-465X>

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: ellen.jardim@ufms.br

Elerson Gaetti Jardim Junior¹

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6568-7734>

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Brasil

E-mail: gaettijardim@gmail.com

Resumo

As infecções anaeróbias constituem a maioria das enfermidades de cabeça e pescoço e sua etiologia é mista. Embora seus agentes etiológicos sejam considerados de baixa virulência, suas populações são elevadas e, em casos especiais, podem levar ao desenvolvimento de sepse e infecções que podem comprometer o paciente. O metronidazol é considerado o quimioterápico antianaeróbios por excelência, mas seu tempo de emprego clínico já se estende por mais de sessenta anos, de forma que a resistência a essa droga pode limitar seu uso. O objetivo desse estudo foi discutir o mecanismo de ação do metronidazol e o impacto da resistência aos nitroimidazóis, evidenciando os aspectos capazes de condicionar o seu uso clínico. Através de revisão da literatura, verificou-se que a ação inibitória dessa droga depende da redução do seu grupo nitro, ativando-a e permitindo que ela interaja com o DNA microbiano, fragmentando-o. Por outro lado, a resistência a esse agente pode ser natural ou adquirida, quando surge como consequência de mutações ou transferência de genes de resistência. Evidencia-se que a maioria dos gêneros Gram-negativos anaeróbios de boca são susceptíveis aos nitroimidazóis, o passo que os microrganismos Gram-positivos anaeróbios apresentariam susceptibilidade variada e os anaeróbios facultativos e aeróbios seriam, a priori, resistentes.

Palavras-chave: Periodontite; Saúde bucal; Bactérias anaeróbias; Metronidazol; Resistência microbiana a medicamentos.

Abstract

Anaerobic infections account for most head and neck diseases and their etiology is mixed. Although their etiological agents generally present low virulence, their populations are high and, in special cases, they can lead to the development of sepsis and infections that can compromise the patient. Metronidazole is considered the antianaerobic chemotherapy agent par excellence, but its clinical use has been extended for more than sixty years, so the resistance to this drug can limit its use. The objective of this study was to discuss the mechanism of action of metronidazole and the impact of resistance to nitroimidazoles, to illustrate the aspects capable of conditioning its clinical use. Through a review of the literature, it was found that the inhibitory action of this drug depends on the reduction of its nitro group, which allows it to interact with microbial DNA, fragmenting it. On the other hand, resistance to this agent can be natural or acquired,

¹ Faculdade de Odontologia de Araçatuba - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Brasil.

² Faculdade de Odontologia - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil.

when it arises as a consequence of mutations or transfer of resistance genes. It is evident that most anaerobic Gram-negative oral microorganisms are susceptible to nitroimidazoles, whereas anaerobic Gram-positive microorganisms present varied susceptibility and facultative anaerobes and aerobes are, a priori, resistant.

Keywords: Periodontitis; Oral health; Bacteria anaerobic; Metronidazole; Drug resistance microbial.

Resumen

Las infecciones anaerobias constituyen la mayoría de las enfermedades de cabeza y cuello y su etiología es mixta. Aunque sus agentes etiológicos se consideran de baja virulencia, sus poblaciones son elevadas y, en casos especiales, pueden provocar el desarrollo de sepsis e infecciones que pueden comprometer al paciente. El metronidazol es considerado el agente quimioterapéutico antianaeróbico por excelencia, pero su uso clínico se remonta a más de sesenta años, por lo que la resistencia a este fármaco puede limitar su uso. El objetivo de este estudio fue discutir el mecanismo de acción del metronidazol y el impacto de la resistencia a los nitroimidazoles, destacando los aspectos capaces de condicionar su uso clínico. A través de una revisión de la literatura se encontró que la acción inhibitoria de este fármaco depende de la reducción de su grupo nitro, activándolo y permitiéndole interactuar con el ADN microbiano, fragmentándolo. Por otro lado, la resistencia a este agente puede ser natural o adquirida, cuando surge como consecuencia de mutaciones o transferencia de genes de resistencia. Es evidente que la mayoría de los géneros anaerobios orales Gram negativos son susceptibles a los nitroimidazoles, mientras que los microorganismos anaerobios Gram positivos presentarían susceptibilidad variable y los anaerobios facultativos y aerobios serían, a priori, resistentes.

Palabras clave: Periodontitis; Salud bucal; Bacterias anaeróbicas; Metronidazol; Resistencia microbiana a medicamentos.

1. Introdução

As bactérias anaeróbicas constituem o componente microbiano mais relevante da microbiota humana e animal, tanto da pele quanto das membranas mucosas, além de compor parte dos mecanismos de defesa inespecíficos, onde atua de forma antifibrótica, ora protegendo contra microrganismos exógenos, embora possa afetar negativamente pacientes com imunocomprometimento e/ou rompimento da integridade das barreiras mucosas (Faria et al., 2023). Nesse sentido, desequilíbrios nessa microbiota podem levar ao desenvolvimento de infecções endógenas graves, como a celulite facial, angina de Ludwig, infecções peritoneais e necrosantes, cujo tratamento, por vezes, se faz através de drogas antimicrobianas capazes de inibir seletivamente os microrganismos anaeróbicos ali presentes em quadros polimicrobianos (Faria et al., 2023; Gaetti-Jardim et al., 2010; Gomes et al., 2011; Shimura et al., 2019; Tran et al., 2013).

Dentre esses microrganismos destacam-se os bastonetes Gram-negativos dos gêneros *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Bilophila*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Treponema*, *Fusobacterium* e *Selenomonas*, muitos dos quais produtores de enzimas capazes de degradar beta-lactâmicos e outros antimicrobianos de primeira escolha em Medicina e Odontologia (Brook, 2024; Pence et al., 2019), mas sensíveis aos nitroimidazóis, como o metronidazol (Gil-Tomás et al., 2018; Gomes et al., 2011; Shimura et al., 2019; Tran et al., 2013).

O metronidazol pertence ao grupo dos nitroimidazóis e foi introduzido na década de 1950, principalmente para o tratamento de infecções por protozoários flagelados anaeróbicos, mas logo se mostrou capaz de atuar sobre uma ampla gama de patógenos anaeróbicos obrigatórios e mesmo alguns anaeróbicos facultativos e microaerófilos (Boyanova et al., 2015; Johnson, 1993). A importância desse fármaco para saúde humana é reforçada pela Organização Mundial de Saúde-WHO, que o considera como parte integrante da lista de drogas essenciais.

Entretanto, as infecções anaeróbicas são geralmente mistas em sua natureza (Dubreuil et al., 2024) e mesmo aquelas em que os microrganismos Gram-negativos predominam largamente, como as periodontites e as celulites faciais (Dubreuil et al., 2024; Nix et al., 2024), é notória a participação de bactérias Gram-positivas anaeróbicas obrigatórias e mesmo grupos microbianos anaeróbicos facultativos, tornando a seleção empírica de antimicrobianos muito mais complexa. Entre as bactérias anaeróbicas Gram-positivas destacam-se os gêneros *Anaerococcus*, *Parvimonas*, *Peptostreptococcus* e *Clostridium*, além de bastonetes não formadores de esporos (Alauzet et al., 2019; Löfmark et al., 2010; López-Pintor et al., 2021). Muitos desses anaeróbicos Gram-positivos, como os clostrídios, podem ser encontrados no solo, água e na microbiota normal humana e animal e, não raro, se

mostram resistentes ou tolerantes aos nitroimidazóis, possuindo marcadores de resistência a essas drogas (Nikaeen et al., 2015; Pence et al., 2019).

Essa perpetuação ambiental de microrganismos resistentes ao metronidazol é de suma importância para saúde humana e animal, uma vez que esse fármaco vem sendo empregado rotineiramente há 60 anos (Löfmark et al., 2010; Reissier et al., 2023) e entre 60% e 80% da droga ingerida são excretados nas fezes e, principalmente, urina, sem o metabolismo natural hepático ou extra-hepático, o que associado com sua grande estabilidade química (Zhao et al., 2022) contribui para que concentrações significativas desse agente se acumule no ambiente.

A efetividade dessa droga sobre anaeróbios obrigatórios, particularmente frente aos bastonetes Gram-negativos da microbiota normal humana ou associados às infecções intra-abdominais, genitais e bucais (Baumgartner & Xia, 2002; Bhat et al., 2021; Boyanova et al., 2015; Gomes et al., 2011; Lucamba et al., 2024; Petrina et al., 2017; Shimura et al., 2019), fez com que esse agente antimicrobiano viesse a ser a segunda droga mais utilizada em Odontologia, com elevado emprego diante de infecções periodontais necrosantes, agressivas ou mais avançadas (Löfmark et al., 2010; Poulet et al., 1999) além de outros quadros infecciosos envolvendo tecidos moles e tecidos ósseos na região de cabeça e pescoço (Lucamba et al., 2024). Em quadros sépticos mais graves, com risco de óbito por septicemia, o emprego do metronidazol é frequentemente associado a outros fármacos, notadamente as penicilinas, ceftriaxone, clindamicina e, ocasionalmente, aminoglicosídeos (Anyiam & Okelue, 2023; Brook, 2024; Lucamba et al., 2024).

Dessa forma, para muitos laboratórios de análises clínicas tornou-se um contrassenso falar de resistência adquirida ao metronidazol entre anaeróbios obrigatórios, uma vez que, para muitos desses mesmos laboratórios, anaeróbio é todo e qualquer microrganismo cujo crescimento pode ser inibido pela presença desse fármaco.

Em virtude de sua mobilidade e proeminência, as fraturas mandibulares são fortemente afetadas nos traumas de face. Quando associado a higiene oral insatisfatória e acúmulo de biofilme, da doença periodontal, o tratamento torna-se desafiador, em virtude também da instabilidade oclusal e a perda dos movimentos exclusivos da mandíbula. As fraturas mandibulares, recebem tratamento medicamentoso e cirúrgico e estão entre as mais comuns nas fraturas faciais, sobretudo as fraturas do arcabouço condilar.

Deste modo, o emprego clínico também foi potencializado pela segurança bastante favorável do metronidazol, com poucos efeitos colaterais importantes, além de apresentar formulações bastante variadas, desde modalidades tópicas empregadas em formulações para tratamento de vaginose bacterianas e periodontites, até formulações para uso parenteral e por via oral (Freeman et al., 1997). O metronidazol é capaz de produzir náuseas, vômitos, dores abdominais, quadros de diarreia e cefaleia, modificação do paladar (levando ao desenvolvimento de um gosto metálico) e pode potencializar também o efeito do álcool em alguns pacientes. Desde controle do biofilme até coadjuvante nos tratamentos dos traumas de face, o uso desta droga apresenta grande capacidade em atuar de forma sinérgica com outros fármacos amplamente utilizados, destacando-se as drogas β -lactâmicas, macrolídeos, rifampicina e lincosamidas nesse processo.

O objetivo principal desse estudo foi discutir, em perspectiva, o mecanismo de ação do metronidazol e as bases moleculares de sua atividade sobre a fisiologia dos microrganismos anaeróbios obrigatórios, bem como a importância do fenômeno de resistência e os diferentes marcadores genéticos ligados à resistência adquirida, capazes de condicionar o emprego clínico desse fármaco.

2. Metodologia

Foi realizada uma Revisão Narrativa da Literatura (Mattos, 2015; Rother, 2007; Casarin et al., 2020). As pesquisas foram feitas nas bases de dados do Google Acadêmico, Pubmed e Bireme, nos idiomas português, inglês e espanhol, e os termos

iniciais de busca foram: periodontite; saúde bucal; bactérias anaeróbias; metronidazol, resistência microbiana a medicamentos. Em seguida, selecionaram-se os artigos considerados interessantes que são apresentados na seção seguinte de “Resultados”.

3. Resultados

Mecanismo e espectro de ação do metronidazol

O metronidazol é um nitroimidazol derivado sintético da azomicina, uma droga inicialmente isolada a partir de estreptomicetos do solo (Dingsdag & Hunter, 2018). A toxicidade seletiva do metronidazol sobre bactérias e protozoários anaeróbios é influenciada pelas condições redox do ambiente e pela composição das proteínas de transporte de elétrons presentes no metabolismo celular (Zhao et al., 2022).

O metronidazol penetra nas células bacterianas por difusão simples, um processo passivo, mas pela ação da enzima nitrorredutase ocorre um grande acúmulo desse fármaco no interior celular, embora em sua forma inativa (Alauzet et al., 2019). Desde que essa enzima também tem sido detectada em espécies anaeróbias facultativas resistentes, como as enterobactérias, sua presença pode não ser uma condição tão relevante para a sensibilidade microbiana. Assim, a penetração celular não está associada diretamente à atividade inibitória desse quimioterápico uma vez que o que se acumula no citoplasma é uma molécula pouco reativa (Alauzet et al., 2019; Narikawa, 1986).

Entretanto, quando o grupamento nitro da droga sofre redução (ganho de elétrons) pela ação da enzima piruvato ferredoxina oxidoreductase, o metronidazol adquire grande reatividade química, podendo interagir com moléculas consideradas bastante estáveis na célula, em particular o DNA, onde passa a intercalar a estrutura de dupla fita do ds-DNA (Smith; Edwards, 1995). Essa redução do grupo nitro da molécula de 5-nitroimidazol depende da ferredoxina ou da flavodoxina como agentes redutores do átomo de nitrogênio, em função de sua elevada eletronegatividade e eletroafinidade, o que colabora para criar o gradiente de concentração através da membrana celular que permite o aumento progressivo das concentrações da droga no compartimento intracelular, mas agora essa droga se mostra ativa (Edwards, 1993).

A redução do grupo nitro da molécula de metronidazol acaba por gerar intermediários altamente reativos capazes de interagir com proteínas, estruturas membranosas das células eucarióticas (protozoários anaeróbios) ou procarióticas (bactérias anaeróbias) e, principalmente, ácido desoxirribonucleico (Alauzet et al., 2019; Jenks & Edwards, 2002; Nix et al., 2024). Uma vez ativado, o metronidazol interage com a dupla fita do DNA do anaeróbio, impedindo a duplicação do cromossomo celular (único ou, como ocorre em alguns protozoários anaeróbios, múltiplos), além de levar à ativação de endonucleases de restrição capazes de produzir fragmentação cromossômica (Alauzet et al., 2019).

Como mencionado acima, embora a penetração do metronidazol na célula bacteriana ou nos protozoários anaeróbios se dê por difusão passiva ou espontânea, sua conversão ou ativação por enzimas como a piruvato ferredoxina óxido-redutase e outras redutases acaba por criar um gradiente de concentração capaz de permitir que esses derivados altamente reativos atinjam concentrações duas a três vezes mais elevadas no ambiente intracelular (Jenks & Edwards, 2002; Johnson, 1993) e como a presença de oxigênio molecular impede a transferência de elétrons para os nitroimidazóis, tal fenômeno não ocorre no interior das células humanas altamente oxidadas, ou mesmo no interior de organismos procariotos aeróbios ou anaeróbios facultativos, que se comportariam como naturalmente resistentes aos nitroimidazóis. Essa resistência natural é pouco relevante na utilização clínica do metronidazol, uma vez que ela é previsível e determina o espectro de ação do fármaco.

Assim, como parte dos mecanismos que geram a segurança do uso clínico desse fármaco, a conversão do metronidazol em seus derivados altamente reativos depende de condições redox negativas, de forma que a presença de oxigênio previne a formação desses radicais e, por conseguinte, ação da droga sobre os cromossomos humanos ou a formação de ânion superóxido, fenômeno que se dá em condições de reduzida tensão de agentes oxidantes e responsável por exercer certa atividade

antimicrobiana em algumas espécies capnofílicas ou anaeróbias facultativas que deveriam ser resistentes aos nitroimidazóis (Jenks & Edwards, 2002).

Em função do processo de conversão-inativação-reconversão do metronidazol em derivados, com a consequente formação de radicais oxidativos de oxigênio, esse fármaco também pode ser utilizado, mesmo que ocasionalmente, no tratamento de infecções ligadas a microrganismos não anaeróbios obrigatórios, particularmente microaerófilos, capnofílicos ou anaeróbios facultativos (Brook, 2024), como ocorre nas abordagens para a erradicação do *Helicobacter pylori* da mucosa gástrica, onde metronidazol pode ser empregado em associação a inibidores da bomba de prótons, amoxicilina ou macrolídeos, como a claritromicina (Löfmark et al., 2010). Entretanto, essa abordagem terapêutica pode ser temerária, uma vez que a frequência de linhagens de *H. pylori* resistentes aos nitroimidazóis varia amplamente, por vezes acima de 70% (Jenks & Edwards, 2002).

Tendo em vista que parte dessas enzimas utilizadas na conversão ou ativação desses fármacos exerce um papel extremamente relevante no metabolismo primário dos principais grupos microbianos anaeróbios (Alauzet et al., 2019), o fenótipo de resistência plenamente caracterizado entre esses microrganismos ainda é relativamente Raro, embora a redução da sensibilidade microbiana venha sendo continuamente caracterizada, mesmo para espécies quase universalmente sensíveis a esse fármaco até há poucos anos (Tran et al., 2013; Yunoki et al., 2017).

De acordo com o perfil de susceptibilidade, segundo os critérios do CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute, 2017), isolados anaeróbios cuja concentração inibitória mínima de metronidazol for igual ou inferior a 8 µg/mL podem ser considerados sensíveis; aqueles para a qual a concentração inibitória mínima for igual a 16 µg/mL são considerados de sensibilidade intermediária, o que na prática traduz que seu uso clínico provavelmente não produziria os resultados terapêuticos pretendidos, uma vez que aspectos da farmacodinâmica e farmacocinética interferiam na atividade inibitória da droga; os isolados para a qual a concentração inibitória mínima do metronidazol for igual ou superior a 32 µg/mL podem ser considerados resistentes e, geralmente, apresentam diferentes processos capazes de reduzir a concentração de derivados desse agente químico no interior da célula bacteriana anaeróbia ou facilitar a excreção dos agentes ativos.

No que concerne às infecções de cabeça e pescoço de origem odontogênicas, como os abscessos dentais, a quase totalidade das espécies e linhagens microbianas anaeróbias obrigatórias mostra-se sensível ao metronidazol (Gomes et al., 2011), sendo que associação dessa droga com agentes β-lactâmicos, em particular amoxicilina e a fenoximetilpenicilina (penicilina V) mostram intensa atividade sobre microrganismos de sensibilidade intermediária aos nitroimidazóis, como ocorre com os capnofílicos e microaerófilos (Baumgartner & Xia, 2002; Bhat et al., 2021; Löfmark et al., 2010).

Nessas infecções, a resistência a esse fármaco está muito mais concentrada nas bactérias facultativas, que são abundantes nas infecções do sistema de canais, o que reduz a possibilidade de utilização do metronidazol como monoterapia medicamentosa (Baumgartner & Xia, 2002), mas são raras em infecções estritamente periodontais (Kuriyama et al., 2007; Poulet et al., 1999; Soares et al., 2012; Tomás et al., 2007), embora com tendência de aumento significativo no século XXI (Hazim et al., 2020). Esses quadros tornam-se principalmente preocupantes no caso de atendimento de pacientes com infecções anaeróbias de atendimento hospitalar (Rugarabamu, 2017), onde os padrões de susceptibilidades são significativamente menos favoráveis do que os descritos para as infecções de atendimento ambulatorial.

O emprego clínico do metronidazol em odontologia

A avaliação pormenorizada do emprego clínico do metronidazol não faz parte dos objetivos do presente estudo, uma vez que exigiria um aprofundamento específico, deixando de discutir os demais aspectos. Assim, optou-se por descrever as condições mais adequadas para o uso clínico adequado dessa droga, considerando-se a etiologia das infecções de cabeça e pescoço, bem as necessidades terapêuticas gerais do paciente odontológico, que por vezes apresenta diferentes comorbidades (Brook, 2024).

O espectro de ação do metronidazol acaba por direcionar seu uso para o tratamento das infecções cuja etiologia está direta ou indiretamente associada ao biofilme subgengival e ao conteúdo microbiano das infecções que atingem o complexo dentinopulpar (Brook 2024; Reissier et al., 2023). Assim, esse fármaco é considerado droga de primeira escolha em casos de gengivite e periodontite necrosantes, pericoronarites, alveolite supurativa, peri-implantite, abscesso periapical e demais infecções anaeróbias, por vezes associado com outras drogas, notadamente os antibióticos β -lactâmicos (Abdullah et al., 2024). Além dessa notável ação sobre anaeróbios Gram-negativos, o metronidazol ainda apresenta capacidade moduladora anti-inflamatória, diminuindo a adesão de leucócitos, a imunidade inata e a atividade de linfócitos T4 e sua produção de interleucinas, além de exacerbar o reparo tecidual (Suárez et al., 2024).

Em odontologia, o metronidazol pode cooperar no tratamento de quadros de celulite facial, angina de Ludwig, doenças periodontais necrosantes, periodontite crônica avançada e periodontite agressiva, enfermidades nas quais mais de 90% da microbiota cultivável são formados de microrganismos ainda suscetíveis a esse quimioterápico, mas resistentes a extensa gama de drogas amplamente utilizadas, como os beta-lactâmicos e macrolídeos. Dessa forma, discutir a resistência adquirida ao metronidazol constitui elemento central para a utilização racional desse agente químico e de seus derivados, tanto no seu uso clínico tópico, quanto sistêmico (Beigi et al., 2004; Rams et al., 2023).

O uso tópico dessa droga, quase sempre em veículos lipossolúveis e de interesse nas áreas de periodontia, endodontia e cirurgia, tem pouco ou nenhum efeito sobre a seleção de microrganismos com resistência adquirida (Beigi et al., 2004), em função das elevadas concentrações veiculadas e do tempo de permanência ou compartimentalização, porém o mesmo não possa ser dito do emprego sistêmico, onde comunidades microbianas podem ser expostas a concentrações subinibitórias do antimicrobianos.

Embora o metronidazol deva ser reservado para as infecções anaeróbias mistas, geralmente não constituindo a primeira linha de utilização de drogas antimicrobianas em odontologia, lugar ocupado pelos beta-lactâmicos, não se pode desconsiderar a etiologia polimicrobiana da maioria dos processos infecciosos de cabeça e pescoço, sendo que muitos dos seus agentes etiológicos são pertencentes aos gêneros *Fusobacterium* ou *Prevotella*, reconhecidamente produtores de beta-lactamases (Dubreuil et al., 2024), enzimas capazes de hidrolisar o anel beta-lactâmico e inativar a grande maioria as penicilinas e, particularmente, cefalosporinas de uso ambulatorial (Abdullah et al., 2024; Sherrard et al., 2016). A associação de metronidazol em esquemas terapêuticos com penicilinas ou cefalosporinas objetiva reduzir a seleção de linhagens bacterianas resistentes aos β -lactâmicos pela produção de β -lactamases (Brook, 2024), uma vez que esses patógenos tendem a ser Gram-negativos e mostram elevada sensibilidade aos nitroimidazóis (Abdullah et al., 2024; Bhat et al., 2021; Rams et al., 2011; Rams et al., 2014).

Essa associação com β -lactâmicos de administração oral ou parenteral se pauta na interação sinérgica das drogas, com a ampliação do espectro de ação e redução da seleção de linhagens resistentes, mas deve-se também considerar a possibilidade de interações que venham a agravar possíveis efeitos colaterais (Löfmark et al., 2010; Smith, 2018).

Em função da composição do biofilme subgengival (Vivian & Faith, 2024) e aquele que ocupa os espaços junto ao capuz pericoronário de dentes parcialmente irrompidos, o emprego de β -lactâmicos/metronidazol como antibioticoterapia profilática para prevenção de quadros sépticos em cirurgias orais menores torna-se viável, particularmente quando a intervenção cirúrgica se dará sobre tecido previamente afetado por processos infecciosos prévios, como a pericoronarite ao redor de terceiro molares parcialmente erupcionados (Head et al., 1984).

Infelizmente, com a seleção de anaeróbios Gram-negativos, principalmente *Prevotellaceae* e fusobactérias, resistentes ao metronidazol e produtoras de beta-lactamases (Hazim et al., 2020; Pence et al., 2019; Sandoe et al., 2001; Yunoki et al., 2017), a eficiência dessas terapias combinadas tende a ser reduzida com os anos.

Mecanismos de resistência ao metronidazol

A resistência microbiana ao metronidazol pode ser considerada natural, também denominada de intrínseca, ou adquirida. A resistência natural é aquela em que a espécie ou o gênero bacteriano sempre (ou há muito tempo na escala de eras geológicas) se mostrou resistente a esse quimioterápico e isso reflete características básicas do metabolismo microbiano, como seu catabolismo e reações de oxidorredução (respiração celular entre outras). De certa forma, a resistência natural acaba por determinar o espectro de ação do antimicrobiano, uma vez que os resistentes são considerados como pertencentes a grandes táxons (gêneros, famílias e ordens) que não sofrem o efeito inibitório da droga.

No caso do metronidazol, a resistência natural está ligada à ausência das enzimas nitrorredutase, piruvato ferredoxina oxidorredutase e/ou flavodoxina oxidorredutase, como ocorre em anaeróbios facultativos e aeróbios (Elwakil et al., 2017; Shimura et al., 2019). Por outro lado, baixos níveis dessas enzimas estão ligados a reduzida susceptibilidade a esse fármaco, como observado entre os actinomicetos e lactobacilos, bem como entre os gêneros Gram-positivos *Cutibacterium*, *Propionibacterium*, *Bifidobacterium*, que apresentam sensibilidade variada ao oxigênio molecular, e mesmo entre os isolados dos gêneros *Eubacterium*, *Anaerobiospirillum* e *Mobiluncus* que são anaeróbios obrigatórios, sendo os dois últimos Gram-negativos (Alauzet et al., 2019; Dubreuil et al., 2024). Adicionalmente, a redução da atividade da enzima piruvato ferredoxina oxidorredutase e um aumento da ação da enzima lactato desidrogenase podem estar relacionados com natural redução da sensibilidade a esse quimioterápico (Narikawa et al., 1991).

Essa menor sensibilidade natural das bactérias Gram-positivas ao metronidazol representava uma condição conhecida e que pouco interferia com a indicação desse quimioterápico nas infecções periodontais (Dahlen & Preus, 2017), mas essa condição vem se modificando profundamente nos últimos 20 anos, com a emergência de isolados dos gêneros *Veillonella*, *Treponema*, *Porphyromonas*, *Prevotella* e *Fusobacterium*, anaeróbios Gram-negativos, com resistência adquirida a essa droga e com papel primordial no desenvolvimento das periodontites e demais infecções periodontais (Ng et al., 2024; Rams et al., 2023).

Por outro lado, muitos aspectos da fisiologia microbiana que conferem resistência natural aos cocos e bastonetes Gram-positivos anaeróbios obrigatórios ou facultativos podem ser transferidos para microrganismos que outrora eram susceptíveis aos nitroimidazóis, configurando uma resistência adquirida que possui o próprio biofilme como reservatório de resistência potencial (Ng et al., 2024).

Assim, o fenômeno da resistência adquirida aos nitroimidazóis era pouco relevante até anos recentes, quase sempre restrita a microrganismos capnófilicos e microaerófilos (Bhat et al., 2021) de boca e demais mucosas até o início da década de 1980 (Boyanova et al., 2015; Boyanova et al., 2019; Brook, 2024; Johnson, 1993; Pence et al., 2019). Nesse sentido, a diminuição da susceptibilidade ao metronidazol e a caracterização de linhagens anaeróbias com fenótipo de elevada resistência, mesmo em espécies anaeróbias obrigatórias Gram-negativas até então extremamente sensíveis a essa droga, vêm ganhando relevância (Asgarova et al., 2023; Dubreuil et al., 2024 Sethi et al., 2019).

Segundo Alauzet et al. (2019), sete são os principais mecanismos envolvidos na construção do fenótipo de resistência adquirida ao metronidazol:

- 1) Presença de genes *nim*, que codificam redutases que transferem elétrons ao grupo nitro do metronidazol, reduzindo-o a um grupo amino, formando o composto 5-aminoimidazol, que é estável e pouco reativo, ou seja, inativando-o;
- 2) Substituição de vias metabólicas, com a conversão de piruvato em lactato no metabolismo oxidativo, pela ação da enzima lactato desidrogenase de alta afinidade;
- 3) Presença do gene *bmeRABC5* Produção de enzimas de membrana citoplasmática capazes de atuar como bombas de efluxo, que reduzem significativamente as concentrações intracitoplasmáticas da droga;
- 4) Aumento da capacidade de reparo do DNA, ligado às endonucleases celulares;
- 5) Aumento da atividade dos mecanismos antioxidantes da célula pela ação da enzima superóxido dismutase (mecanismo

pouco comum entre anaeróbios obrigatórios de boca), diminuindo a formação de agentes capazes de funcionar no transporte intermediário de elétrons;

6) Alteração do metabolismo do ferro pela deficiência do transportador Fe²⁺- FeoAB;

7) Aumento da expressão das proteínas reguladoras do catabolismo da ramnose, a proteína RhaR

A resistência adquirida aos nitroimidazóis permanece ligada aos gêneros *Bacteroides* e *Clostridium*. Adicionalmente, cocos gram-positivos anaeróbios dos gêneros *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* e *Parvimonas* (Boyanova et al., 2015; Gal; Brazier, 2004; Hansen et al., 2017; Urbán et al., 2015) e, ocasionalmente, aos bastonetes Gram-negativos dos gêneros *Prevotella* e *Fusobacterium* (Cobo et al., 2017; Pence et al., 2019; Senhorinho et al., 2012; Yunoki et al., 2017), podem apresentar resistência. Como agravante, entre as fusobactérias e os cocobacilos do gênero *Prevotella* também são frequentemente associados às infecções periodontais e endodônticas, produzindo e produzem hidrolases capazes de romper a integridade do anel beta-lactâmico de penicilinas e, principalmente, cefalosporinas (Pence et al., 2019). Entretanto, a menor expressão de enzimas como as hidrolases e redutases capazes de ativar o metronidazol em bactérias Gram-positivas sempre constituiu uma limitação para o emprego dessa droga em processos infecciosos anaeróbios ligados a bactérias Gram-positivas (Tran et al., 2013).

A redução na expressão dessas enzimas leva a uma diminuição na concentração dos seus derivados mais reativos, em bactérias anaeróbias Gram-negativas e era pouco conhecida até recentemente (Johnson, 1993). A diminuição da sensibilidade em *Bacteroides fragilis* bem como em outros bastonetes Gram-negativos anaeróbios obrigatórios, como *Prevotella* spp. (Cobo et al., 2017; Senhorinho et al., 2012) e no gênero *Clostridium* (Shimura et al., 2019) mostra correlação parcial com a presença de genes de resistência plasmidiais capazes de serem transferidos por conjugação (Johnson, 1993).

A importância do contato prévio na seleção de linhagens bacterianas resistentes pode ser observada em *Helicobacter pylori*, cuja resistência ao metronidazol atinge 40% entre amostras obtidas de pacientes com lesões gástricas, mas que não receberam tratamento prévio com antimicrobianos, ao passo que esses valores atingem aproximadamente 78% das linhagens isoladas de pacientes submetidos a tratamento antimicrobiano anterior para erradicação desse patógeno (Ducournau et al., 2016).

A capacidade dos derivados do metronidazol em interferir com o metabolismo de ácidos nucleicos, notadamente DNA, faz com que esses agentes apresentem certa capacidade mutagênica, o que poderia explicar por que a frequência de mutações pontuais nos genes que codificam para as enzimas nitrorredutases em *H. pylori* se mostrem relativamente frequentes após a utilização desse quimioterápico (Sisson et al., 2000). Essas enzimas apresentam menor capacidade de ativação dos derivados nitroimidazólicos e, por conseguinte, não permitem que as concentrações desses agentes se mantenham elevadas, reduzindo a sensibilidade microbiana.

Segundo Shimura et al. (2019), a resistência ao metronidazol deve ser caracterizada não apenas através de métodos fenotípicos, como a determinação da concentração inibitória mínima, mas também através de métodos moleculares que busca a detecção e caracterização dos genes *nim*, sendo que a redução da expressão das enzimas capazes de ativar os nitroimidazóis ou o aumento da produção de enzimas capazes de convertê-los em compostos menos tóxicos para o metabolismo celular também levam a uma menor velocidade de proliferação em cultivos *in vitro*, o que pode dificultar a identificação desses isolados em testes convencionais.

A resistência adquirida ao metronidazol, em bactérias Gram-negativas, está principalmente ligada à classe de genes *nim* (Alauzet et al., 2010a; Alauzet et al., 2010b; Alauzet et al., 2019; Boiten et al., 2024; Zhao et al., 2022), os quais já foram detectados em amostras clínicas obtidas de boca e sua presença no biofilme é relevante em função da possibilidade de transmissão horizontal do mesmo por conjugação (Ioannidis et al., 2009), não raro ligados a múltiplos marcadores de resistência a macrolídeos, quinolonas, beta-lactâmicos e tetraciclinas (Urbán et al., 2015). Dentre os genes da classe *nim* merecem destaque *nimA*, *nimB*, *nimC*, e *nimJ*, embora a compreensão da diversidade desses marcadores ainda é parcial e poucos dados de sequenciamento gênico estão disponíveis (Sydenham et al., 2015).

Em odontologia, como forma de reduzir a seleção de microrganismos com resistência adquirida aos β -lactâmicos e ao metronidazol, alguns autores (Rams et al., 2011; Rams et al., 2014) propuseram o emprego da associação amoxicilina-metronidazol, já amplamente empregada clinicamente em infecções anaeróbias de média gravidade, com resultados bastante promissores possivelmente pela ação sinérgica entre as drogas e pela complementação do espectro de ação de cada antimicrobiano.

Distribuição da resistência natural e adquirida ao metronidazol

A determinação que padrões de suscetibilidade a drogas de bactérias anaeróbias não constitui procedimento de rotina na ampla maioria dos laboratórios clínicos ou mesmo de pesquisa em território nacional. Segundo Jacinto et al. (2006) e López-Pintor et al. (2021), a realização de cultura e antibiograma de anaeróbios obrigatórios constituem procedimentos caros e que demanda muito tempo, o que somado à natureza polimicrobiana das infecções de cabeça e pescoço, reduzem as indicações para sua implementação. Dessa forma, a caracterização da etiologia e padrões de susceptibilidade a drogas antimicrobianas seria justificável apenas em casos de infecções severas, como meningites, envolvimento de espaços da face e sepses, bem como em caso de pacientes com severas comorbidades e em caso de falhas do tratamento empírico inicialmente instituído. Essas limitações ilustram por que esses procedimentos eram realizados por 70% dos laboratórios de análises clínicas do Estados Unidos em 1992, limitando-se a 21% desses em 2008.

Quando a resistência ao Metronidazol é considerada como alvo do estudo, devem-se ter cuidados adicionais com as condições de incubação das amostras, preferindo-se métodos reconhecidos e aceitos por entidades internacionais como o CLSI e o EUCAST e, para validação dos resultados no âmbito nacional, o BrCAST, segundo a agência de vigilância sanitária brasileira. Caso as condições de incubação, bem como a qualidade dos meios de cultura utilizados, como ágar WilKins-Chalgren e ágar Fastidious Anaerobe não sejam satisfatórios, pode-se obter resultados falso-positivos ou falso-negativos para resistência ao metronidazol (Goldstein et al., 2011).

A microbiota autóctone humana (bucal, intestinal, cutânea e vaginal) mostra baixos níveis de resistência ao metronidazol (Beigi et al., 2004; Hansen et al., 2017; Johnson, 1993; Shimura et al., 2019), por outro lado, esse fenômeno de resistência era quase totalmente desconhecido em anaeróbios Gram-negativos até o final do século XX, sendo inicialmente descrita para fusobactérias e, posteriormente, para os gêneros *Bacteroides* e *Prevotella*. As bases moleculares desses fenômenos estão se disseminando em todas essas comunidades microbianas, sendo que o ambiente externo, como a água, o solo pode reter esse fármaco (Nasseh et al., 2016) e, dessa forma, colaborar para seleção de microrganismos resistentes e seus genes de resistência (Sinthuchaia et al., 2021).

Os níveis de resistência ao metronidazol vinham se mantendo relativamente mais estáveis do que os observados para a maioria dos antimicrobianos, particularmente os beta-lactâmicos, frente a anaeróbios Gram-negativos de maior relevância nas infecções de cabeça e pescoço, como os gêneros *Prevotella* e *Porphyromonas* (Brook, 2024; Gil-Tomás et al., 2018).

Outros, porém, reforçam que anaeróbios Gram-negativos de origem predominantemente não bucal estão mostrando elevação dos padrões de resistência a esse fármaco. Dentre os microrganismos cuja sensibilidade vem mostrando significativa diminuição frente a essa droga destaca-se o gênero *Bacteroides* (Alauzet et al., 2019; Ghotaslou et al., 2018; Hecht, 2004; Lofmark et al., 2010; Tran et al., 2013; Urbán et al., 2015) e *Fusobacterium* (Gil-Tomás et al., 2018), raramente acometendo outros gêneros Gram-negativos (Cobo et al., 2017; Pence et al., 2019; Yunoki et al., 2017), geralmente mais sensíveis (Alauzet et al., 2019). Entre os Gram-positivos merece destaque o gênero *Clostridium* (Pence et al., 2019).

A disseminação de resistência a agentes antimicrobianos é fenômeno de importância global, tendo sido descrita para maioria das classes de antibióticos e quimioterápicos com atividade antimicrobiana, sendo que a exposição da microbiota a esses agentes constitui elemento-chave no processo de seleção de linhagens microbianas resistentes (Tran et al., 2013). Entretanto, a

despite the use of metronidazole as an adjuvant in the treatment of numerous mixed anaerobic infections in the last six decades (Johnson, 1993; Nix et al., 2024), this drug seems to be less prone to selection of bacterial lineages less sensitive or resistant after an initial exposure of the microbiota, both in hospital and outpatient settings, particularly when compared to what is observed with macrolides and beta-lactams (Hansen et al., 2017).

The first description of the selective effect of prolonged use of metronidazole on anaerobic microbial lineages obligate resistant to this drug occurred in 1978 (Ingham et al., 1978), when occasional isolation of lineages resistant among the main genera of Gram-negative bacilli was occurring sporadically since then (Conrads et al., 2021; Nagy et al., 2011; Nix et al., 2024; Novak et al., 2015; Sheikh et al., 2015; Thurnheer et al., 2023).

Among the genera *Bacteroides* and *Parabacteroides*, resistance to metronidazole reaches less than 5% of the lineages cultivated, reaching 6% to 12% of the isolates of the genus *Prevotella*, recognized oral pathogen involved in necrotic and acute orofacial infections (Bhat et al., 2021; López-Pintor et al., 2021; Sheikh et al., 2025), being considered as a candidate anaerobic Gram-negative genus with major resistance to antimicrobials and major source of enzymes capable of degrading these agents in the mouth. Some European studies (Handal et al., 2015; Katsandri et al., 2006) and Asian (Lee et al., 2015; Tan et al., 2017) show higher values of resistance to metronidazole among *Prevotella* spp., but these values contrast with the others, suggesting regional particularities or methodological aspects not fully clarified, such as the adoption of the critical point and the culture medium used in the characterization of susceptibility to nitroimidazoles (Reissier et al., 2023).

Among the isolates of the genera *Fusobacterium* and *Porphyromonas* lineages resistant have also been detected, although their occurrence is significantly lower, almost always restricted to non-oral lineages (Katsandri et al., 2006; Marchand-Austin et al., 2014; Perry et al., 2023; Reissier et al., 2023; Tan et al., 2017).

As cited above, among the anaerobic Gram-positive microorganisms, resistance tends to be intrinsic or natural, characterized by aspects of microbial metabolism primary (Alauzet et al., 2019), but even in these cases the main genera show variable sensitivity to metronidazole, ranging from high sensitivity found in the vast majority of lineages (80% to 100%) of the genus *Clostridium*, passing through taxa of great importance for Odontology, such as the genera *Parvimonas*, *Peptococcus* and *Peptostreptococcus*, with isolates showing wide variation of susceptibility to this drug, with lineages showing acquired resistance, to genera almost universally resistant, such as *Actinomyces*, *Cutibacterium* and *Propionibacterium* (Novak et al., 2015; Reissier et al., 2023), which show natural or intrinsic resistance (Reissier et al., 2023).

The occurrence of severe septic processes associated with microorganisms once sensitive to this chemical agent, seems to link the alert of future infections linked to the microbial biofilm in the oral cavity may compromise the use of this agent in the coming years (Rugarabamu, 2017; Smith, 2018).

GENES *nim*

Although many markers of resistance may collaborate for the development of resistance to metronidazole, this phenotype is largely associated with the *nim* genes (Boiten et al., 2024; Ghotaslou et al., 2018). The first genes of the *nim* class were characterized in the 1980s and were located in conjugative plasmids, suggesting that their transmission to anaerobes susceptible to nitroimidazoles could be clinically impactful (Breuil et al., 1989).

In the absence of the *nim* genes the phenomenon of acquired resistance is quite complex and still not totally elucidated (Freitas et al., 2016; Ghotaslou et al., 2018). As a result of metabolic processes, acquired resistance to metronidazole can be presented as a fruit of inadequate drug penetration into the interior of the microorganism, increase in the rate

de exportação ou efluxo do agente, redução da cinética de ativação da droga no interior dos patógenos, bem como inativação desse agente antimicrobiano (Boyanova et al., 2019; Jenks & Edwards, 2002), sendo esse último mecanismo particularmente associado ao genes da classe *nim*, capazes de expressar enzimas que convertem esse derivado nitroimidazólico em uma forma não tóxica para os microrganismos anaeróbios.

A despeito de sua ligação com a resistência ao metronidazol, a presença da classe *nim* de marcadores não necessariamente leva ao fenótipo de resistência aos nitroimidazóis, como mostrado por Xie et al. (2014) e Shimura et al. (2019), provavelmente por se tratar de uma característica ligada ao metabolismo primário dos anaeróbios envolvidos e pela existência de diversos outros mecanismos ainda pouco elucidados para esses grupos bacterianos de cultivo exigente.

O gene *nimA* é responsável pela expressão de uma redutase que, ao invés de reduzir o grupo nitro do metronidazol, acaba por gerar um amino derivativo, inibindo a formação de radicais nitroso, bastante tóxicos para a célula bacteriana e, juntamente com o gene *nimB*, é o marcador mais amplamente distribuído entre anaeróbios obrigatórios (Haggoud et al., 1994), com grande frequência em associação com os genes *nimC* e *nimD* (Trinh et al., 1995; Trinh & Reysset 1996), principalmente em gêneros bacterianos Gram-negativos, como *Bacteroides*, *Parabacteroides* e *Prevotella*.

Muitos outros genes compõem essa família, destacando-se os genes *nimE*, *nimF*, *nimG*, *nimH*, abundantes no gênero *Bacteroides*, *nimI*, em *Prevotella baroniae*, *nimJ*, *nimK*, em *Prevotella bivia*, e *nimADr* (Husain et al., 2013). Contudo, a despeito dessa aparente heterogeneidade, os genes *nim* possuem de 57,3% a 89,8% de homologia DNA-DNA (Alauzet et al., 2019).

A provável história evolutiva desses genes sugere a transmissão, por conjugação, em ambiente intestinal, de um gene ancestral que passou a sofrer o processo de evolução independente, o que explicaria a elevada homologia encontrada (Alauzet et al., 2010a; Alauzet et al., 2019; Husain et al., 2013; Husain et al., 2014;).

Aparentemente, em alguns anaeróbios, além da inativação do metronidazol, os genes *nim*, em particular o gene *nimA* de *Bacteroides fragilis*, podem ter relação com a resposta da fisiologia do anaeróbio obrigatório à presença de concentrações residuais de oxigênio molecular (Panukov et al., 2022), aumentando a tolerância celular a esse poderoso agente oxidante. Dessa forma, a presença desses determinantes genéticos de resistência ao metronidazol pode conferir vantagem às linhagens bacterianas na presença de O₂, o que ocorre no interior do biofilme ou no contato da microbiota intestinal com os enterócitos do hospedeiro.

Essa vantagem ecológica, que permitiria aos portadores desses genes sobreviverem no íntimo contato com o hospedeiro, explicaria por que *B. fragilis*, mesmo sendo muito menos numeroso na microbiota do intestino grosso, é causa muito mais frequente de infecções intestinais que *B. thetaiotaomicron*, mais numeroso, mas desprovido dessa proteção adicional contra os elementos oxidativos do meio (Boyanova et al., 2024). Portanto, tais genes podem ter se originado como parte dos mecanismos intrínsecos que algumas linhagens bacterianas desenvolveram no processo de colonização e tolerância a condições de estresse ambiental, adquirindo o papel de resistência ao metronidazol apenas nas últimas seis décadas, período em que esse quimioterápico passou a ser clinicamente utilizado.

Uma peculiaridade: presença de marcadores de resistência no ambiente

Além da presença de genes de resistência as drogas antimicrobianas, a disseminação de linhagens bacterianas resistência a tais agentes depende da existência de pressões seletivas, onde comunidades microbianas encontram-se expostas a concentrações subinibitórias desses fármacos, o que pode se dar no interior do biofilme microbiano, no solo e particularmente no interior de corpos hídricos, como rios, lagoas de tratamento de esgoto urbano e mesmo na água potável, ambientes que permitem a ampla transmissão vertical e horizontal de marcadores de resistência, favorecendo espécies e linhagens menos sensíveis ou resistentes a essas drogas (Smith, 2018).

A literatura relata que a grande maioria das drogas antimicrobianas é capaz de manter-se ativa no ambiente externo, principalmente em efluentes hospitalares e domésticos e o mesmo ocorre com o metronidazol (Sinthuchai et al., 2021), o qual

pode inclusive afetar a fisiologia dos microrganismos responsáveis pela etapa de tratamento anaeróbico dos rejeitos urbanos (Velasco-Garduño et al., 2020). Esse fenômeno sugere que tal pressão seletiva pode se traduzir na presença de microrganismos anaeróbios obrigatórios e seus marcadores de resistência no meio externo, algo que não foi possível detectar em amostras de água de subsuperfície na região de Araçatuba, cortada pelo rio Tietê e onde esse rio apresenta boa qualidade da água, com baixa demanda bioquímica de oxigênio e todas as tentativas de detecção dos genes *nim* em águas e rejeitos ambientais se mostraram infrutíferos até o momento, possivelmente pelo amplo predomínio de microrganismos facultativos nas amostras de água de superfície.

A presença do metronidazol no ambiente e a relativa ausência de anaeróbios obrigatórios com a classe *nim* de marcadores em amostras ambientais reforça o que foi mencionado acima, em que esse quimioterápico mostra menor propensão ao surgimento de linhagens bacterianas resistentes após uma exposição prévia ou presença de níveis subinibitórios residuais, o que explicaria o quadro global atual, onde a disseminação desses marcadores ainda é regionalizada e bastante heterogênea ao redor do mundo (Alauzet et al., 2019), mesmo após seis décadas de utilização intensa no tratamento de infecções de cabeça e pescoço, colites e vaginoses por anaeróbios obrigatórios.

Embora pouco estudado, o impacto do metronidazol em comunidades microbianas aquáticas e de esgoto tratado ou bruto vem sendo observado. Cizek et al. (2022), por exemplo, relataram a presença de amostras de *Clostridium difficile*, responsável, em humanos, pela colite pseudomembranosa, apresentando plasmídeos com sequências de DNA compatíveis com o gene *nimB*, com natureza conjugativa, o que permitiria a transmissão horizontal desse marcador para outros membros das comunidades aquáticas.

Cuidados adicionais para o emprego do metronidazol

Em pacientes com reações de hipersensibilidade, grávidas (primeiro trimestre é considerado o mais crítico) ou com histórico de câncer, deve-se considerar que essa droga apresenta os efeitos carcinogênicos e mutagênicos, os quais que já foram evidenciados em camundongos embora nunca tenham sido demonstrados em outras espécies animais ou em humanos (Brook, 2007; Finegold, 1995).

O consumo de bebidas alcoólicas e de alimentos contendo propileno glicol deve ser evitado até 3 dias após a conclusão do tratamento com o metronidazol. A bases farmacológicas da interação entre esses compostos ainda precisa de esclarecimentos adicionais, sendo que pode se assemelhar ao efeito do dissulfiram, uma droga utilizada para reduzir a dependência de álcool, provocando a avermelhamento da pele, náuseas, vômitos, cefaleia e, em casos extremos, colapso circulatório (Steel & Wharton, 2020).

4. Discussão

Uma das características relevantes que a literatura apresentada evidencia é o odor das doenças bucais de colonização pelos microrganismos anaeróbios. A presença de odor pútrido em boca é um fator presuntivo de existência de infecção intraoral associada a microrganismos anaeróbios obrigatórios proteolíticos, em sua maioria bastonetes Gram-negativos (Brook, 2007; Brook, 2024)

A microbiota bucal, em particular no interior dos sulcos gengivais e bolsas periodontais, em pacientes portadores de periodontite crônica avançada, é composta em sua grande maioria por anaeróbios obrigatórios Gram-negativos, produtores de sulfeto de hidrogênio, amônia e indol, que criam o odor pútrido quando associado à falta de higiene e presença de cálculo dental (Brook, 2007). Esses mesmos microrganismos estão profundamente ligados a infecções oportunistas nos espaços medulares de mandíbula, constituindo fator de risco à saúde sistêmica quando o pronto atendimento clínico especializado demora a ser

instituído.

As análises imaginológicas permitem a visualização da qualidade do tecido ósseo periodontal, mas o exame físico e a avaliação periodontal com sonda milimetrada, são extremamente necessários para o diagnóstico final. A presença de periodontite crônica avançada e supuração nas bolsas periodontais próximas à situações como fraturas mandibulares, mostram evidente risco de disseminação de um quadro séptico para o interior dos espaços medulares, constituindo risco de osteomielite crônica de mandíbula, como previamente descrito por Gaetti-Jardim Jr et al (2010).

A avaliação de parâmetros hematológicos e bioquímicos do paciente configura-se como um auxílio fundamental para controle sistêmico associado a doença periodontal. Um hemograma completo, com ênfase na determinação do número e volume dos eritrócitos, quantidade de hemoglobina, além da série branca, para avaliação da intensidade da leucocitose e da proporção e população dos principais tipos de leucócitos, bem como a contagem de plaquetas, são adjuvantes no tratamento integral do paciente. Além desses testes, busca-se a determinação da glicemia do paciente, hemoglobina glicada, sorologia para sífilis, SIDA e hepatite B, bem como níveis de proteína C reativa _ que avalia o impacto da resposta inflamatória e também atua como um elemento possível de prognóstico e acompanhamento do tratamento, tempos de tromboplastina parcial ativada e de protrombina, níveis de ureia e creatinina, sódio, potássio, cálcio total, magnésio e fósforo, além da atividade das transaminases hepáticas (aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase).

Alterações como anemia e em nível hepático, pode estar associada ao resultado provável de etilismo crônico sendo coadjuvante na má conservação da higiene oral. A glicemia elevada pode refletir o consumo rotineiro de alimentos e/ou bebidas ricos em carboidratos ou mesmo o agravamento de uma infecção em boca, fenômeno frequente em infecções por bactérias Gram-negativas.

Os antimicrobianos atuam como importantes ferramentas ao controle do biofilme em quadros de infecção. São selecionados em função de indicadores clínicos e laboratoriais sugerirem a presença de infecção local e bacteremia com relação direta com a periodontite preexistente e o trauma, daí o provável predomínio de microrganismos anaeróbios Gram-negativos, normalmente susceptíveis ao metronidazol (Freitas et al., 2019; Kuriyama et al., 2007; Rams et al., 2014; Rams et al., 2023), mas, ao mesmo tempo, potencialmente produtores de β -lactamases de amplo espectro e de baixa afinidade (Ioannidis et al., 2020), bem como alguns microrganismos Gram-positivos anaeróbios obrigatórios ou facultativos, geralmente susceptíveis aos β -lactâmicos, como a ampicilina, e pouco susceptíveis aos nitroimidazóis, como o metronidazol (Gomes et al., 2011; Brook, 2024).

Na presença de infecções que gerem perda óssea, como em casos após fraturas faciais, a fixação dos dispositivos de fixação óssea deve seguir os princípios de biofísica e reparo tecidual mas sempre visando o controle do biofilme bucal. Por vezes, pensando neste processo reparacional, há a necessidade de se usar acessos extrabucais à fratura, evidente possível contaminação do material na presença da má higiene bucal. A estabilidade dos fragmentos pode requererem sistema que vença a função mastigatória no pós-operatório.

5. Conclusão

As análises da literatura permitiram as seguintes conclusões:

a) O metronidazol interfere no metabolismo primário de bactérias anaeróbias possuidoras da enzima piruvato ferredoxina oxidoredutase, levando a fragmentação do DNA alvo;

b) A resistência natural ao metronidazol envolve vários traços bioquímico-fisiológicos das células bacterianas e é frequente em anaeróbios facultativos e aeróbios, constituindo apenas elemento a ser considerado na avaliação do espectro de ação do fármaco, não se modificando significativamente ao longo de períodos extensos;

c) A resistência adquirida aos nitroimidazóis envolve diversos mecanismos, geralmente associados à inativação da droga, modificação metabólica ou efluxo do fármaco;

d) Embora os genes *nim* se mostrem como os mais intimamente associados à resistência clínica ao metronidazol, nenhum marcador genético é capaz de, isoladamente, determinar níveis muito elevados de resistência a esse fármaco;

e) A etiologia das infecções de cabeça e pescoço torna o metronidazol uma droga efetiva diante de enfermidades que apresentem relação com o biofilme microbiano subgengival;

f) A associação de drogas β -lactâmicas e o metronidazol mostra-se eficaz no tratamento de infecções mistas de cabeça e pescoço.

Conflitos de Interesse

Os autores declaram não haver conflito de interesses em relação a este estudo.

Referências

- Abdullah, F. M. et al. (2024). Antimicrobial management of dental infections: Updated review. *Medicine*, 103(27), e38630.
- Alauzet, C., Marchandin, H., Lozniewski, A. (2010). New insights into *Prevotella* diversity and medical microbiology. *Future Microbiology*, 5(11), 1695-1718.
- Alauzet, C. et al. (2010). Metronidazole resistance in *Prevotella* spp. and description of a new *nim* gene in *Prevotella baroniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(1), 60-64.
- Alauzet, C., Lozniewski, A., & Marchandin, H. (2019). Metronidazole resistance and *nim* genes in anaerobes: A review. *Anaerobe*, 55, 40-53.
- Anyiam, I. V., & Okelue, F. (2023). Efeitos do metronidazol e da amoxicilina em anaeróbios selecionados de infecções orais. *African Journal of Biology and Medical Research*, 7(1), 29-46.
- Asgarova, T., Kibar, F., & Gümüş, H. H. (2023). Identification of anaerobic bacteria isolated from clinical samples and determination of antibiotic resistance profiles. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*, 7(3), 157-165.
- Baumgartner, C., Xia, T. (2003). Antibiotic susceptibility of bacteria associated with endodontic abscesses. *Journal of Endodontics*, 29(1), 44-47.
- Beigi, R. H. et al. (2004). Antimicrobial resistance associated with the treatment of bacterial vaginosis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 191(4), 1124-1129.
- Bendesky, A., Menéndez, D., & Ostrosky-Wegman, P. (2002). Is metronidazole carcinogenic?. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 511(2), 133-144.
- Bhat, K. G. et al. (2021). Antimicrobial susceptibility pattern of oral gram negative anaerobes from Indian subjects. *Anaerobe*, 70, 102367.
- Breuil, J. et al. (1989). Transferable 5-nitroimidazole resistance in the *Bacteroides fragilis* group. *Plasmid*, 21(2), 151-154.
- Brook, I. (2024). Overview of anaerobic infections in children and their treatment. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 30, 1104 - 1113.
- Brook, I.(2007). *Anaerobic infections diagnosis and management*. New York: Informa Healthcare USA, Inc., 2007.
- Boiten, K. E. et al. (2024). Antimicrobial susceptibility profile of clinically relevant *Bacteroides*, *Phocaeicola*, *Parabacteroides* and *Prevotella* species, isolated by eight laboratories in the Netherlands. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 79(4), 868-874.
- Boyanova, L., Kolarov, R., & Mitov, I. (2015). Recent evolution of antibiotic resistance in the anaerobes as compared to previous decades. *Anaerobe*, 31, 4-10.
- Boyanova, L., Markovska, R., & Mitov, I. (2019). Multidrug resistance in anaerobes. *Future Microbiology*, 14(12), 1055-1064.
- Boyanova, L., et al. (2024). Oxygen tolerance in anaerobes as a virulence factor and a health-beneficial property. *Anaerobe*, 89, 1-8.
- Casarin, S. T. et al. (2020). Tipos de revisão de literatura: considerações das editoras do Journal of Nursing and Health. *Journal of Nursing and Health*. 10 (5). <https://periodicos.ufpel.edu.br/index.php/enfermagem/article/view/19924>.
- Cizek, A. et al. (2022). Detection of plasmid-mediated resistance to metronidazole in *Clostridioides difficile* from river water. *Microbiology Spectrum*, 10(4), e00806-22.
- Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 20th informational supplement. CLSI document M100-S20, 2010.
- Cobo, F. et al. (2017). Infected breast cyst due to *Prevotella buccae* resistant to metronidazole. *Anaerobe*, 48, 177-178.

- Conrads, G., et al. (2021). The antimicrobial susceptibility of *Porphyromonas gingivalis*: genetic repertoire, global phenotype, and review of the literature. *Antibiotics*, 10(12), 1438.
- Dahlen, G., & Preus, H. R. (2017). Low antibiotic resistance among anaerobic Gram-negative bacteria in periodontitis 5 years following metronidazole therapy. *Anaerobe*, 43, 94–98.
- Dingsdag, S. A., & Hunter, H. (2018). Metronidazole: an update on metabolism, structure-cytotoxicity and resistance mechanisms. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(2), 265–279.
- Ducournau, A., et al. (2016). *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in 2014 in France detected by phenotypic and genotypic methods. *Clinical Microbiology and Infection*, 22(8), 715-718.
- Dubreuil, L. J. (2024). Fifty years devoted to anaerobes: historical, lessons, and highlights. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 43(1), 1-15.
- Edwards, D. I. (1993). Nitroimidazole drugs-action and resistance mechanisms I. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 31(1), 9-20.
- Elwakil, H. S. et al. (2017). The effect of iron on metronidazole activity against *Trichomonas vaginalis* in vitro. *Experimental Parasitology*, 182, 34-36.
- Faria, H. V. S. et al. (2023). Ludwig's Angina: A comprehensive analysis of diagnosis, treatment options, and their clinical correlations. *Research, Society and Development*, 12(10), 1-8.
- Finegold, S. M. (1995). Anaerobic infections in humans: an overview. *Anaerobe*, 1(1), 3-9.
- Freeman, C. D., Klutman, N. E., & Lamp, K. C. (1997). Metronidazole. *Drugs*, 54, 679-708.
- Freitas, D. et al. (2019). Prevalence of antibiotic (β -lactams, tetracycline, metronidazole, erythromycin) resistance genes in periodontic infections. *Clinical Research Trials*, 5, 1-4.
- Gaetti-Jardim Jr, E. et al. (2010). Microbiota associated with chronic osteomyelitis of the jaws. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41,1056-1064.
- Gal, M.; & Brazier, J. S. (2004). Metronidazole resistance in *Bacteroides* spp. carrying nim genes and the selection of slow-growing metronidazole-resistant mutants. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54(1), p. 109-116.
- Gil-Tomás, J. J., Jover-García, J., & Colomina-Rodríguez, J. (2018). Antibiotic susceptibility surveillance of Gram-negative anaerobes: RedMiVa 2010–2016. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 36(3), 200-201.
- Ghotaslou, R. et al. (2018). Mechanisms of *Bacteroides fragilis* resistance to metronidazole. *Infection, Genetics and Evolution*, 64, 156-163.
- Goldstein, E. J. C., & Citron, D. M. (2011). Resistance trends in antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria, part I. *Clinical Microbiology Newsletter*, 33(1), 1-8.
- Gomes, B. P. F. A. et al. (2011). Analysis of the antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria isolated from endodontic infections in Brazil during a period of nine years. *Journal of Endodontics*, 37(8), 1058-1062.
- Haggoud, A. et al. (1994). Nucleotide sequence analysis of two 5-nitroimidazole resistance determinants from *Bacteroides* strains and of a new insertion sequence upstream of the two genes. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 38(5), 1047-1051.
- Handal, N. et al. (2015). Anaerobic blood culture isolates in a Norwegian university hospital: identification by MALDI-TOF MS vs 16S rRNA sequencing and antimicrobial susceptibility profiles. *Apmis*, 123(9), 749-758.
- Hansen, K. C. M. et al. (2017). Antimicrobial resistance in the *Bacteroides fragilis* group in faecal samples from patients receiving broad-spectrum antibiotics. *Anaerobe*, 47, 79-85.
- Hazim, F. A. et al. (s.d.). Metronidazole susceptibility and resistance pattern among anaerobes causing periodontitis in tertiary care unit. *Pakistan Journal of Medical & Health Sciences*, 14(4), 983-986.
- Head, T. W. et al. (1984). A comparative study of the effectiveness of metronidazole and penicillin V in eliminating anaerobes from postextraction bacteremias. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 58(2), 152-155.
- Hecht, D. W. (2004). Prevalence of antibiotic resistance in anaerobic bacteria: worrisome developments. *Clinical Infectious Diseases*, 39(1), 92-97.
- Husain, F. et al. (2013). Two multidrug-resistant clinical isolates of *Bacteroides fragilis* carry a novel metronidazole resistance nim gene (nimJ). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(8), 3767-3774.
- Husain, F. et al. (2014). The Ellis Island effect: a novel mobile element in a multi-drug resistant *Bacteroides fragilis* clinical isolate includes a mosaic of resistance genes from Gram-positive bacteria. *Mobile Genetic Elements*, 4(4), e29801.
- Ingham, H. R. et al. (1978). *Bacteroides fragilis* resistant to metronidazole after long-term therapy. 1978. *Lancet*, 311, 214. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(78\)90655-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(78)90655-4).
- Ioannidis, I. et al. (2009). Prevalence of tetM, tetQ, nim and blaTEM genes in the oral cavities of Greek subjects: a pilot study. *Journal of Clinical Periodontology*, 36(7), 569-574.
- Jacinto, R. C. et al. (2006). Incidence and antimicrobial susceptibility of *Porphyromonas gingivalis* isolated from mixed endodontic infections. *International Endodontic Journal*, 39(1), 62-70.

- Jenks, P. J., & Edwards, D. I. (2002). Metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 19(1), 1-7.
- Johnson, P. J. (1993). Metronidazole and drug resistance. *Parasitology Today*, 9(5), 183-186.
- Katsandri, A. et al. (2006). Dissemination of nim-class genes, encoding nitroimidazole resistance, among different species of Gram-negative anaerobic bacteria isolated in Athens, Greece. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58, p. 705–706.
- Kuriyama, T. et al. (2007). Antimicrobial susceptibility of 800 anaerobic isolates from patients with dentoalveolar infection to 13 oral antibiotics. *Oral Microbiology and Immunology*, 22, 285-288.
- Lee, Y. et al. (2015). Multicenter study of antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria in Korea in 2012. *Annals of Laboratory Medicine*, 35(5), 479.
- Löfmark, S., Edlund, C., & Nord, C. E. (2010). Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections. *Clinical Infectious Diseases*, 50(1), S16-S23.
- Lopez-Pintor, J. M. et al. (2021). Etiology and antimicrobial susceptibility profiles of anaerobic bacteria isolated from clinical samples in a university hospital in Madrid, Spain. *Anaerobe*, 72, 102446.
- Lucamba, A. et al. (2024). Four-year experience with treatment protocol for odontogenic necrotizing fasciitis. *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery*, 1-5.
- Marchand-Austin, A. et al. (2014). Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of anaerobic bacteria in Ontario, 2010–2011. *Anaerobe*, 28, 120-125.
- Mattos, P. C. (2015). Tipos de revisão de literatura. Unesp, 1-9. <https://www.fca.unesp.br/Home/Biblioteca/tipos-de-revisao-de-literatura.pdf>.
- Nagy, E. et al. (2011). Antimicrobial susceptibility of *Bacteroides fragilis* group isolates in Europe: 20 years of experience. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(3), 371-379.
- Narikawa, S. (1986). Distribution of metronidazole susceptibility factors in obligate anaerobes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 18, 565-574.
- Nasseh, I. (2019). et al. Metronidazole removal methods from aquatic media: a systematic review. *Annals of Military and Health Sciences Research*, 14(4), e13756.
- Ng, E. et al. (2024). Antibiotic resistance in the microbiota of periodontitis patients: an update of current findings. *Critical Reviews in Microbiology*, 50(3), 329-340.
- Nikaeen, M. et al. (2015). Occurrence of *Clostridium difficile* in two types of wastewater treatment plants. *Journal of the Formosan Medical Association*, 114(7), 663-665.
- Novak, A. et al. (2015). Antimicrobial susceptibility of clinically isolated anaerobic bacteria in a university hospital centre split, Croatia in 2013. *Anaerobe*, 31, 31-36.
- Paunkov, A.; Söki, J.; & Leitsch, D. (2022). Modulation of iron import and metronidazole resistance in *Bacteroides fragilis* harboring a nimA gene. *Frontiers in Microbiology*, 13, 898453.
- Pence, M. A. (2019). Antimicrobial resistance in clinically important anaerobes. *Clinical Microbiology Newsletter*, 41(1), 1-7.
- Perry, M. D. et al. (2023). First large-scale study of antimicrobial susceptibility data, and genetic resistance determinants, in *Fusobacterium necrophorum* highlighting the importance of continuing focused susceptibility trend surveillance. *Anaerobe*, 80, 102717.
- Petrina, M. A. B. et al. (2017). Susceptibility of bacterial vaginosis (BV)-associated bacteria to secnidazole compared to metronidazole, tinidazole and clindamycin. *Anaerobe*, 47, 115-119.
- Poulet, P. P., Duffaut, D., & Lodter, J. P. (1999). Metronidazole susceptibility testing of anaerobic bacteria associated with periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 26(4), 261-263.
- Rams, T. E., Sautter, J. D., & Van Winkelhoff, A. J. (2023). Emergence of antibiotic-resistant *Porphyromonas gingivalis* in United States periodontitis patients. *Antibiotics*, 12(11), 1584.
- Rams, T. E., Degener, J. E., & Van Winkelhoff, A. J. (2014). Antibiotic resistance in human chronic periodontitis microbiota. *Journal of Periodontology*, 85(1), 160–169.
- Rams, T. E. et al. (2011). Spiramycin resistance in human periodontitis microbiota. *Anaerobe*, 17(4), 201-205.
- Reissier, S. et al. (2023). Recent trends in antimicrobial resistance among anaerobic clinical isolates. *Microorganisms*, 11(6), 1474.
- Rother, E. T. (2007). Revisão sistemática x revisão narrativa. *Acta Paul. Enferm.* 20 (2). <https://doi.org/10.1590/S0103-21002007000200001>.
- Sandoe, J. A. T., Struthers, J. K., & Brazier, J. S. (2001). Subdural empyema caused by *Prevotella loeschei* with reduced susceptibility to metronidazole. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47(3), 366-367.
- Senhorinho, G. N. A. et al. (2012). Occurrence and antimicrobial susceptibility of *Porphyromonas* spp. and *Fusobacterium* spp. in dogs with and without periodontitis. *Anaerobe*, 18(4), 381-385.
- Sethi, S. et al. (2019). Emerging metronidazole resistance in *Bacteroides* spp. and its association with the nim gene: a study from North India. *Journal of global antimicrobial resistance*, 16, 210-214.

- Sheikh, S. O. et al. (2015). High rate of non-susceptibility to metronidazole and clindamycin in anaerobic isolates: data from a clinical laboratory from Karachi, Pakistan. *Anaerobe*, 33, 132-136.
- Sherrard, L. J. et al. (2016). Production of extended-spectrum β -lactamases and the potential indirect pathogenic role of *Prevotella* isolates from the cystic fibrosis respiratory microbiota. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 47(2), 140-145.
- Shimura, S. et al. (2019). Antimicrobial susceptibility surveillance of obligate anaerobic bacteria in the Kinki area. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 25(11), 837-844.
- Rugarabamu, S. (2017). Metronidazole resistance in anaerobes isolated from patient with oral and maxillofacial infections attending Muhimbili National Hospital, Dar-Es-Salaam, Tanzania. *Tanzan Journal of Microbiology & Experimentation*, 5(2), 14-12.
- Sinthuchaia, D. et al. (2021). Fate and mass loading of antibiotics in hospital and domestic wastewater treatment plants in Bangkok, Thailand. *Journal of Water, Sanitation and Hygiene for Development*, 11(6), 959-971.
- Sisson, G. et al. (2000). Metronidazole activation is mutagenic and causes DNA fragmentation in *Helicobacter pylori* and in *Escherichia coli* containing a cloned *H. pylori* rdxA+ (nitroreductase) gene. *Journal of Bacteriology*, 182, 5091-5096.
- Smith, A. (2018). Metronidazole resistance: a hidden epidemic? *British Dental Journal*, 224, 403-404.
- Smith, M. A., & Edwards, D. I. (s.d.). Redox potential and oxygen concentration as factors in the susceptibility of *Helicobacter pylori* to nitroheterocyclic drugs. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 35, 751-764.
- Soares, G. et al. (2012). Mechanisms of action of systemic antibiotics used in periodontal treatment and mechanisms of bacterial resistance to these drugs. *Journal of Applied Oral Science*, 20(3), 295-309.
- Steel, B. J., & Wharton, C. (2020). Metronidazole and alcohol. *British Dental Journal*, 229(3), 150-151.
- Suaréz, L. J. et al. (2024). Metronidazole may display anti-inflammatory features in periodontitis treatment: A scoping review. *Molecular Oral Microbiology*, 2024.
- Sydenham, T. et al. (2014). Identification of antimicrobial resistance genes in multidrug-resistant clinical *Bacteroides fragilis* isolates by whole genome shotgun sequencing. *Anaerobe*, 31(11), 59-64.
- Tan, T. Y. et al. (2017). Clinical characteristics and antimicrobial susceptibilities of anaerobic bacteremia in an acute care hospital. *Anaerobe*, 43, 69-74.
- Thurnheer, T. et al. (2023). Antibiotic resistance among *Fusobacterium*, *Capnocytophaga*, and *Leptotrichia* species of the oral cavity. *Oral Health & Preventive Dentistry*, 4(21), 93-102.
- Tomás, I. et al. (2007). Susceptibility of oral obligate anaerobes to telithromycin, moxifloxacin and a number of commonly used antibacterials. *Oral Microbiology Immunology*, 22(5), 298-303.
- Tran, C. M., Tanaka, K., & Watanabe, K. (2013). PCR-based detection of resistance genes in anaerobic bacteria isolated from intra-abdominal infections *Journal of Infection and Chemotherapy*, 19(2), 279-90.
- Trinh, S., & Reyssset, G. (1996). Detection by PCR of the *nim* genes encoding 5-nitroimidazole resistance in *Bacteroides* spp. *Journal of Clinical Microbiology*, 34, 2078-84.
- Trinh, S. et al. (1995). Plasmids pLP419 and pLP421 from *Bacteroides*: 5-nitroimidazole resistance genes and their upstream insertion sequence elements. *Microbiology*, 141(4), 927-935.
- Urbán, E. et al. (2021). First Hungarian case of an infection caused by multidrug resistant *Bacteroides fragilis* strain. *Anaerobe*, 31, 55-58.
- Velasco-Garduño, O. et al. (2021). Influence of metronidazole on activated sludge activity. *Environmental Technology*, 42(18), 2815-2822.
- Vivian, A. I., & Faith, O. (2024). Effects of metronidazole and amoxicillin on selected anaerobes from oral infections. *African Journal of Biology and Medical Research*, 7, 29-46.
- Xie, Y. et al. (2014). Antimicrobial resistance and prevalence of resistance genes of obligate anaerobes isolated from periodontal abscesses. *Journal of Periodontology*, 85(2), 327-34.
- Yunoki, T. et al. (2017). Genetic identification and antimicrobial susceptibility of clinically isolated anaerobic bacteria: a prospective multicenter surveillance study in Japan. *Anaerobe*, 48, 215-223.
- Zhao, W. et al. (2022). Genetic Effects of metronidazole on mesophilic and thermophilic fermentation: Biodegradation mechanisms, microbial communities, and reversibility. *Bioresource Technology*, 362, 1-11.