

## ESTUDO DO EFEITO PÓS-ANTIBIÓTICO EM ESTREPTOCOCOS DO GRUPO A E G DE LANCEFIELD TOLERANTES E NÃO-TOLERANTES À PENICILINA

Adriana Siqueira\*

Maria Cristina Bronharo Tognim\*\*

Cássia Carneiro Avelino\*\*\*

Lourdes Botelho Garcia\*\*

SIQUEIRA, A.; TOGNIM, M. C. B.; AVELINO, C. C.; GARCIA, L. B. Estudo do efeito pós-antibiótico em estreptococos do grupo A e G de Lancefield tolerantes e não-tolerantes à penicilina. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar*, 2(1): 13-21, 1998.

**RESUMO:** O efeito pós-antibiótico da penicilina foi determinado *in vitro*, através da contagem de bactérias viáveis, para duas amostras de estreptococos beta-hemolíticos do grupo A de Lancefield e duas do grupo G, sendo uma amostra de cada grupo tolerante à penicilina e uma não-tolerante. Todas as amostras foram isoladas da orofaringe de pacientes com faringite estreptocócica. A duração do efeito pós-antibiótico para as amostras tolerantes do grupo A e do grupo G foi de 2,50 horas e 2,35 horas respectivamente. Para as amostras não-tolerantes destes grupos sorológicos o efeito pós-antibiótico foi calculado em 2,60 e 3,75 horas. Observações microscópicas realizadas com as amostras tolerantes à penicilina durante a ocorrência do efeito pós-antibiótico mostraram alterações na morfologia e no tamanho das células bacterianas. Em relação às amostras não-tolerantes de ambos os grupos sorológicos não foram observadas alterações morfológicas ou dimensionais quando as culturas previamente tratadas com penicilina foram comparadas com culturas controles.

**PALAVRAS-CHAVE** efeito pós-antibiótico; estreptococos; penicilina.

### STUDY OF THE POST-ANTIBIOTIC EFFECT ON LANCEFIELD'S GROUPS A AND G STREPTOCOCOS TOLERANT AND NON-TOLERANT TO PENICILLIN

SIQUEIRA, A.; TOGNIM, M. C. B.; AVELINO, C. C.; GARCIA, L. B. Study of the post-antibiotic effect on lancefield's groups A and G streptococos tolerant and non-tolerant to penicillin. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar*, 2(1): 13-21, 1998.

**ABSTRACT:** The post-antibiotic effect of penicillin was determined *in vitro* by counts of viable bacteria from two strains of beta hemolytic Lancefield's group A and G streptococci. The strains were obtained from patients with streptococcal pharyngitis. One sample from each group was penicillin-tolerant and one was non-tolerant. The duration of the post-antibiotic effect for the tolerant group A and G streptococcal strains was found to be 2.50h and 2.35h respectively. Post-antibiotic effects for the non-tolerant strains of group A and G streptococci were 2.60h and 3.75h. Microscopic examination of the penicillin-treated tolerant strains during the occurrence of the post-antibiotic effect revealed morphological changes and an increase in size. No change was observed in non-tolerant strains of both serological groups when the penicillin-treated cultures were compared with control cultures.

**KEY WORDS:** penicillin; post-antibiotic effect; streptococci.

#### Introdução

Desde o advento do uso dos antibióticos no tratamento das doenças infecciosas, vários mecanismos microbianos de defesa a esses agentes têm sido descritos, como por exemplo,

a tolerância (TOMASZ *et al.*, 1970). Este fenômeno foi observado primeiramente em pneumococos mutantes (TOMASZ *et al.*, 1970) e, posteriormente, em outras bactérias Gram-positivas como, *Staphylococcus aureus*

\* Bióloga, Auxiliar de Laboratório do Departamento de Análises Clínicas da Universidade Paranaense

\*\* Docentes do Departamento de Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá

\*\*\* Docente da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas

**Endereço para correspondência:** Lourdes Botelho Garcia, Universidade Estadual de Maringá, DAC, Avenida Colombo, 5.790, Bloco I-90, sala 114, Maringá - PR, CEP: 87020-900.

(SABATH *et al.*, 1977) e estreptococos beta-hemolíticos (SLATER & GREENWOOD, 1983; ASSELT & MOULTON, 1993; AVELINO & BENCHETRIT, 1995; ZAOUTIS *et al.*, 1997). O termo tolerante tem sido bastante utilizado para designar certas cepas bacterianas que são inibidas mas não mortas por um determinado agente bactericida, na sua concentração mínima inibitória (CMI). Neste caso, a tolerância é demonstrada por uma significativa disparidade entre a concentração mínima inibitória e a concentração mínima bactericida (CMB), e tem sido considerada presente quando a relação CMB/CMI é igual ou maior que 32 (SABATH *et al.*, 1977).

A importância clínica da tolerância pode ser fundamentada no fato de que agentes bactericidas tais como os antibióticos beta-lactâmicos, geralmente requeridos para o tratamento de infecções disseminadas ou localizadas, podem originar fracas respostas mesmo em concentrações terapêuticas (HANDWERGER & TOMASZ, 1985; KIM & BAYER, 1987).

Levando-se em consideração a interação entre agentes antimicrobianos e microrganismos, vêm sendo desenvolvidos outros estudos que tratam da persistência da supressão do crescimento bacteriano em meio isento de antibiótico após uma exposição prévia a estes agentes. Os primeiros trabalhos que evidenciaram este fenômeno foram realizados com estreptococos (BIGGER, 1944), com estafilococos (BIGGER, 1944; PARKER & LUSE, 1948) e mais tarde, por EAGLE & MUSSELMAN (1949), com diferentes espécies de cocos Gram-positivos. Estes autores demonstraram que as amostras bacterianas expostas à penicilina por um curto período de tempo sofreram danos não letais que causaram uma supressão no crescimento. Esses efeitos persistiram quando os microrganismos foram transferidos para meios de cultura sem antibiótico. Atualmente, tal fenômeno é denominado de efeito pós-antibiótico (McDONALD *et al.*, 1977).

Recentemente, outros investigadores observaram o efeito pós-antibiótico tanto em bactérias Gram-positivas como em bactérias

Gram-negativas (CRAIG & GUDMUNDSSON, 1991; GARCIA *et al.*, 1995). A duração do efeito pós-antibiótico varia entre as espécies bacterianas e depende principalmente da concentração do agente antimicrobiano e do tempo de exposição da cultura (BUNDTZEN *et al.*, 1981). Até o momento, todos os agentes antimicrobianos testados podem induzir o aparecimento do efeito pós-antibiótico em culturas de cocos Gram-positivos aeróbios. Por outro lado, somente os aminoglicosídeos, quinolonas, cloranfenicol, rifampicina, tetraciclina e os beta-lactâmicos, imipenem e meropenem, têm sido responsáveis pelo efeito pós-antibiótico em bactérias Gram-negativas (CRAIG & GUDMUNDSSON, 1991; WALSH *et al.*, 1995).

Segundo BUSH *et al.* (1989), o efeito pós-antibiótico é um parâmetro farmacodinâmico e estudos que utilizam animais de laboratório também demonstraram a sua ocorrência *in vivo* (ODENHOLT *et al.*, 1988; VOGELMAN *et al.*, 1988). O maior significado clínico do efeito pós-antibiótico pode estar relacionado com suas aplicações sobre o regime de tratamento com agentes antimicrobianos. Dosagens terapêuticas contínuas seriam necessárias na ausência do efeito pós-antibiótico. Entretanto, na presença do efeito pós-antibiótico, dosagens intermitentes ou descontínuas seriam suficientes para manter a inibição do crescimento bacteriano.

Embora o efeito pós-antibiótico tenha sido demonstrado sobre o crescimento de diferentes espécies bacterianas, pouco se conhece a respeito de sua influência sobre amostras tolerantes a antibióticos. Devido a indiscutível importância dos estreptococos beta-hemolíticos como patógenos humanos e considerando que a penicilina é a droga de escolha no tratamento das infecções causadas por estes microrganismos, o presente trabalho teve como objetivo determinar e avaliar o efeito pós-antibiótico da penicilina no crescimento e na morfologia de amostras de estreptococos do grupo A e G de Lancefield tolerantes e não-tolerantes a este agente antimicrobiano.

## Material e Método

### Amostras bacterianas

Foram selecionadas quatro amostras de estreptococos beta-hemolíticos, sendo duas do grupo A de Lancefield (SA43 e SA44) e duas do grupo G (SG51 e SG67). Todas as amostras foram isoladas da orofaringe de pacientes não hospitalizados que apresentavam faringite estreptocócica e foram fornecidas pelo Laboratório de Microbiologia da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, Alfenas - MG.

### Antibiótico e meios de cultura

O antibiótico utilizado foi a penicilina G potássica (potência 1.594 U/mg, Laboratório Wyeth Ltda). Soluções de 1mg/ml foram preparadas em água destilada, esterilizadas por filtração em membrana Millipore (tipo HA, Millipore Corp.) e conservadas na forma congelada até o momento do uso.

O caldo "Brain Heart Infusion" (Difco) foi utilizado na determinação da concentração mínima inibitória e no estudo do efeito pós-antibiótico da penicilina. O meio sólido "Tryptose Blood Agar Base" (Difco), acrescido de 5% de sangue desfibrinado de carneiro, foi empregado para a realização das contagens de bactérias viáveis, através da determinação do número de unidades formadoras de colônias (UFC/ml).

### Determinação da concentração mínima inibitória e bactericida

O inóculo de cada amostra correspondeu a uma suspensão bacteriana padronizada para aproximadamente  $10^5$ - $10^6$  UFC/ml e foi preparado a partir de uma cultura em caldo, previamente incubada à 37°C por 6 horas. Em seguida, diferentes concentrações de penicilina (1,28µg/ml a 0,005µg/ml) foram preparadas através de diluições seriadas (log 2) com 1,0 ml de caldo e acrescidas de igual volume do inóculo. Um tubo contendo 1,0 ml de meio de cultura isento de antibiótico e 1,0 ml do inóculo foi utilizado como controle de crescimento. A concentração mínima inibitória foi considerada a menor concentração do antibiótico capaz de inibir o crescimento bacteriano após incubação por 18 horas a 37°C (AMSTERDAM, 1991).

As culturas das diluições utilizadas na determinação da concentração mínima inibitória que não apresentaram crescimento foram submetidas a agitação vigorosa por 15 segundos e, em seguida, foram diluídas e cultivadas em meio solidificado. Após o período de incubação de 24 horas à 37°C foi realizada a contagem de colônias para a determinação do número de bactérias viáveis (UFC/ml). A concentração mínima bactericida correspondeu a menor concentração do antibiótico que matou 99,9% das células do inóculo original (AMSTERDAM, 1991).

### Determinação da tolerância bacteriana à penicilina

A tolerância à penicilina para cada amostra foi considerada presente quando a relação entre a concentração mínima bactericida e a concentração mínima inibitória (CMB/CMI) foi igual ou maior que 32 (AVELINO & BENCHETRIT, 1995).

### Determinação do efeito pós-antibiótico

Para a determinação do efeito pós-antibiótico foi utilizado como inóculo uma cultura de cada amostra, em fase logarítmica de crescimento, com turvação equivalente a 0,2 unidades de densidade óptica ( $A=540$  nm). Um volume de 0,5 ml da suspensão foi transferido para 4,5 ml de caldo acrescido de penicilina para obtenção de uma concentração final equivalente a 1xCMI. Uma outra alíquota de 0,5 ml foi transferida para um tubo contendo 4,5 ml do mesmo meio, porém, sem antibiótico, e utilizada como cultura controle. As duas culturas foram incubadas a 37°C por 2 horas. Ao final do período de incubação as células foram sedimentadas por centrifugação a 2.500 RPM por 10 minutos, submetidas a duas lavagens com 5,0 ml de NaCl 0,15M estéril e reincubadas a 37°C por 8 horas. As contagens de microrganismos viáveis foram realizadas em intervalos de 1 hora e utilizadas para a elaboração das curvas de crescimento (GARCIA *et al.*, 1995).

A partir dos resultados presentes no gráfico, o efeito pós-antibiótico foi calculado segundo CRAIG & GUDMUNDSSON (1991), através da fórmula:  $EPA = T - C$ , onde T é o tempo, em horas, necessário para a cultura tratada aumentar 1 log<sub>10</sub> no

crescimento após a remoção do antibiótico e C, é o tempo requerido, após a lavagem, para a cultura controle aumentar 1 log<sub>10</sub>.

### Estudo da morfologia bacteriana

Para o estudo da morfologia celular, durante e após o efeito pós-antibiótico da penicilina, foram preparados esfregaços em lâminas com volumes de 10µl de cada cultura, a cada hora, até a fase final da curva de crescimento. Os esfregaços foram fixados pelo calor e em seguida corados pelo método de Gram. Posteriormente, os estreptococos previamente tratados com penicilina foram observados ao microscópio óptico (fotomicroscópio Wild M20), sob objetiva de imersão (100x), visando a avaliação dos efeitos persistentes do antibiótico sobre a morfologia, dimensão e arranjos celulares em comparação com a cultura controle (GARCIA *et al.*, 1995).

### Resultados

O valor da concentração mínima inibitória da penicilina para as amostras bacterianas SA43, SA44 e SG67 foi 0,02 µg/ml e 0,01 µg/ml para a amostra SG51. Em relação à concentração mínima bactericida, o valor encontrado para as amostras do grupo A, SA43 e SA44 respectivamente, foi de 0,64 e 0,02 µg/ml e para o grupo G foi respectivamente 0,32 e 0,04 µg/ml para as amostras SG51 e SG67. Através da relação CMB/CMI as amostras SA43 e SG51 apresentaram tolerância à penicilina e as amostras SA44 e SG67 foram consideradas cepas não-tolerantes. As características das quatro amostras estudadas estão resumidas na Tabela 1.

A exposição prévia por duas horas em meio contendo 1 x CMI de penicilina promoveu a supressão do crescimento bacteriano de todas as amostras. Estes resultados estabeleceram a presença do efeito pós-antibiótico, tanto nas amostras de

estreptococos tolerantes à penicilina quanto nas amostras não-tolerantes (Tabela 1).

O efeito pós-antibiótico obtido para a amostra do grupo A não-tolerante à penicilina foi de 2,60 horas (Figura 1A), no qual T correspondeu a 4,90 horas e representou o tempo necessário para a cultura tratada com 1 x CMI do antibiótico aumentar 1 log no crescimento, após a remoção da penicilina (5,77 - 6,77) e C foi calculado em 2,30 horas e representou o tempo requerido para o crescimento de 1 log da cultura controle (5,93 - 6,93). Para a amostra tolerante do grupo A, o efeito pós-antibiótico foi de 2,50 horas (Figura 1B), onde o tempo necessário para o crescimento de 1 log da cultura tratada com penicilina (3,92 - 4,92) correspondeu a 4,10 horas e o tempo requerido para o crescimento de 1 log da cultura controle (5,91 - 6,91) foi calculado em 1,60 horas.

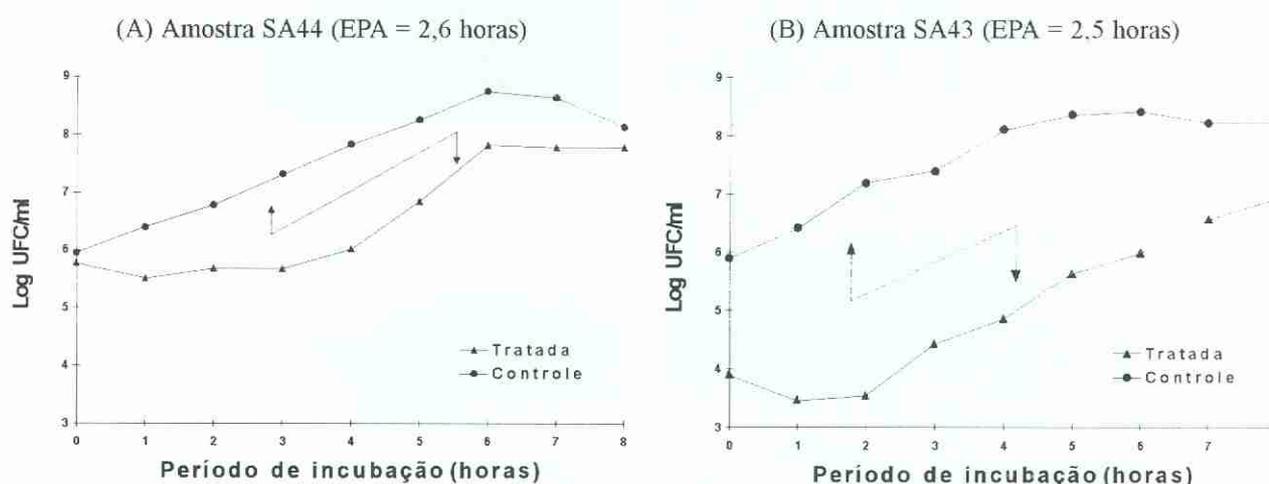
Entre as amostras do grupo G, o efeito pós-antibiótico foi de 3,75 horas para a amostra não-tolerante (Figura 2A), onde T correspondeu a 5,55 horas (5,95 - 6,95) e C foi calculado em 1,80 horas (5,40 - 6,40). Com relação à amostra não-tolerante o efeito pós-antibiótico foi de 2,35 horas (Figura 2B), no qual T correspondeu a 4,60 horas (6,30 - 7,30) e C foi calculado em 2,25 horas (5,73 - 6,73).

Através de observações realizadas ao microscópio óptico com a objetiva de imersão, foi verificado que as células bacterianas de todas as amostras estudadas, quando cultivadas em meio sem antibiótico, independente do período de incubação, apresentaram a característica do gênero, ou seja, forma esférica e dispostas predominantemente em cadeias longas (Figura 3A e 3C). Em relação às culturas das amostras tolerantes que receberam o tratamento prévio com penicilina, foi observado alterações pronunciadas na morfologia e no tamanho das células durante o período de ocorrência do efeito pós-antibiótico (Figura 3B e 3D).

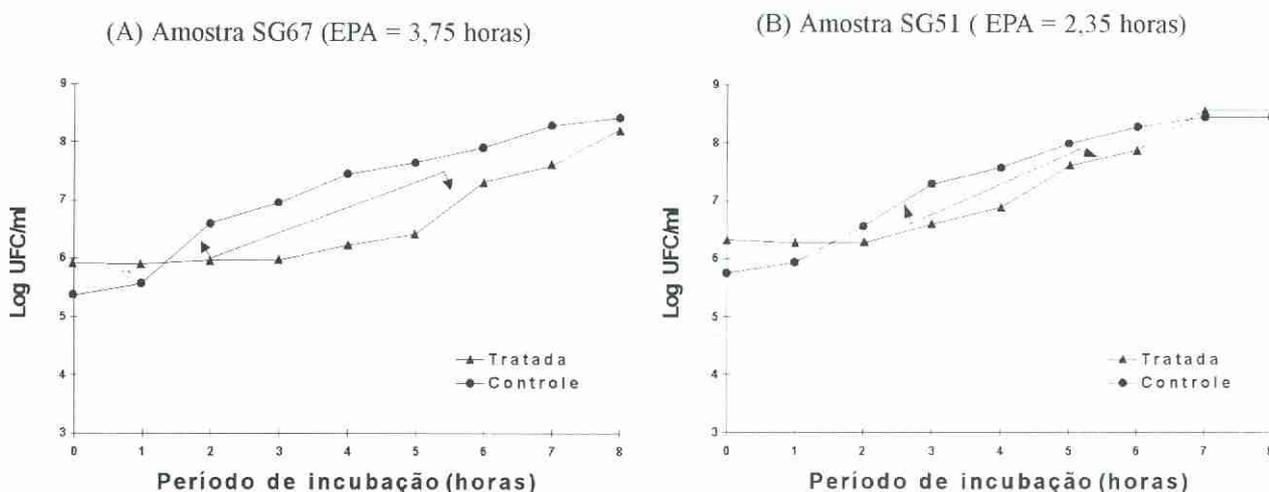
**Tabela 1** - Características das quatro amostras de estreptococos beta-hemolíticos de origem humana, isoladas da orofaringe.

Amostra	Grupo Sorológico	CMI <sup>1</sup> (µg/ml)	CMB <sup>2</sup> (µg/ml)	Relação CMB/CMI	Tolerância	EPA <sup>3</sup> (h)
SA44	A	0,02	0,02	1	- <sup>4</sup>	2,60
SA43	A	0,02	0,64	32	+ <sup>5</sup>	2,50
SG67	G	0,02	0,04	2	-	3,75
SG51	G	0,01	0,32	32	+	2,35

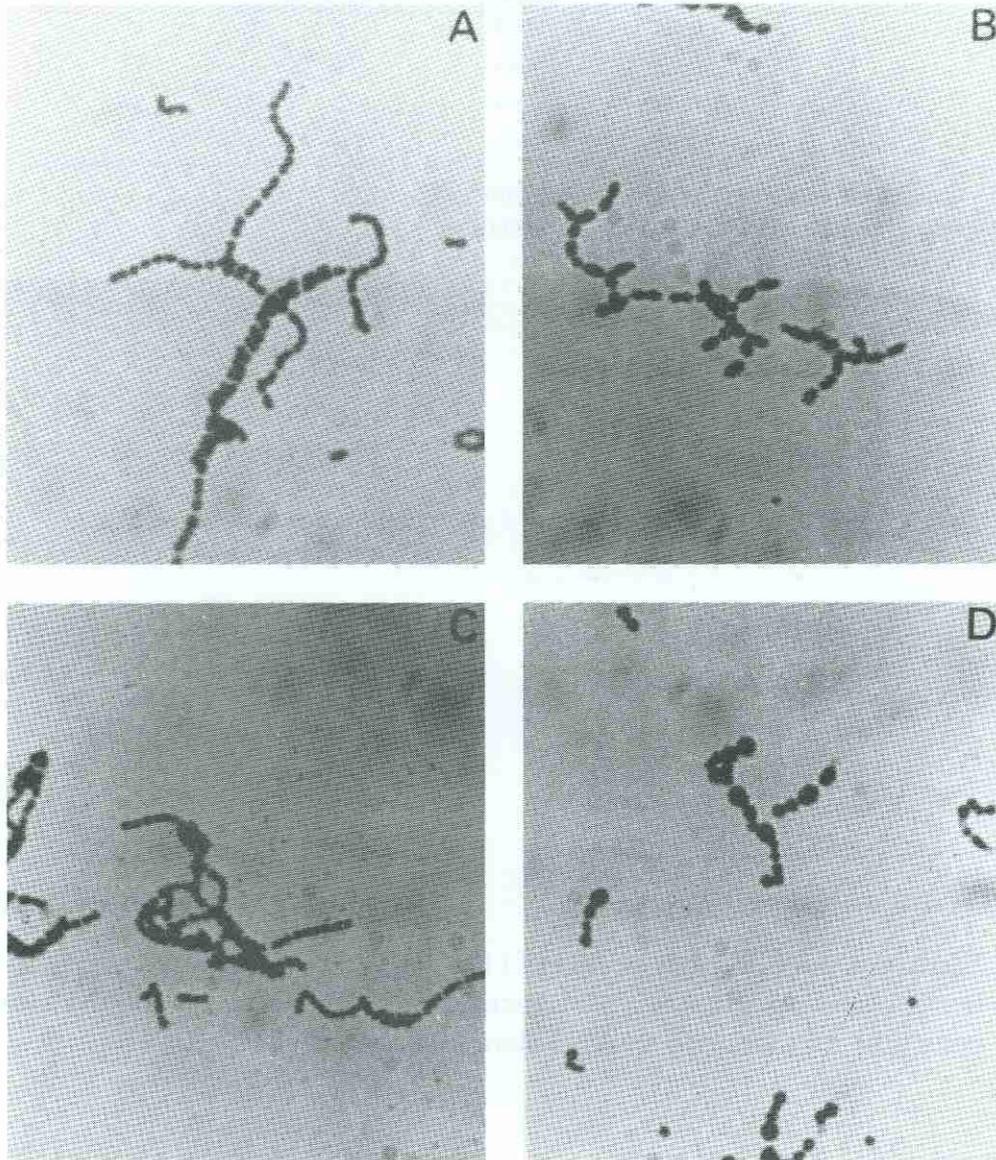
**Legenda:** 1 - Concentração mínima inibitória da penicilina  
 2 - Concentração mínima bactericida da penicilina  
 3 - Efeito pós-antibiótico da penicilina  
 4 - Ausente  
 5 - Presente



**Figura 1** - Efeito pós-antibiótico da penicilina (1x CMI) no crescimento de estreptococos beta-hemolíticos do grupo A de Lancefield. (A) amostra SA44. Não-tolerante à penicilina. (B) amostra SA43. Tolerante à penicilina.



**Figura 2** - Efeito pós-antibiótico da penicilina (1 x CMI) no crescimento de estreptococos beta-hemolíticos do grupo G de Lancefield. (A) amostra SG67. Não-tolerante à penicilina. (B) amostra SG51. Tolerante à penicilina.



**Figura 3** - Estreptococos beta-hemolíticos dos grupos A e G de Lancefield tolerantes à penicilina, corados pelo método de Gram e observados ao microscópio ótico sob objetiva de imersão. Amostra SA43: (A) cultura controle. (B) cultura de 1 hora após exposição a 1xCMI de penicilina, seguida de lavagem e centrifugação. Amostra SG51: (C) cultura controle. (D) cultura de 2 horas após exposição a 1xCMI de penicilina, seguida de lavagem e centrifugação.

Nestas culturas, as bactérias perderam a forma esférica, ocorrendo a predominância de formas ovais e alongadas. O tamanho também se apresentou irregular, sendo sempre maior que o tamanho das células da cultura

controle. Durante a fase do efeito pós-antibiótico, as células das amostras tolerantes permaneceram em cadeias curtas, isoladas, aos pares e em pequenos agrupamentos irregulares. Entretanto, nos períodos de

crescimento que precederam a fase do efeito pós-antibiótico, as bactérias apresentaram as mesmas características do controle. Nenhuma alteração morfológica ou dimensional significativa foi observada entre as amostras não-tolerantes, durante ou após o efeito pós-antibiótico. Com relação às estas amostras, foi possível observar apenas alterações nos arranjos celulares, com predominância de células isoladas, aos pares e em cadeias curtas

### Discussão

O efeito pós-antibiótico em cocos Gram-positivos tem sido demonstrado para diversos antimicrobianos, em diferentes espécies bacterianas (McDONALD *et al.*, 1977; BUNDTZEN *et al.*, 1981; CRAIG & EBERT, 1991; HOWARD *et al.*, 1994; GARCIA *et al.*, 1995).

De acordo com nossos resultados, verificamos que o tratamento prévio com a concentração de 1 x CMI de penicilina induziu o aparecimento do efeito pós-antibiótico em todas as amostras estudadas. Estes resultados também demonstraram que, para as amostras do grupo A, não houve interferência do fenômeno da tolerância, pois, as duas amostras apresentaram praticamente o efeito pós-antibiótico com a mesma duração. No entanto, para as amostras do grupo G, parece que tal fenômeno teve maior significado pois, a amostra tolerante apresentou um efeito pós-antibiótico relativamente menor que a não-tolerante. Contudo, para comprovação das supostas diferenças ocorridas entre os valores encontrados do efeito pós-antibiótico da penicilina para as amostras do grupo G, serão necessários estudos complementares, tais como verificar o efeito em um número maior de amostras, testar diferentes concentrações do inóculo, do antibiótico, além de diferentes tempos de exposição das culturas às drogas.

A duração do efeito pós-antibiótico *in vitro* é dependente principalmente do tipo de antimicrobiano e do microrganismo. Entretanto, este fenômeno também depende da concentração do antibiótico empregado e do tempo de exposição do antimicrobiano sobre os microrganismos, existindo um nível máximo de resposta. Esta saturação do efeito

pós-antibiótico tem sido observada com todos os microrganismos estudados (BUNDTZEN *et al.*, 1981; GOTTFREDSSON *et al.*, 1991).

Considerando que o efeito pós-antibiótico é dependente da concentração do antimicrobiano, nossos resultados foram semelhantes aos encontrados por GARCIA *et al.* (1995), cujo efeito da penicilina utilizada na mesma concentração (1 x CMI), em uma amostra de estreptococos do grupo A não-tolerante foi de 2,8 horas. Entretanto, ambos foram diferentes daqueles encontrados por ODENHOLT *et al.* (1989). Nos estudos realizados por estes autores, o efeito pós-antibiótico para uma amostra de estreptococos do grupo A foi de 2,40 horas, quando exposta a uma concentração de 10 x CMI de penicilina por 2 horas. Neste caso, além da concentração do antibiótico, outros fatores como os sorotipos das amostras, as condições de cultivo e a concentração do inóculo poderiam estar influenciando os resultados, justificando a diferença dos achados (XIONG *et al.*, 1996). Além disso, a existência de um nível de saturação entre as concentrações de penicilinas utilizadas, poderia justificar a semelhança dos efeitos obtidos.

O exato mecanismo envolvido no aparecimento do efeito pós-antibiótico é desconhecido. Uma hipótese para explicar a sua ocorrência seria a possibilidade do antibiótico se ligar a sítios críticos do microrganismo, em quantidade suficiente para causar um efeito bacteriostático (McDONALD *et al.*, 1977). Com relação aos antibióticos beta-lactâmicos é sabido que os mesmos se ligam de maneira covalente à proteínas ligadoras de penicilina (PLPs), algumas das quais com atividade enzimática na síntese da parede celular. Desta forma, o efeito pós-antibiótico poderia representar o tempo requerido para os microrganismos sintetizarem essas enzimas ou o tempo necessário para ocorrer a liberação das mesmas, ainda ligadas ao antimicrobiano (CRAIG & GUDMUNDSSON, 1991).

Estas hipóteses procuram explicar a ocorrência da supressão no crescimento dos microrganismos após a remoção do antibiótico. Esse fenômeno seria causado

pelos danos não letais e reversíveis provocados nas células. Essas mesmas células retornariam gradativamente a um metabolismo normal, garantindo o crescimento da amostra (MacKENZIE & GOULD, 1993). O efeito pós-antibiótico resultaria de uma inibição do crescimento bacteriano com um conseqüente prolongamento da fase lag. Entretanto, em nossos estudos, verificamos que até a primeira hora de cultivo após a remoção da penicilina, o fenômeno de morte ainda está ocorrendo. Este efeito bactericida, somado às alterações das células viáveis que provocam o retardamento da divisão celular, poderiam contribuir no prolongamento do efeito pós-antibiótico (GARCIA *et al.*, 1995).

Além das alterações fisiológicas que ocorrem durante o período do efeito pós-antibiótico, outras alterações em nível de dimensão e morfologia celular podem ocorrer concomitantemente. Nossos resultados demonstraram a presença de alterações no tamanho e forma celular quando as amostras tolerantes foram tratadas com penicilina.

Não existem até o momento na literatura, informações a respeito do efeito pós-antibiótico sobre a morfologia dos estreptococos do grupo G de Lancefield. GARCIA *et al.* (1995) investigaram a influência da penicilina sobre a morfologia e o comprimento das cadeias de estreptococos do grupo A de Lancefield. Os resultados apresentados pelos autores foram semelhantes àqueles observados em nosso trabalho com as amostras tolerantes, uma vez que a presença de cadeias longas apresentando células intimamente ligadas entre si foi uma característica encontrada na cultura controle em todas as etapas do crescimento, e somente após o efeito pós-antibiótico, na cultura tratada.

A presença predominante de células com morfologia alterada, durante o efeito pós-antibiótico foi também observada por GOTTFREDSSON *et al.* (1991), em *S. aureus* tratados com ciprofloxacina (2 x CMI). As alterações provocadas por esta quinolona foram heterogêneas, ou seja, afetaram as células da cultura em diferentes níveis e, segundo os autores, poderia ser devido aos

microrganismos da cultura que se encontram em diferentes fases de crescimento, durante o efeito pós-antibiótico.

### Conclusão

Um grande número de agentes químicos, entre eles, os antibióticos, podem influenciar a expressão fenotípica de uma população bacteriana podendo alterar inclusive, o seu grau de virulência (LORIAN & ATKINSON, 1976). Portanto, estudos complementares são necessários para verificar a presença de tais efeitos em amostras de estreptocócós beta-hemolíticos e a sua influência na patogenicidade destes microrganismos.

### Referências Bibliográficas

- AMSTERDAM, D. **Susceptibility testing of antimicrobials in liquid media**. In: Lorian, V. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Baltimore, Williams and Wilkins, 1991, p. 53-105
- ASSELT, G. J. V.; MOULTON, R. P. Detection of penicillin tolerance in *Streptococcus pyogenes*. **J. Med. Microbiol.**, **38**: 197-202, 1993.
- AVELINO, C. C.; BENCHETRIT, L. C. Penicillin tolerance among beta-hemolytic streptococci and production of the group carbohydrates, hemolysins, hyaluronidases and deoxyribonucleases. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, **90**: 529-534, 1995.
- BIGGER, J. W. The bactericidal action of penicillin on *Staphylococcus pyogenes*. **Irish J. Med. Sci.**, **227**: 553-568, 1944.
- BUNDTZEN, R. W.; GERBER, A. U.; COHN, D. L.; CRAIG, W. A. Postantibiotic suppression of bacterial growth. **Rev. Infect. Dis.**, **3**:28-27, 1981.
- BUSH, L. M.; BOSCIA, J. A.; WENDLER, M.; PITSAKIS, P. G.; KAYE, D. *In vitro* postantibiotic effect of daptomycin (LY146032) against *Enterococcus faecalis* and methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. **Antimicrob. Agents Chemother.**, **33**: 1198-1200, 1989.
- CRAIG, W. A.; EBERT, S. C. Killing and regrowth of bacteria *in vitro*: a review. **Scand. J. Infect. Dis.** **74**: (suppl.): 63-70, 1991.
- CRAIG, W. A.; GUDMUNDSSON, S. Postantibiotic effect. In: Lorian, V. **Antibiotics in Laboratory Medicine**. Baltimore, Williams and Wilkins, 1991, p. 403-431.

- EAGLE, H.; MUSSELMAN, A. D. The slow recovery of bacteria from the toxic effects of penicillin. **J. Bacteriol.**, **58**: 475-490, 1949.
- GARCIA, L. B.; BENCHETRIT, L. C.; BARRUCAND, L. Penicillin post-antibiotic effects on the biology of group A Streptococci. **J. Antimicrob. Chemother.**, **36**: 475-482, 1995.
- GOTTFREDSSON, M.; ERLENDSDOTTIR, H.; KOLKA, R.; GUDMUNDSSON, S. Metabolic and ultrastructural effects induced by ciprofloxacin in *Staphylococcus aureus* during the postantibiotic effect (PAE) phase. **Scand. J. Infect. Dis.**, **74** (suppl.): 124-128, 1991.
- HANDWERGER, S.; TOMASZ, A. Antibiotic tolerance among clinical isolates of bacteria. **Rev. Infect. Dis.**, **7**: 368-386, 1985.
- HOWARD, B. M. A.; PINNEY, R. J.; SMITH, J.T. Post-Antibiotic Effects of Cefdinir on *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*. **Chemotherapy**, **40**:232-238 1994.
- KIM, K. S.; BAYER, A. S. Significance of *in vitro* penicillin tolerance in experimental enterococcal endocarditis. **J. Antimicrob. Chemother.**, **19**: 475-485, 1987.
- LORIAN, V.; ATKINSON, B. Effects of subinhibitory concentrations of antibiotics on cross walls of cocci. **Antimicrob. Agents Chemother.**, **9**: 1043-1055, 1976.
- MacKENZIE, F. M.; GOULD, I. M. The post-antibiotic effect. **J. Antimicrob. Chemother.**, **32**: 519-537, 1993.
- MCDONALD, P. J.; CRAIG, W. A.; KUNIN, C.M. Persistent effect of antibiotic on *Staphylococcus aureus* after exposure for limited periods of time. **J. Infect. Dis.**, **135**: 217-223, 1977.
- ODENHOLT, I.; HOLM, S. E.; CARL, O. An *in vivo* model for evaluation of the postantibiotic effect. **J. Infect. Dis.**, **20**: 97-103, 1988.
- ODENHOLT, I.; HOLM, S. E.; CARL, O. Effects of benzylpenicillin on *Streptococcus pyogenes* during postantibiotic phase *in vitro*. **J. Antimicrob. Chemother.**, **24**: 147-156, 1989.
- PARKER, R. F.; LUSE, S. The action of penicillin on staphylococcus: further observations on the effect of a short exposure. **J. Bacteriol.**, **56**: 75-81, 1948.
- SABATH, L. D.; WHEELER, N.; LAVERDIERE, M.; BLAZEVIC, D.; WILKINSON, B. J. A new type of penicillin resistance of *Staphylococcus aureus*. **Lancet**, **1**: 443-447, 1977.
- SLATER, G. J.; GREENWOOD, D. Detection of penicillin tolerance in streptococci. **J. Clin. Pathol.** **36**: 1353-1356, 1983.
- TOMASZ, A.; ALBINO, A.; ZANATI, E. Multiple antibiotic resistance in a bacterium with suppressed autolytic system. **Nature**, **227**: 138-140, 1970.
- VOGELMAN, B.; GUDMUNDSSON, S.; TURNIDGE, J.; LEGGETT, J.; CRAIG, W. A. *In vivo* postantibiotic effect in a thigh infection in neutropenic mice. **J. Infect. Dis.**, **157**: 287-298, 1988.
- WALSH, A. L.; SMITH, M. D.; WUTHIEKANUN, V.; WHITE, N. J. Postantibiotic effects and *Burkholderia (Pseudomonas) pseudomallei*: evaluation of current treatment. **Antimicrob. Agents Chemother.**, **39**: 2356-2358, 1995.
- XIONG, Y. Q.; CAILLON, J.; DRUGEON, H. POTE, G.; BARON, D. Influence of pH on adaptive resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides and their postantibiotic effects. **Antimicrob. Agents Chemother.**, **40**: 35-39, 1996.
- ZAOUTIS, T. E.; KLEN, J. D.; EPPES, S. C.; STEELE-MOORE, L.; SCHNEIDER, B. Antibiotic resistance and tolerance among non-group A  $\beta$ -hemolytic streptococci isolated from sterile clinical sites. In: 97th GENERAL MEETING OF AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, 1997, Miami Beach, Florida. **Anais.**, Miami Beach, 1997, p. 15.