

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PERIODONTIA**

**PREVALÊNCIA E SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE
STAPHYLOCOCCUS SPP. EM QUADROS DE SAÚDE E DOENÇA
PERIODONTAL**

Natal/RN

2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Bruna Rafaela Martins dos Santos

**PREVALÊNCIA E SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE
STAPHYLOCOCCUS SPP. EM QUADROS DE SAÚDE E DOENÇA
PERIODONTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UFRN como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Odontologia, área de concentração: Periodontia

Orientador: Prof^a. Dra. Maria Celeste Nunes de Melo

Co-orientador: Prof. Dr. Kenio Costa Lima

Natal/RN

2007

Divisão de Serviços Técnicos
Catalogação da Publicação na Fonte UFRN/Biblioteca Setorial de Odontologia

Santos , Bruna Rafaela Martins dos.

Prevalência e susceptibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus* spp. em quadros de saúde e doença periodontal / Bruna Rafaela Martins dos Santos. – Natal, RN, 2007.

119f.

Orientador: Maria Celeste Nunes de Melo.

Co-orientador: Kenio Costa Lima.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Ciências da Saúde. Departamento de Odontologia. Área de Concentração Periodontia.

1. Doenças periodontais – Dissertação. 2. *Staphylococcus* – Dissertação. 3. Periodontite – Dissertação. 3. Gengivite – Dissertação. I. Melo, Maria Celeste Nunes de. II. Lima, Kenio Costa. III. Título.

RN/UF/BSO

Black D64

DEDICATÓRIAS

A DEUS,

Por me acompanhar nesta trajetória e em todos os momentos de minha vida, pelo amparo, força e coragem a mim dedicados,

A meus Pais, Goretti e Rafael,

Pelo apoio e carinho, pelas palavras de incentivo em dias de dúvida e por acreditarem em mim,

A minha avó, Dona Rita,

Por estar presente em minha vida e me ajudar espiritualmente.

AGRADECIMENTOS

Ao nosso Deus que nos ampara, cuida, ilumina e protege sobre todas as coisas.

A minha mãe querida e fervorosa **Goretti**, que sempre esteve ao meu lado me incentivando, acreditando no meu trabalho e zelando por mim.

Ao meu pai querido **Rafael**, por torcer pelo meu crescimento profissional com seu jeito recatado de ser.

Ao meu irmão **Igor**, por acreditar na minha competência e pela torcida.

Em especial, ao meu namorado **Wilton (Ton)**, que esteve ao meu lado desde o primeiro dia desta jornada, apoiando-me em todos os aspectos, contribuindo de forma direta na construção desta dissertação. Agradeço por todos os momentos dedicados a mim.

Agradeço ao meu cunhado **Vitor** e a sua namorada **Carla** pela grande ajuda em um dos momentos mais difíceis dessa dissertação. Obrigada de coração.

A minha avó **Dona Rita**, que enviou em suas orações força e dedicação para continuar a jornada.

Aos meus tios **Erivânia e Jean**, pela torcida, incentivo e admiração.

A minhas tias **Eridânia e Neta**, pela torcida e demonstração de carinho.

Aos meus futuros sogros **Auxiliadora (Cila) e Wilton**, pela força, carinho e incentivo.

A toda turma do mestrado, **Alexandre, Bruna Amaral, Alinne Alice, Nicole, Flaviana, Jacqueline, Candice, Ezilda, Aline Louise, Wilton, Altaíva, Allan, Ricardo, Bianca, Dyego, Samara, Lailson, Ana Daniela, Gilmara, Iara, Julieta, Irlane, Nair, Fátima, Neuza**, pela

temporada que passamos juntos, pelas amizades conquistadas, pelos ensinamentos e aprendizados, pelo novo olhar sobre a Odontologia.

A turma de Periodontia, **Alexandre Pinto, Bruna Amaral, Alinne Alice, Marianne Nicole, Flaviana Camelo, Jacqueline Garcia e Candice Freitas**, pelos momentos juntos, pela troca de conhecimentos, pela amizade e companheirismo.

Aos voluntários que participaram da pesquisa, agradeço pela disposição.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, **Dr. Seabra, Dra. Adriana da Fonte, Dr. Marcílio Dias, Dr. Kenio Lima, Dr. Ângelo Roncalli, Dra. Ângela Ferreira, Dra. Íris do Céu, Dra. Elizabethe, Dra. Isauremi, Dra. Maria Celeste, Dra. Maria do Socorro** que nos enriqueceram de conhecimentos e pela amizade.

A **Adriana, Camila e Patrícia** que me ajudaram em vários momentos da pesquisa.

Aos meus colegas de trabalho **Tatiana, Camila Pontes, Ana Rafaela, Denise, Michelson, Heverton** que conviveram comigo neste período, agradeço pelo companheirismo e compreensão.

Aos meus companheiros de laboratório **Talles, Ariza, Clarissa, Tiago e Ridiiane** que me ajudaram imensamente na realização desta pesquisa, sejam nos momentos de coleta do material para estudo, na semeadura das bactérias, nos meios de cultura, na lavagem de materiais, na esterilização dos mesmos; agradeço de coração pela dedicação, pelas amizades construídas, pelo conforto nos dias difíceis, pelo carinho demonstrado, pela compreensão e paciência comigo.

Ao meu outro companheiro de guerra, **Márcio**, que tanto ajudou no decorrer da pesquisa.

A **Atáíva**, grande lutadora, pela companhia e colaboração, pelas conversas e compreensão.

A **Isabel**, grande figura, que também participou nesta pesquisa e pelo incentivo em todo percurso.

A **Sandra**, secretária da Pós-Graduação, pela amizade construída, pelos momentos dispensados para o desenvolvimento da pesquisa e pelo incentivo.

Um agradecimento especial ao grande mentor de todo este trabalho, **Professor Kenio**, de cuja idéia partiu baseado no furor da busca pelo conhecimento científico. Um grande orientador e pesquisador, agradeço-te por tudo.

A minha orientadora titular, **Professora Celeste**, pelos ensinamentos de toda metodologia do trabalho, pela construção do mesmo, pelos momentos de desafio a mim empenhado; agradeço também pela compreensão, amizade e a nossa conquista, embora em áreas diferentes, mas com pensamentos e objetivos similares. Nunca esquecerei de seus ensinamentos na microbiologia e espero ainda participar em trabalhos futuros.

A **Ermerton**, pela força, espontaneidade e simpatia.

A **Francisco**, um grande colaborador no laboratório, principalmente nas etapas finais onde sua participação foi crucial para o fechamento da pesquisa. Agradeço por sua dedicação, disposição, pontualidade e amizade.

"O VALOR DE UMA VITÓRIA RESIDE NO SIGNIFICADO DA LUTA"
(ROBERTO SHINYASHIKI)

Resumo

O objetivo deste estudo foi determinar a prevalência e a susceptibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus* spp. em quadros de saúde e doença periodontal, relacionando-as com fatores do hospedeiro, do meio ambiente local e próprios das doenças. Para tanto, foram selecionados 30 indivíduos adultos, entre 19 e 55 anos, que apresentassem sítios periodontais saudáveis, com gengivite crônica e/ou periodontite crônica, sem tratamento periodontal, e que não tivessem usado antibiótico ou antimicrobiano nos últimos três meses. De cada paciente foram coletadas 18 amostras de biofilme subgengival, sendo 6 por elemento dentário sorteado com as condições supracitadas. Com o auxílio de pontas de papel absorventes estéreis, tais amostras foram coletadas do sulco gengival ou bolsa periodontal, semeadas em Agar Manitol Salgado e incubadas a 37^oC por 48 horas. A identificação de *Staphylococcus* spp. se deu através da coloração de Gram, prova da catalase, susceptibilidade à bacitracina e prova da coagulase livre. Após a identificação, as amostras foram submetidas ao teste de susceptibilidade a doze antimicrobianos, através da técnica de Kirby-Bauer. Para o estabelecimento da relação entre a presença de estafilococos coagulase-negativos, os níveis de infecção dos mesmos e os fatores do hospedeiro, do meio ambiente local e próprios das doenças, foram usados os testes do Qui-quadrado, Mann-Whitney e Kruskal-Wallis para um nível de confiança de 95%. Quanto à prevalência de estafilococos coagulase-negativos, 86,7% dos indivíduos albergavam este microrganismo em 11,7% dos sítios periodontais, sendo distribuídos em 12,1% entre os saudáveis, 11,7% com gengivite crônica, 13,5% com periodontite crônica leve, 6,75% com periodontite crônica moderada e nenhum sítio com periodontite crônica severa (p=0,672). Não houve associação significativa na frequência de isolamento ou nos níveis de infecção de ECN com fatores do hospedeiro, do meio ambiente local e próprios das doenças. Dentre as 74 cepas isoladas de ECN, a maior resistência observada neste estudo foi à penicilina (55,4%), eritromicina (32,4%), tetraciclina (12,16%) e clindamicina (9,4%). Cinco vírgula três por cento das cepas foram resistentes à oxacilina e à meticilina. Nenhuma cepa apresentou resistência aos antibióticos ciprofloxacina, rifampicina e vancomicina. Conclui-se, portanto, que os estafilococos estão presentes em baixos números em sítios periodontais saudáveis e doentes numa proporção equivalente. Porém, uma tendência foi observada em relação ao decréscimo de sua ocorrência em quadros mais avançados da doença periodontal. Essa baixa prevalência de SCN não esteve associada a nenhuma das variáveis testadas nesse estudo. O perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos demonstrou uma elevada resistência à penicilina, porém uma baixa resistência à meticilina. Para a eritromicina, tetraciclina e clindamicina foi encontrada uma resistência significativa.

Palavras-chave: *Staphylococcus*, periodontite, biofilme, subgengival, gengivite.

Abstract

The aim of this study was determine the prevalence and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* spp. from patients with periodontal disease and periodontally healthy, correlate them with factors to host, local environment and traits of the diseases. To this, thirty adults from 19 to 55 years old were selected. They had not periodontal treatment and no antibiotic or antimicrobial was administered during three previous months. From these individuals, sites periodontally healthy, with chronic gingivitis and/or periodontitis were analyzed. Eighteen subgingival dental biofilm samples were collected through sterile paper points being six from each tooth randomly selected, representing conditions mentioned. They were transported to Oral Microbiology laboratory, plated onto Mannitol Salt Agar (MSA) and incubated at 37⁰C in air for 48 h. *Staphylococcus* spp. were identified by colonial morphology, Gram stain, catalase reaction, susceptibility to bacitracin and coagulase activity. After identification, strains were submitted to the antibiotic susceptibility test with 12 antimicrobials, based on Kirby-Bauer technique. To establish the relation between coagulase-negative *Staphylococcus* (CSN) presence and their infection levels and host factors, local environment and traits of diseases were used Chi-square, Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests to a confidence level of 95%. 86,7% subjects harbored CSN in 11,7% periodontal sites. These prevalence were 12,1% in healthy sites, 11,7% in chronic gingivitis, 13,5% in slight chronic periodontitis, 6,75% in moderate chronic periodontitis and in sites with advance chronic periodontitis was not isolated CSN, without difference among them ($p = 0,672$). There was no significant difference to presence and infection levels of CSN as related to host factors, local environment and traits of the diseases. Amongst the 74 samples of CSN isolated, the biggest resistance was observed to penicillin (55,4%), erythromycin (32,4%), tetracycline (12,16%) and clindamycin (9,4%). 5,3% of the isolates were resistant to oxacilin and methicillin. No resistance was observed to ciprofloxacin, rifampicin and vancomycin. It was concluded that staphylococci are found in low numbers in healthy or sick periodontal sites in a similar ratio. However, a trend was observed to a reduction in staphylococci occurrence toward more advanced stages of the disease. This low prevalence was not related to any variables analyzed. Susceptibility profile to antibiotics demonstrates a raised resistance to penicillin and a low one to methicillin. To erythromycin, tetracycline and clindamycin was observed a significant resistance.

Key Words: *Staphylococcus*, periodontitis, biofilm, subgingival, gingivitis.

LISTA DE ABREVIATURAS

DV – Sítio disto-vestibular
V – Sítio vestibular
MV – Sítio mésio-vestibular
DL – Sítio disto-lingual
L – Sítio lingual
ML – Sítio mésio-lingual
TSA – Tryptic Soy Agar
TSB – Tryptic Soy Broth
AMS – Agar Manitol Salgado
CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute
ATCC – American Type Culture Collection
UFC – Unidade Formadora de Colônia
ISG – Índice de Sangramento Gengival
ISG_G - Índice de Sangramento Gengival por Indivíduo
ISG_D - Índice de Sangramento Gengival dos dentes coletados
ECN – Estafilococos coagulase-negativos
SPSS – Statistical Package for Social Sciences
CPI – Índice Periodontal Comunitário
MSCRAMM - Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules
FAME – Fatty-Acid Modifying Enzymes
AAP – Associação Americana de Periodontologia
AIDS – Síndrome da imunodeficiência adquirida
MRSA – Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*
MSSA – Methicillin-Sensible *Staphylococcus aureus*
R-MLS_{Bc} – Resistance-Macrolides, Lincosamides and Streptogramin B Constitutive
R-MLS_{Bi} – Resistance-Macrolides, Lincosamides and Streptogramin B Inducible
MS_B – Macrolides and Streptogramin B
SBBrasil – Saúde Bucal Brasil

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Principais estruturas do periodonto. Natal/RN, 2007 24
- Figura 2:** Coleta do biofilme subgengival com ponta de papel absorvente (1); Semeadura em AMS (2); UFC isoladas em AMS (3); Colônia repicada para o TSB (4); Coloração de Gram (5); Colônias repicadas para o TSA (6); Prova da catalase (7); Prova da coagulase livre (8). Natal/RN, 2007 57
- Figura 3:** Representação gráfica da Prevalência de *Staphylococcus* coagulase-negativos no biofilme subgengival dos indivíduos pesquisados. Natal/RN, 2007..... 67
- Figura 4:** Representação gráfica da Prevalência de *Staphylococcus* coagulase-negativos no biofilme subgengival dos sítios periodontais pesquisados. Natal/RN, 2007..... 68
- Figura 5:** Representação gráfica da Prevalência de *Staphylococcus* coagulase-negativos no biofilme subgengival de acordo com a condição periodontal dos sítios examinados. Natal/RN, 2007..... 69
- Figura 6:** Representação gráfica da Prevalência de *Staphylococcus* coagulase-negativos por tipo de sítio periodontal examinado. Natal/RN, 2007..... 70

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1:** Referência bibliográfica, objetivos, metodologia e resultados do trabalho de Dahlén e colaboradores, selecionado para a revisão sistemática sobre a presença de *Staphylococcus* spp. no biofilme subgengival de sítios periodontais. Natal/RN, 2007 38
- Quadro 2:** Referência bibliográfica, objetivos, metodologia e resultados do trabalho de Murdoch e colaboradores, selecionado para a revisão sistemática sobre a presença de *Staphylococcus* spp. no biofilme subgengival de sítios periodontais. Natal/RN, 2007 40
- Quadro 3:** Referência bibliográfica, objetivos, metodologia e resultados do trabalho de Loberto e colaboradores, selecionado para a revisão sistemática sobre a presença de *Staphylococcus* spp. no biofilme subgengival de sítios periodontais. Natal/RN, 2007 42
- Quadro 4:** Variáveis dependentes analisadas no estudo. Natal/RN, 2007 58
- Quadro 5:** Variáveis independentes analisadas no estudo. Natal/RN, 2007 59

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Análise descritiva das variáveis independentes categóricas considerando os indivíduos, em números absolutos e respectivos percentuais. Natal/RN, 2007 64
- Tabela 2:** Médias, desvios-padrões, medianas e quartis 25 e 75 para as variáveis independentes quantitativas idade, quantidade de açúcar no sangue (em mg/dL), ISG_G, ISG_D, profundidade da sondagem, recessão gengival e nível de inserção. Natal/RN, 2007 65
- Tabela 3:** Análise descritiva das variáveis independentes categóricas considerando os elementos dentários e sítios periodontais, em números absolutos e respectivos percentuais. Natal/RN, 2007..... 66
- Tabela 4:** Números absolutos e relativos de sítios com presença ou ausência de *Staphylococcus* coagulase-negativos em relação às variáveis independentes categóricas e seus respectivos níveis de significância estatística. Natal/RN, 2007..... 71
- Tabela 5:** Medianas, quartis 25 e 75, média dos postos, valores de U e significância estatística para as variáveis independentes quantitativas idade, quantidade de açúcar no sangue (em mg/dL), ISG_G, ISG_D, profundidade da sondagem, recessão gengival e nível de inserção em relação a presença de ECN no sítio periodontal examinado. Natal/RN, 2007..... 72
- Tabela 6:** Valores absolutos e percentuais de sítios periodontais com diferentes níveis de infecção por *Staphylococcus* coagulase-negativos e as variáveis independentes categóricas, e a significância estatística por indivíduo. Natal/RN, 2007..... 74
- Tabela 7:** Medianas, quartis 25 e 75, média dos postos, valores de KW e significância estatística para as variáveis independentes quantitativas idade, quantidade de açúcar no sangue (em mg/dL), ISG_G, ISG_D, profundidade da sondagem, recessão gengival e nível de inserção em relação aos níveis de infecção por ECN no sítio periodontal examinado. Natal/RN, 2007 76

Tabela 8: Números absolutos e percentuais quanto à resistência aos antimicrobianos das cepas de ECN isoladas do biofilme dentário subgingival. Natal/RN, 2007 78

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. REVISÃO DA LITERATURA	22
2.1 Aspectos gerais de normalidade do periodonto – conhecendo o ambiente estudado	22
2.2 As doenças periodontais	24
2.3 O biofilme dentário como fator etiológico primário das doenças periodontais	28
2.4 O Gênero <i>Staphylococcus</i>	30
2.5 O Gênero <i>Staphylococcus</i> e sua relação com o meio ambiente oral	33
2.6 O Gênero <i>Staphylococcus</i> e sua relação com as doenças periodontais	37
3. OBJETIVO GERAL	47
3.1 Objetivos Específicos	47
4. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	50
4.1 Caracterização do estudo	50
4.2 Estudo Piloto	50
4.3 Amostra	50
4.3.1 Caracterização da amostra	50
4.3.2 Critérios de Inclusão	51
4.3.3 Critérios de Exclusão	51
4.3.4 Cálculo do Tamanho da amostra	51
4.4 Coleta de dados	52
4.4.1 Avaliação Clínica	52
4.4.2 Coleta e processamento do biofilme subgingival para análise bacteriológica	53
4.4.3 Isolamento primário das estirpes	53
4.4.4 Identificação das estirpes	54
4.4.5 Caracterização do gênero <i>Staphylococcus</i>	54

4.4.5.1 Prova da Catalase	54
4.4.5.2 Susceptibilidade à Bacitracina	55
4.4.5.3 Prova da Coagulase livre	55
4.4.6 Susceptibilidade a antimicrobianos	55
4.4.7 Teste para detecção de resistência à meticilina	56
4.5 Elenco de Variáveis	58
4.6 Análise Estatística	61
4.7 Considerações Éticas	61
5. RESULTADOS	63
5.1 Caracterização da amostra	63
5.2 Prevalência de <i>Staphylococcus</i> spp. no biofilme subgingival	67
5.3 Níveis de infecção por <i>Staphylococcus</i> coagulase-negativos	73
5.4 Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos das cepas de ECN	77
6. DISCUSSÃO	80
7. CONCLUSÕES	97
8. REFERÊNCIAS	99
ANEXO A	115
ANEXO B	117
ANEXO C	119

1. INTRODUÇÃO

As doenças periodontais são infecções causadas por microrganismos que colonizam a superfície dentária e o sulco gengival. Enquanto essas infecções têm muitas propriedades em comum com outras doenças infecciosas, elas demonstram propriedade única conferida por seu local de atuação e a natureza do ambiente em que seus agentes residem ^{118, 119}.

A maioria dos indivíduos saudáveis que mantêm uma boa higiene bucal não está propensa a desenvolver doença periodontal avançada. Todavia, estudos clínicos experimentais de curta duração demonstraram que os microrganismos rapidamente começam a colonizar as superfícies dentárias limpas, através da formação de biofilmes dentários ^{64, 65}. Eles consistem de comunidades de microrganismos, embebidos em um glicocálice com componentes orgânicos e inorgânicos, que está associado à superfície dentária ou a qualquer material duro não-descamativo ^{117, 119}. Estas comunidades se formam a partir de um mútuo benefício, possivelmente decorrente de uma adaptação evolutiva na sua relação com o meio circundante ^{102, 119}.

Após 10 a 20 dias de acúmulo de biofilme, sinais clínicos de gengivite se estabelecem na maioria das pessoas, embora haja grandes variações, com alguns indivíduos sendo intrinsecamente resistentes e outros propensos à gengivite clínica ^{68, 129}. Nesta fase, os sinais clínicos são reversíveis se o biofilme dentário for removido e forem instruídas medidas eficazes de controle do mesmo ^{62, 68}.

No entanto, com a evolução do quadro, o indivíduo pode vir a desenvolver uma forma de doença periodontal mais avançada denominada de periodontite crônica. Esta é uma doença infecciosa que pode se apresentar clinicamente como uma gengivite, no entanto, apresenta sinais radiográficos como perda óssea e, ao exame clínico, verifica-se a perda de inserção clínica que são evidenciadas com a progressão da doença. Em qualquer fase, a periodontite crônica pode sofrer períodos de exacerbação sendo classificada em leve, moderada e severa a depender do grau de acometimento dos tecidos de suporte ^{58, 65}. Vale ressaltar que os mecanismos de defesa do hospedeiro, inerentes a cada indivíduo, exercem um papel decisivo na patogenia e na susceptibilidade às doenças.

Diversos microrganismos vêm sendo implicados no desenvolvimento das doenças periodontais. Alguns mais relacionados com o desenvolvimento da gengivite crônica, enquanto, a predominância de outras espécies está mais relacionada com o desenvolvimento da periodontite crônica e outras formas de periodontite. Diante deste fato, várias pesquisas vêm sendo realizadas no intuito de estabelecer quais são os agentes microbianos causadores das doenças periodontais dada à complexidade e natureza do biofilme dentário e, ainda, à diversidade de microrganismos encontrados no meio ambiente oral ^{84, 120}.

Socransky e colaboradores ¹¹⁸ examinaram mais de 13.000 amostras de biofilme dentário subgengival de 185 indivíduos adultos e utilizaram técnicas para demonstrar a presença de grupos microbianos específicos neste habitat. Seis grupos de espécies bacterianas intimamente relacionadas foram reconhecidos. Eles incluíram o *Actinomyces*; um complexo amarelo constituído por espécies do gênero *Streptococcus*; um complexo verde constituído pelo gênero *Capnocytophaga*; sorotipo A do *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens* e *Campylobacter concisus* e um complexo roxo constituído por *Veillonella parvula* e *Actinomyces odontolyticus*. Esses grupos e espécies são antigos colonizadores de superfícies dentárias cujos crescimentos, geralmente, precedem à multiplicação dos complexos laranja e vermelho, compostos predominantemente por bactérias Gram-negativas. O complexo laranja consiste em *Campylobacter gracilis*, *Campylobacter rectus*, *Campylobacter showae*, *Eubacterium nodatum*, subespécies de *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium periodonticum*, *Peptostreptococcus micros*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* e *Streptococcus constellatus*, enquanto o complexo vermelho consiste em *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema denticola*.

No entanto, outras espécies bacterianas vêm sendo indicadas como causadoras de doenças periodontais, ainda que as evidências do papel dessas espécies não estejam consolidadas.

Dentre os microrganismos implicados na participação das doenças periodontais estão os *Staphylococcus*, em particular, os *Staphylococcus epidermidis* e os *Staphylococcus aureus*. Essas espécies são encontradas em abundância na pele e membranas mucosas⁴ de humanos, além de terem sido isoladas de próteses de válvulas cardíacas e em habitats do meio ambiente oral. Contudo, estes microrganismos não são considerados bactérias orais residentes, sendo, geralmente, reconhecidos como organismos transientes^{5, 87}.

Considerado um dos habitats do meio ambiente oral, o sulco gengival e, mais fortemente, as bolsas periodontais fornecem um sítio onde a aderência de bactérias não específicas pode ocorrer e serem retidas nestes ambientes, em proximidade à corrente sanguínea. Tais características podem favorecer a colonização de espécies de *Staphylococcus* nestes sítios, contribuindo para um possível envolvimento de bactérias deste gênero nas doenças periodontais^{45, 91, 110}.

Pouco se sabe sobre a participação do gênero *Staphylococcus* no meio ambiente periodontal saudável, com gengivite crônica e periodontite crônica, apesar da literatura já relatar o isolamento de *S. aureus* e *Staphylococcus* coagulase-negativos (ECN) em ambientes com doença periodontal. Neste sentido, torna-se de grande importância o estudo desses microrganismos em condições periodontais diferentes para verificar sua possível associação com a patogênese dessas doenças.

2. REVISÃO DA LITERATURA

A revisão de literatura deste trabalho apresenta duas formas de abordagem: a tradicional mostrando os aspectos gerais de normalidade do periodonto, o desenvolvimento das doenças periodontais tendo o biofilme dentário como fator etiológico primário, o gênero bacteriano *Staphylococcus* e sua relação com o meio ambiente oral e, uma segunda forma que trata de uma revisão sistemática da literatura, relacionando os principais artigos sobre a Prevalência do gênero *Staphylococcus* nas diversas formas de doença periodontal. Além disso, serão abordados alguns artigos sobre a prevalência de *Staphylococcus* em indivíduos que sofreram tratamento para doença periodontal.

2.1 Aspectos gerais de normalidade do periodonto – conhecendo o ambiente estudado.

É de fundamental importância conhecer as características de normalidade do periodonto para compreender o dinâmico processo saúde-doença dos tecidos periodontais.

O periodonto é composto por tecidos que conferem proteção como a gengiva e pelos tecidos que conferem sustentação do elemento dentário como o ligamento periodontal, cemento e osso alveolar. Por estar inserido em um ambiente sujeito a desafios microbianos e forças vortoriais diversas, os tecidos periodontais são altamente diferenciados e especializados, possuindo, portanto, estruturas, funções e mecanismos biológicos capazes de sofrer adaptações para promover a harmonia de seus componentes.

O tecido gengival caracteriza o periodonto de revestimento, também chamado de periodonto de proteção, desenvolvendo as funções de revestimento do alvéolo dentário e de proteção dos tecidos periodontais do trauma mastigatório e dos agentes locais como os microrganismos orais. Este tecido apresenta parte livre e parte inserida ao osso, constituindo, respectivamente, a gengiva marginal (livre) e a gengiva inserida. A gengiva marginal é composta por epitélio oral em sua porção externa e epitélio sulcular em sua porção interna, onde se

encontra também o epitélio juncional que está aderido ao dente. O epitélio juncional difere morfológicamente e funcionalmente do epitélio sulcular e oral. As células do epitélio juncional encontram-se dispostas em uma camada basal e várias camadas suprabasais paralelamente à superfície dentária. Apresenta espaços intercelulares mais largos entre as células alongadas e, também, granulócitos neutrófilos em sua periferia, o que confere característica peculiar na defesa do hospedeiro quando comparado aos outros epitélios orais ⁹⁹.

O periodonto saudável clinicamente apresenta uma gengiva de coloração rosa, bem adaptada ao dente, com uma superfície de textura pontilhada. O sulco gengival varia em profundidade de 1 a 3 mm e não mostra sinais de sangramento à sondagem ^{63,99}(Figura 1).

Dos tecidos que promovem a sustentação do elemento dentário destacam-se o ligamento periodontal, cemento e o osso alveolar. O ligamento periodontal é formado por tecido conjuntivo denso situado entre a raiz do elemento dentário e o osso do processo alveolar, apresentando espessura variável entre 0,15 e 0,38 mm em pacientes adultos. É responsável pela ancoragem do dente, pela reparação e remodelação dos tecidos periodontais, pelo transporte de nutrientes e eliminação de metabólitos, inervação e distribuição de receptores sensoriais. Já o cemento é um tecido conjuntivo mineralizado que reveste externamente a raiz dos dentes, cuja principal função é inserir as fibras do ligamento periodontal à superfície radicular. O processo alveolar consiste dos dois ossos maxilares, ou seja, o osso da maxila e da mandíbula, quando abrigam os alvéolos dentários em sua estrutura. A manutenção do processo alveolar depende da presença dos elementos dentários e da estimulação que estes provocam nas paredes ósseas através das fibras colágenas do ligamento periodontal ⁹⁹ (Figura 1).

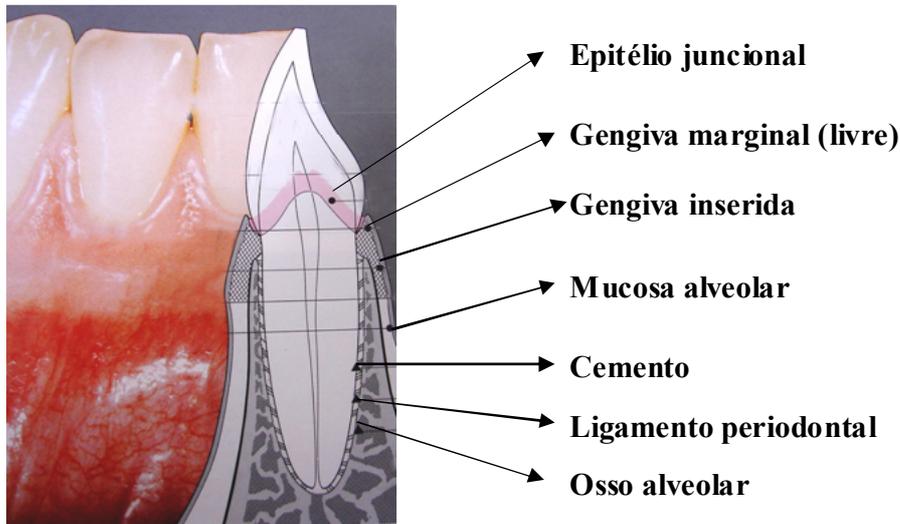


Figura 1: Principais estruturas do periodonto. Adaptado de Color Atlas of Dental Medicine (Wolf, Rateitschak, Hassell, 2006).

É neste ambiente oral de caráter úmido que se acumulam os biofilmes supra e subgengivais respectivamente, e sob ação do tempo de acúmulo e da resposta do hospedeiro frente aos desafios microbianos ali existentes se instalam as doenças periodontais, podendo afetar tanto os tecidos de proteção dos dentes quanto os tecidos de sustentação.

2.2 As doenças periodontais

Cerca de 4.000 anos atrás, os egípcios e chineses descreveram a doença periodontal como uma condição inflamatória da cavidade oral e; Hipócrates (anos 460-335 a.C.), discutiu a etiologia e patogênese de diferentes formas dessa doença. Já, em 1882, o termo “piorréia alveolar” passou a ser usado considerando que a causa das doenças da gengiva e osso eram depósitos de cálculo e outros corpos estranhos, com a formação de pus na região associada ao alvéolo e superfície dentária áspera, de modo que a cura poderia ser feita pela remoção meticulosa desses depósitos ⁶⁷.

Hoje, reconhecidamente, a doença periodontal constitui uma condição inflamatória crônica de caráter infeccioso que acomete os tecidos periodontais de proteção e/ou sustentação do

elemento dentário onde, assim como em outras infecções, as interações entre as bactérias e hospedeiro determinam a natureza da doença resultante ⁸³.

Diante de muitos conceitos e classificações apresentados para as doenças periodontais, em 1999 foi proposta no Workshop Internacional de Periodontia ² uma nova classificação, usada até hoje, para as condições e doenças periodontais. Dentre elas, destaca-se uma classificação detalhada para as doenças gengivais; a substituição do termo periodontite do adulto por periodontite crônica; e a substituição do termo periodontite de acometimento precoce para periodontite agressiva. Outra particularidade utilizada nessa classificação é a adoção do critério extensão e severidade da doença como parâmetro para a definição do grau da patologia. A doença pode ser de extensão localizada ($\leq 30\%$ de áreas envolvidas) ou generalizada ($\geq 30\%$ de áreas envolvidas). Para a verificação do grau de severidade é feita a medida de perda de inserção clínica. Considera-se a perda de inserção clínica como sendo a profundidade de sondagem ou a medida desta profundidade mais a recessão gengival (medida que vai da margem gengival à junção cimento-esmalte), sendo categorizada em: leve (1 ou 2mm), moderada (3 ou 4 mm) ou severa (≥ 5 mm).

Uma vez sabida a classificação dessas doenças, torna-se imprescindível o conhecimento dos sinais clínicos e sintomas da enfermidade periodontal, bem como o discernimento entre diferentes manifestações da doença para um diagnóstico eficaz e a condução de uma terapia favorável ao reequilíbrio da saúde periodontal. No entanto, segundo Oppermann e Rösing ⁸⁰, de modo semelhante às demais doenças, o entendimento da natureza e a forma de abordagem das doenças periodontais tem como base fundamental a Epidemiologia, pois somente com o conhecimento epidemiológico sabe-se do problema, sua etiologia, dimensão, a área e os indivíduos passíveis de serem afetados.

Para tanto, dados do SBBrazil 2003 ⁸ mostraram a prevalência da doença periodontal na população brasileira, considerando o maior escore de IPC (Índice Periodontal Comunitário) por indivíduo, segundo grupo etário e macrorregião. A percentagem de pessoas sem nenhum problema periodontal nas faixas etárias de 15 a 19, 35 a 44 e 65 a 74 anos de idade foi, respectivamente, 46,2%, 21,9% e 7,9% no Brasil. As proporções mais favoráveis foram encontradas na Região Centro-Oeste para faixas etárias de 15 a 19 e 35 a 44 anos e na Região Sul para a faixa etária de 65 a 74 anos de idade.

Quanto à doença periodontal severa (presença de bolsas periodontais mais profundas), a percentagem de pessoas com bolsas periodontais maiores que 4mm foi de 1,3%, 9,9% e 6,3% nas faixas etárias de 15 a 19, 35 a 44 e 65 a 74 anos de idade, respectivamente. Uma pior condição foi encontrada na Região Sudeste na faixa de 35 a 44 anos e na Região Norte na faixa etária de 65 a 74 anos de idade ⁸.

Chama atenção o grande número de sextantes excluídos, tanto quando se considera o percentual de pior escore quanto à média de sextantes afetados, nas faixas etárias de 35 a 44 e 65 a 74 anos. Nessa última faixa, por exemplo, mais de 80% dos sextantes examinados foram excluídos, ou seja, não apresentavam nenhum dente presente ou apresentavam apenas um dente funcional. Esse fato acaba gerando uma baixa prevalência de doença periodontal severa nessas faixas etárias ⁸.

No entanto, em se tratando do perfil mundial, existe uma alta prevalência da doença periodontal em indivíduos mais jovens, sendo a gengivite crônica a doença mais comum. Para Lascala ⁵⁸, a gengivite crônica é uma doença de caráter inflamatório que envolve os tecidos gengivais, comprometendo-lhes o cório e a parede do sulco gengival, causada por espécies bacterianas que predominam no biofilme supra e subgengival, cuja apresentação clínica depende da resposta individual de cada hospedeiro frente à presença do biofilme. Desse modo, um mesmo indivíduo pode exibir vários graus de doença e um segmento saudável pode ter por vizinho um outro inflamado.

De acordo com Séguier e colaboradores ¹⁰³, o termo gengivite refere-se a uma condição inflamatória limitada às gengivas livre e inserida. Segundo relatos de Armitage ², Hugoson e colaboradores ⁴⁰ e Schlegel-Bregenzer e colaboradores ¹⁰², a gengivite crônica, atualmente chamada de doença gengival induzida por placa, é uma das doenças mais comuns em humanos. Exibe, geralmente, como sinais clínicos mudanças na cor e textura, acompanhadas por um leve aumento dos tecidos, com relativa perda da consistência e da adaptação aos dentes. Com a progressão da doença, os tecidos apresentam-se vermelhos, brilhantes e edemaciados, exibindo margens irregulares e perda ou redução do pontilhado gengival, podendo revelar, ainda, sangramento à leve sondagem, sob ligeira pressão ou espontaneamente, associado ou não à presença de exsudato supurativo no sulco gengival ^{64, 83}.

A gengivite crônica pode permanecer nesse estado ou, com a presença contínua do biofilme periodontopatogênico, progredir para o estado de periodontite^{10, 40}. Entretanto, nem toda gengivite evolui para periodontite^{83, 102, 122}. Esta conversão parece ser determinada pela relação entre o potencial patogênico do biofilme dentário e a resistência do hospedeiro^{10, 117, 124}.

De acordo com Brown¹⁰, Løe⁶⁷ e Teng e colaboradores¹²⁴, a periodontite ocorre pela extensão da inflamação gengival às estruturas mais profundas do periodonto em consequência de um desequilíbrio entre a microbiota potencialmente patogênica e a resposta imunológica do hospedeiro.

Quando se remete a periodontite, Lascala⁵⁸ diz tratar-se de uma doença inflamatória de caráter infeccioso que envolve os tecidos de suporte dos dentes, causando perda de inserção conjuntiva, do osso alveolar e de cemento radicular. São várias entidades específicas de periodontite que diferem umas das outras, segundo os locais de afecção, padrões de destruição, tipos de respostas ao tratamento e diferenças de achados laboratoriais.

O mecanismo desse processo destrutivo envolve a lise tecidual direta, resultante da ação de produtos bacterianos do biofilme dentário, e a destruição tissular indireta, mediada pela resposta imuno-inflamatória induzida no hospedeiro a partir da exposição bacteriana^{42, 117}.

Apenas nos últimos 15 a 20 anos passou-se a estudar a influência de outras condições, além do biofilme dentário, na instalação e progressão da doença periodontal, chegando-se ao estabelecimento de fatores de risco congênitos, como a imunodeficiência congênita e fatores de risco adquiridos e ambientais como o fumo, doenças endócrinas adquiridas e deficiências nutricionais¹³³. Em se tratando do Diabetes Mellitus, Gugliucci³² encontrou que a hiperglicemia em diabéticos não-controlados tem implicações sobre a resposta do hospedeiro e afeta a microbiota regional. Isso pode potencialmente influenciar o desenvolvimento de doença periodontal nos pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1 e tipo 2 mal-controlados. Seppala e Ainamo¹⁰⁴ mostraram porcentagens significativamente aumentadas de espiroquetas, bacilos móveis e diminuição dos níveis de cocos nas lesões periodontais, comparados com pacientes bem-controlados.

Com relação ao fumo, Pindborg⁸⁸ foi um dos primeiros investigadores a estudar a relação dessa condição e a doença periodontal. Ele detectou uma elevada prevalência de gengivite ulcerativa necrosante em fumantes. Estudos posteriores como o de Bergstrom e Preber⁷

mostraram que os fumantes podem apresentar níveis mais elevados de placa que os não fumantes, os quais podem ser consequência dos seus níveis precários de higiene oral do que de taxas mais altas de crescimento do biofilme supragengival. Muitos estudos afirmam que os fumantes possuem um maior número de espécies microbianas associadas com a periodontite, incluindo *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*¹³⁵, *Prevotella intermedia*, *P. micros*, *F. nucleatum*, *C. rectus*¹³⁰, *S. aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*⁵⁰ do que os não-fumantes. Os fumantes podem ter uma proporção mais elevada de locais com esses patógenos putativos, em particular as faces palatinas dos dentes superiores e as regiões de incisivos superior e inferior^{33, 34}.

Deve-se ressaltar que o acometimento dos elementos dentários por essas condições patológicas são dependentes do acúmulo de biofilme supra e/ou subgengival e que os fatores secundários tidos como distúrbios congênitos e adquiridos exibem uma influência na progressão das doenças periodontais dependentes de biofilme.

2.3 O biofilme dentário como fator etiológico primário das doenças periodontais

A comprovação mais decisiva da participação bacteriana na etiopatogênese da doença periodontal foi definitivamente assentada em 1965, por ocasião da publicação de Løe, Theilade e Jensen⁶⁸, ao demonstrarem que o acúmulo de biofilme dentário em pessoas saudáveis levou ao desenvolvimento de gengivite em toda a amostra experimental no período de 21 dias. Após a restituição da higiene bucal, observou-se a regressão do quadro inflamatório.

Sabe-se que as doenças periodontais, de uma maneira geral, são causadas por microrganismos que colonizam a superfície dentária supra e subgengival. O elemento dentário fornece uma superfície para a colonização de uma gama de espécies bacterianas. Tais bactérias podem aderir ao dente, às superfícies epiteliais da gengiva ou à bolsa periodontal, ao tecido conjuntivo subjacente, se exposto, e a outras bactérias já aderidas a essas superfícies. Além disso, os tecidos duros do dente exibem a característica de não serem descamativos como as superfícies externas do organismo, facilitando, assim, a colonização microbiana¹¹⁹.

Desse modo, a colonização pela grande quantidade de microrganismos do meio ambiente oral redundando na formação dos biofilmes dentários. Estes consistem de comunidades de microrganismos ligados a uma superfície, espacialmente organizados em uma estrutura tridimensional e incluídos em uma matriz de material extracelular derivada do metabolismo das células microbianas e do meio ambiente^{118, 119}. Em gengivas saudáveis, gêneros bacterianos como *Actinomyces* e *Streptococcus* dominam o biofilme. Em um estágio posterior da formação do mesmo, predominam microrganismos anaeróbios Gram-negativos e móveis²³. Esses biofilmes proporcionam um ambiente de proteção aos microrganismos colonizadores e permitem propriedades metabólicas que não seriam possíveis se as espécies existissem em um estado livre¹¹⁹.

De acordo com Hugoson e colaboradores⁴⁰, a maturação microbiana do biofilme dentário está associada com o desenvolvimento concomitante da gengivite crônica, porém muitos outros fatores podem afetar a susceptibilidade da gengiva a microbiota bucal, aumentando com isso a frequência desta condição inflamatória. Dentre estes fatores destacam-se: o diabetes mellitus, o trauma, a respiração bucal, o fumo, o estresse emocional e a deficiência nutricional.

Alguns microrganismos são considerados potenciais patógenos periodontais por sua capacidade de implantar-se no sulco gengival, produzir substâncias tóxicas, invadir o tecido periodontal e possuir mecanismos que lhes permitam resistir aos fatores de defesa do hospedeiro²⁵. Tais microrganismos são anaeróbios gram-negativos, dentre os quais podemos citar como principais: *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Campylobacter rectus*, *Treponema denticola*, *Prevotella nigrescens* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans*^{19, 39, 70, 106, 107, 111, 124}.

No Workshop Mundial de Periodontia Clínica, em 1996, os patógenos periodontais específicos como agentes causais da doença periodontal envolvidos, principalmente, na periodontite crônica foram limitados em três principais microrganismos: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia* e *Porphyromonas gingivalis*^{23, 119}.

No entanto, sabe-se que a microbiota oral anfibiótica exibe diversos grupos de microrganismos, incluindo bactérias, fungos, protozoários e possíveis vírus. Mais de 400 espécies habitam a cavidade oral, das quais aproximadamente 30 delas são encontradas rotineiramente e

descritas pela maioria dos métodos cultiváveis como participantes do processo das doenças periodontais¹¹³.

Outras espécies bacterianas, entretanto, vêm sendo indicadas como causadoras de doenças periodontais, ainda que as evidências de seu papel etiológico sejam menos esclarecidas. São encontrados na literatura alguns estudos sobre a relação de bactérias do gênero *Staphylococcus* com a doença periodontal^{72, 76, 113, 115}. Por serem bactérias pertencentes a um gênero formador de biofilme, além de possuírem diversos fatores de virulência que contribuiriam com a destruição periodontal, sua presença no ambiente subgingival saudável em menores quantidades e doente em maiores quantidades seria um indicador do seu envolvimento com a etiologia e patogênese desse complexo conjunto de doenças. No entanto, pouca atenção tem sido dada a estes microrganismos como possíveis colonizadores do meio ambiente oral e sua participação nas doenças periodontais, constituindo-se alvo de novas pesquisas na literatura.

2.4 O Gênero *Staphylococcus*

O gênero *Staphylococcus* pertence à família *Staphylococcaceae*, a qual encontra-se atualmente subdividida em 36 espécies e várias subespécies, muitas das quais podem estar associadas a doenças no homem e em animais. O termo *Staphylococcus* é derivado do grego e deve-se ao arranjo celular semelhante a cachos de uvas, adquirido por essas pequenas células arredondadas (cocos), quando em esfregaços corados, oriundos de uma cultura em meio sólido. Em espécimes clínicos, ou quando cultivados em meio líquido, esses microrganismos estão dispostos como células individuais, formando pares, tétrades ou até mesmo pequenas cadeias^{4, 38}.

Os *Staphylococcus* spp. apresentam-se como cocos Gram-positivos, quando corados pelo método de Gram, com diâmetro variando de 1 a 1,8 μm , imóveis, anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, produtores da enzima catalase, capazes de crescer em concentrações de até 10% de cloreto de sódio, em temperaturas variando de 18° a 40° C e possuem uma elevada resistência à dessecação. Sua parede celular é composta de ácidos teicóicos e peptidoglicano, o qual se apresenta como uma molécula gigante, de estrutura periódica, cuja unidade básica é formada por um dissacarídeo, ácido N-acetil glicosamina – ácido N-acetil murâmico, estando esta

última molécula ligada a uma cadeia penta-peptídica, que forma uma ponte transversa através da ligação de um resíduo de penta-glicina entre D-alanina de uma cadeia penta-peptídica e a L-lisina da outra. A parede celular bacteriana confere ao microrganismo a capacidade de modular o sistema de defesa do hospedeiro, bem como o protege contra lise osmótica^{4,38}.

Os estafilococos fazem parte da microbiota anfibiótica presente na pele e nas superfícies mucosas de humanos, assim como de outros mamíferos e pássaros. No homem, elevadas concentrações dessas bactérias podem estar presentes nas axilas, na parte anterior das narinas e no períneo e, em menores quantidades na orofaringe, boca, vagina, trato intestinal e glândulas mamárias^{4,11}.

O *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (freqüentemente referido como *Staphylococcus aureus*) é a única espécie do gênero *Staphylococcus* encontrada normalmente em humanos que secreta a enzima coagulase. Assim, a detecção dessa enzima tem sido utilizada na identificação presuntiva dos *S. aureus*, como um marcador para diferenciar cepas de *S. aureus* provenientes de humanos das demais espécies desse gênero. Por esse motivo, as cepas pertencentes ao gênero *Staphylococcus* que não produzem tal enzima, foram todas agrupadas sob a denominação “estafilococos coagulase-negativos” (ECN), muito embora, eventualmente, certas espécies patogênicas para animais sejam produtoras da enzima coagulase^{4,48}.

Durante muitos anos, os ECN foram considerados microrganismos saprofitos da pele e das mucosas e, por esse motivo, eram desconsiderados quando isolados a partir de culturas de materiais biológicos humanos, tendo sido referenciados apenas como contaminantes. Entretanto, a partir da década de 80, eles passaram a ser considerados microrganismos importantes. Os *Staphylococcus epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis*, *S. warneri* e *S. saprophyticus* são as espécies mais comumente associadas com infecções no homem, sendo o *S. epidermidis* o mais freqüente. Encontra-se na literatura poucos relatos sobre os fatores de virulência dos *S. epidermidis*. Foram descritas uma metaloprotease e uma cisteína protease, ambas com atividade de elastase. Além dessa atividade, a cisteína protease é capaz de degradar várias proteínas da matriz do hospedeiro e ainda componentes do sistema imune. Entretanto, a contribuição dessas proteases na patogênese das doenças causadas por *S. epidermidis* ainda é especulativa¹⁰⁹. Outros fatores produzidos por estes microrganismos foram identificados, como por exemplo, duas

lipases, uma enzima modificadora de ácidos graxos (FAME) e os lantibióticos que são substâncias que apresentam atividade antimicrobiana¹⁰⁰.

Já os *S. aureus* produzem diversos fatores de virulência, ligados à sua parede celular, que são conhecidos como produtos de superfície ou somáticos. Tais fatores são importantes, principalmente, na interação do microrganismo com o hospedeiro, durante o processo inicial de colonização (adesão e invasão), nos mecanismos de evasão às defesas do hospedeiro e na modulação da resposta imune. Como exemplos de produtos de superfície podemos citar a proteína A que apresenta propriedade antifagocítica, proteínas de ligação a transferrina, proteínas de ligação ao fibrinogênio, proteínas de ligação ao colágeno e as diversas proteínas que se ligam às moléculas adesivas da matriz extracelular, as quais são agrupadas sob a sigla MSCRAMM (microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules). Proteínas pertencentes a esta família estão diretamente envolvidas nas interações bactéria-hospedeiro, como na aderência às proteínas presentes no plasma (fibrinogênio, fibronectina, colágeno) e invasão em células eucarióticas, e ainda, nas diferentes interações com as células do sistema imune do hospedeiro^{4, 20, 134}.

Ainda, esses microrganismos podem secretar uma grande variedade de proteínas conhecidas como exoproteínas. Alguns exemplos são: a coagulase, hialuronidase, estafiloquinase além de várias toxinas citotóxicas. As exoproteínas podem funcionar, por exemplo, como agressinas, evasinas ou modulinas causando danos aos tecidos e órgãos do hospedeiro, evadindo ou modulando a resposta imune, respectivamente^{4, 20, 134}.

Além de todos estes fatores citados, os *Staphylococcus* coagulase-negativos e os *S. aureus* apresentam uma grande capacidade de produzir biofilme. Estes biofilmes são formados sobre quase todos os tipos de dispositivos médicos, incluindo catéteres e próteses. Durante a produção do filme biológico observa-se, inicialmente e rapidamente, a ligação das células bacterianas à superfície do polímero e, posteriormente, ocorre à formação de um agregado de bactérias com acúmulo de material polissacarídico, com conseqüente formação do biofilme³¹.

Tendo em vista a diversidade de fatores de virulência, estes microrganismos podem uma vez presentes nos sítios periodontais, estar envolvidos na etiologia e patogênese da doença periodontal, iniciando e dando continuidade à destruição dos tecidos e até, infiltrando-se na

corrente sanguínea, dada a grande superfície exposta dos tecidos orais nessas condições, podendo assim estar associados com infecções em outros órgãos.

2.5 O Gênero *Staphylococcus* e sua relação com o meio ambiente oral

Existem na literatura artigos que demonstram a presença do gênero bacteriano *Staphylococcus* na cavidade oral. Porém, pouca atenção tem sido dada ao meio ambiente oral como reservatório para estes organismos. A microbiota oral contém mais de 400 espécies bacterianas conhecidas e numerosos organismos não cultiváveis que estão sendo descobertos graças às técnicas de biologia molecular¹¹³.

Enquanto a importância dos *Staphylococcus* como patógeno causador de doenças dermatológicas, infecções comunitárias e hospitalares e doenças mais graves como bacteremias, endocardites e pneumonias tem sido reconhecida por muitos anos, a presença do mesmo como um componente da microbiota oral residente é controversa¹¹³.

Há evidências que os estafilococos podem ser isolados freqüentemente do meio ambiente oral em grupos de pacientes como crianças, idosos³, pacientes com doenças sistêmicas, imunocomprometidos e de pacientes que estão expostos a terapias antimicrobianas prolongadas¹¹⁰.

Os estafilococos foram pesquisados nos mais diversos habitats orais, sendo isolados do biofilme supragengival, do fluido salivar, da língua, nas superfícies de dentaduras e do biofilme subgengival.

Alguns estudos revelaram que 94% a 100% de adultos saudáveis apresentavam colonização oral por *Staphylococcus* spp.^{45, 52, 85}.

Em um estudo envolvendo 110 pacientes atendidos num centro odontológico⁵⁵, a prevalência de *S. aureus* na saliva foi de 21%, enquanto nos swabs gengivais foi de 11%. Já num estudo de coorte realizado de pacientes com hipossalivação, a prevalência encontrada foi de 41% de *S. aureus*, apresentando níveis de $3,7 \times 10^1$ a $5,2 \times 10^3$ UFC/mL¹⁰⁰.

Como visto anteriormente, o gênero *Staphylococcus* tem sido isolado de biofilmes dentários supragengivais^{28, 89, 125}. Percival e colaboradores⁸⁵ relataram o isolamento de *Staphylococcus*, embora com baixa significância em termos percentuais, em 12% nas amostras de biofilme supragengival de 79 indivíduos saudáveis com idade entre 27 a 84 anos. Não está clara a relação da idade com a frequência de isolamento ou proporções de estafilococos neste estudo.

A presença de aparelhos protéticos na cavidade oral, tal como dentaduras de acrílico, podem favorecer a colonização por estafilococos¹²⁶. Vários estudos relatam sua presença no meio ambiente oral em indivíduos que fazem uso de próteses dentárias, tendo em vista que a mesma facilita a colonização por estes microrganismos através da formação de biofilme^{50, 89, 91}. Em estudos de pacientes com dentaduras desgastadas, o índice de colonização por *S. aureus* variou de 23-48%^{15, 123}.

Com relação às espécies de estafilococos isoladas no meio ambiente oral, diversos estudos relatam o isolamento de *Staphylococcus aureus* da cavidade oral saudável, mas informações detalhadas sobre sua distribuição ainda não está clara^{72, 113}. Foi verificada a colonização por *S. aureus* de 24-36% em adultos saudáveis^{45, 52}.

Outro estudo⁷⁴ investigou o isolamento de estafilococos orais em 307 crianças de idade menor que 1 e até 5 anos atendidas no departamento de Odontopediatria. Encontraram que 84% albergavam estafilococos, 33% dos quais eram *S. aureus* (5% dos *S. aureus* isolados eram resistentes à meticilina - MRSA). O interessante foi o fato de que 19% dos *S. aureus* isolados produziam a toxina esfoliativa e 40% produziam enterotoxina⁷⁴. Um estudo mais recente⁴⁶ encontrou que 64% de crianças saudáveis albergavam *S. aureus* na cavidade oral.

Sabe-se que algumas infecções orais são causadas por *S. aureus*. Estas incluem queilite angular, algumas infecções endodônticas, parotidite e, mais recentemente reconhecida, uma forma de mucosite oral em idosos, em pacientes dependentes de nutrição parenteral, crianças imunocomprometidas, pacientes com doenças sistêmicas tal como artrite reumatóide, diabetes mellitus e pacientes com malignidades hematológicas^{3, 9, 16, 41, 47, 76, 86, 93}.

No que se refere ao isolamento de estafilococos da mucosite oral, a literatura mostra que a espécie *S. aureus* tem sido relacionada a uma forma severa dessa doença, verificada em alguns grupos com doença sistêmica²⁹ e pacientes geriátricos³. No tocante a etiologia da mucosite oral, não está estabelecida na literatura uma relação direta entre o isolamento de *S. aureus* e a doença,

uma vez que o mesmo pode fazer parte da microbiota oral anfibiônica nestes grupos de pacientes. Entretanto, ambos os dados clínicos e microbiológicos ajudam a sustentar estas hipóteses.

Apesar do seu potencial patogênico, o *Staphylococcus aureus* é associado a infecções dento-alveolares agudas com pouca frequência. Outras infecções orais nas quais os *S. aureus* tem sido isolado incluem cistos de mandíbula infectados, lesões de mucosa oral, estomatite induzida por dentadura e queilite angular^{16, 41, 47, 97}. Pesquisadores têm encontrado uma frequência de isolamento de 63% para *S. aureus* nesta última condição, geralmente na presença de outros microrganismos tais como a *Candida albicans* ou o *Streptococcus pyogenes*^{79, 113}.

Além disso, Smith¹¹⁵ fez um levantamento de dados laboratoriais do período de 1998 a 2000, para investigar o isolamento de *S. aureus* da cavidade oral e regiões peri-orais de amostras submetidas à análise microbiológica. Do período de 1998-2000, 5.005 amostras foram submetidas à análise microbiológica. Os *S. aureus* foram isolados de 1.017 amostras, dos quais 967 (95%) foram sensíveis à metilina (MSSA) e 50 (5%) foram resistentes à metilina (MRSA). As 1.017 amostras foram coletadas de 615 pacientes. O MRSA foi isolado de 37 (6%) destes pacientes. Houve um aumento na incidência de *S. aureus* com a idade, particularmente, em pacientes com mais de 70 anos. A maioria das amostras dos quais os MSSA foram isolados eram de bochechos orais (38%), enquanto os MRSA isolados provinham da língua (28%).

Loberto e colaboradores⁶⁶ investigaram a presença de estafilococos na doença periodontal e na cavidade oral de 88 indivíduos com periodontite crônica. Para tanto, coletou amostras da cavidade oral através de bochechos orais realizados durante 1 minuto e armazenados em solução salina estéril. Dos 88 indivíduos, 61,36% deles albergavam estafilococos na cavidade oral. Os *S. epidermidis* foram isolados de 27,27% das amostras da cavidade oral enquanto os *S. aureus* foram isolados de 25% destas.

Rams e colaboradores⁹¹ analisando a prevalência de estafilococos em vários ambientes investigaram a presença deste microrganismo em implantes dentários que falharam devido à instalação de periimplantites. Eles avaliaram 13 indivíduos que apresentavam 20 implantes dentários. Os resultados mostraram que 69,2% dos pacientes albergavam estafilococos em altas proporções, comparados aos demais grupos estudados (grupo dos pacientes com periodontite crônica severa, com periodontite juvenil localizada, com periodontite de acometimento precoce e

com gengivite crônica). Dois pacientes revelaram 60,9% e 100% de estafilococos subgengivais, 3 pacientes apresentavam de 1% a 10% e 4 pacientes apresentavam menos de 1%. Um terço dos implantes dentários apresentavam *S. aureus* e dois terços *S. epidermidis*.

Não apenas as espécies de *Staphylococcus aureus* e *epidermidis* têm sido isoladas do ambiente oral, outras espécies como *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. warneri*, *S. capitis*, *S. saprophyticus*, *S. xylosus* e *S. simulans* têm sido encontradas, porém em baixas proporções^{76, 114, 115}.

A literatura levanta também a hipótese da participação de *Staphylococcus* orais como uma fonte de infecção sistêmica. A boca é reconhecidamente uma fonte de bacteremia em endocardites infecciosas, porém os *Staphylococcus aureus* tem sido pouco detectados de pacientes com bacteremia associada a procedimentos dentários¹¹³.

Apesar disso, há um aumento no número de relatos sugerindo que os estafilococos de uma fonte oral possam causar infecções em sítios distantes^{22, 56}. Por exemplo, *S. lugdenensis* em endocardites têm sido relatado após extração dentária⁵⁶. Estes episódios bacterianos podem assumir uma alta significância em pacientes comprometidos sistemicamente.

Infecções orais têm sido associadas com septicemias em pacientes com malignidades hematológicas^{45, 51}. Os estafilococos coagulase-negativos são frequentemente isolados de culturas de sangue em pacientes que estão recebendo tratamento para doenças malignas⁴⁵. Isto é comumente um resultado de colonização de aparelhos de acesso venoso, mas em alguns casos tal fonte de infecção não está presente. A boca não tem sido geralmente considerada uma fonte para tais infecções, mas muitos pacientes que estão recebendo regimes de drogas quimioterápicas desenvolvem ulcerações orais severas (mucosite) como um resultado do efeito destas drogas na mucosa oral⁹⁵. Tais ulcerações proporcionam uma porta de entrada para organismos da microbiota oral e oportunistas. Os *Streptococcus* orais têm sido identificados em casos de septicemia em crianças que receberam tratamento para leucemia. Da mesma forma, as espécies bacterianas *S. epidermidis* e *Streptococcus oralis* têm sido isoladas de pacientes que sofreram transplante de medula óssea⁵¹.

Portanto, o meio ambiente oral pode representar um importante reservatório deste gênero bacteriano, o qual pode causar, sob condições apropriadas, infecções locais e/ou sistêmicas.

2.6 O Gênero *Staphylococcus* e sua relação com as doenças periodontais

Uma das vertentes ainda pouco discutidas na literatura é a relação das doenças periodontais com a presença de *Staphylococcus* spp. no biofilme dentário subgingival. Dessa forma, tornou-se necessário o aprofundamento deste tema com o intuito de verificar as evidências científicas a este respeito.

Partindo dessa premissa, realizou-se uma revisão sistemática da literatura acerca da prevalência de *Staphylococcus* spp. no biofilme dentário subgingival. Para tanto, foram selecionados trabalhos que buscaram esta relação. As estratégias de busca para a identificação destes trabalhos incluíram pesquisas eletrônicas nas bases de dados MEDLINE e LILACS, além de buscas manuais nas referências bibliográficas dos artigos selecionados e busca manual na biblioteca da Faculdade de Odontologia da UFRN.

Várias estratégias foram feitas com o intuito de tornar a pesquisa o mais abrangente possível. No entanto, poucos artigos sobre a prevalência de estafilococos no biofilme subgingival estavam disponíveis na literatura, o que dificultou a realização da revisão sistemática. Um total de 55 artigos foram encontrados entre as bases de dados LILACS e MEDLINE nos anos de 1966 a 2006. A mesma estratégia de busca foi utilizada para as duas bases de dados mencionadas, dividindo-se em 4 buscas distintas por tratarem de períodos de anos diferentes (1966-1995) e (1996-2006).

Os artigos selecionados enquadraram-se nos seguintes critérios de inclusão: estudos *in vivo*; publicados em inglês, espanhol e português; e cujo desfecho fosse a prevalência de estafilococos no biofilme dentário subgingival.

Já os critérios de exclusão da revisão sistemática foram: artigos que estivessem buscando a relação do tratamento periodontal com a presença de estafilococos e artigos do tipo revisão da literatura.

A estratégia de busca adotada foi:

"staphylococcus" or "staphylococcus aureus" or "staphylococcus epidermidis" or "staphylococcus haemolyticus" or "staphylococcus hominis" [Descriptor de assunto] and "ESPANHOL" or "INGLES" or "PORTUGUES" [Idioma] and "periodontitis" or "gingivitis" [Palavras]

Com esta estratégia obteve-se 5 artigos na base de dados LILACS nos anos de 1995-2006 e nenhum artigo nos anos de 1966-1995. Desses, apenas 1 artigo se enquadrou nos critérios de inclusão da revisão sistemática. Os outros 4 artigos foram excluídos porque 3 deles tratavam do isolamento de espécies de estafilococos em outros ambientes orais que não o biofilme sugengival e 1 artigo era relato de caso.

Na base de dados MEDLINE, obteve-se 27 artigos nos anos de 1966-1995 dos quais apenas 1 se enquadrou nos objetivos do estudo. Dos 26 excluídos, 9 versavam sobre outros ambientes orais, 8 envolviam intervenção, 2 eram em animais e 7 envolviam componentes celulares do processo inflamatório e resposta imune do hospedeiro.

Nos anos de 1996-2006, 23 artigos foram encontrados. Destes, somente 1 foi selecionado por se enquadrar nos critérios da revisão sistemática da literatura. Os 22 restantes tratavam dos mesmos temas já supracitados, sendo 11 sobre outros ambientes orais, 1 envolvia intervenção, 9 versavam sobre componentes celulares do processo inflamatório e resposta imune do hospedeiro e, 1 artigo não abordou nenhum aspecto relacionado ao microrganismo alvo.

Os artigos selecionados e analisados estão sumarizados em quadros que seguem:

Quadro 1: Referência bibliográfica, objetivos, metodologia e resultados do trabalho de Dahlén e colaboradores, selecionado para a revisão sistemática sobre a presença de *Staphylococcus* spp. no biofilme subgengival de sítios periodontais. Natal/RN, 2007.

Referência
Dahlén G, Wikström M. Occurrence of enteric rods, staphylococci and Candida in subgingival samples. Oral Microbiol Immunol 1995; 10: 42-46.
Objetivos
Avaliar a frequência e porcentagem de bacilos entéricos, estafilococos e fungos em amostras subgengivais de sujeitos com lesões periodontais avançadas para monitoramento microbiológico.

Metodologia

Caracterização da amostra

◆ Tamanho da amostra: 973 amostras de 535 indivíduos com periodontite crônica. Foram divididos em categorias: pacientes não tratados, tratados com raspagem corono-radicular + orientação de higiene oral, raspagem corono-radicular + cirurgia, raspagem corono-radicular + antibióticos e sem informação.

Material e Métodos

Grupos teste:

- ◆ Remoção do biofilme supragengival;
- ◆ Uso de pontas de papel absorvente por 10 segundos;
- ◆ Meio para transporte: VMGA III;
- ◆ Coleta de 1 a 4 sítios periodontais por indivíduo;
- ◆ As amostras foram enviadas por correio e o tempo de transporte registrado.
- ◆ Aquecimento do meio gelatinoso a 37° C por 30 minutos;
- ◆ Uso de diluições em VMG I;
- ◆ Semeadura em *Staphylococcus* 110 a 37°C por 2 a 3 dias;
- ◆ Outros meios foram utilizados para o isolamento de outras espécies bacterianas;
- ◆ Identificação das espécies de estafilococos usando testes DNase e coagulase.

Resultados

Um ou mais organismos foram detectados em 65,5% das amostras e em 76,7% dos pacientes. Na maioria das amostras bacilos entéricos, estafilococos e/ou *Candida* constituíram uma pequena soma do total dos microrganismos viáveis. Os bacilos entéricos corresponderam a 10% do total de viáveis em 30 amostras. Os estafilococos corresponderam a mais de 10% em somente 3 amostras. Nestas 3 amostras, os bacilos entéricos corresponderam a mais de 10% do total de viáveis. A *Candida* não foi encontrada em 10% do total de viáveis de qualquer das

amostras. Uma correlação estatisticamente não significativa foi encontrada entre a presença de qualquer dos microrganismos e o tipo de tratamento periodontal recebido, administração antibiótica ou tempo de transporte das amostras.

Quadro 2: Referência bibliográfica, objetivos, metodologia e resultados do trabalho de Murdoch e colaboradores, selecionado para a revisão sistemática sobre a presença de *Staphylococcus* spp. no biofilme subgingival de sítios periodontais. Natal/RN, 2007.

Referência
Murdoch FE, Sammons RL, Chapple ILC. Isolation and characterization of subgingival stafilococci from periodontitis patients and controls. Oral Dis 2004; 10: 155-162.
Objetivos
Isolar e caracterizar estafilococos subgingivais de pacientes com doença periodontal e periodontalmente saudáveis (controle), a fim de avaliar o meio ambiente periodontal como uma fonte potencial para infecções estafilocócicas sistêmicas.
Metodologia
<u>Caracterização da amostra</u>
<ul style="list-style-type: none"> ◆ Tamanho da amostra: 28 pacientes com periodontite crônica sem tratamento e 28 pacientes sem doença periodontal; ◆ Idade: 32-59 anos; ◆ Boa saúde geral; ◆ Os grupos não tomaram antibióticos nos 3 meses anteriores ao estudo; ◆ Critérios de inclusão: um mínimo de 20 dentes com depósitos subgingivais nos 4 quadrantes; um mínimo de ISG de 30%, IPV de 50%; um mínimo de 2 bolsas periodontais com >5mm; evidência radiográfica de perda óssea \geq 30% em pelo menos 2 sítios por quadrante.

Métodos

Grupos teste e controle:

- ◆ Isolamento da cavidade oral com algodão estéril;
- ◆ Uso do jato de ar comprimido antes da coleta;
- ◆ Uso do Periopaper por 30 segundos;
- ◆ Meio para transporte: tubo com 200 µL de MSB;
- ◆ Coleta de 3 sítios doentes e 3 saudáveis no grupo teste. Coleta de amostras da região anterior do palato e assoalho da boca com “swab” estéril;
- ◆ Coleta de somente 3 sítios saudáveis do grupo controle, além das amostras da região anterior do palato e assoalho da boca. Fez-se ainda a impressão digital em placa de AMS e da região anterior da narina com “swab” estéril;
- ◆ Uso do fluxo laminar II – divisão em 2 alíquotas de 100 µL e semeadura em placas de AMS;
- ◆ As amostras dos “swabs” também foram semeadas em AMS;
- ◆ Incubação a 37° C em aerobiose por 48 horas;
- ◆ Identificação: morfologia colonial, coloração de Gram, prova da catalase, prova da oxidase negativa, prova da coagulase e Sistema API Staph.

Resultados

Foram isolados 54% de estafilococos dos sítios subgingivais doentes e 43% dos sítios sadios de um total de 50% de pacientes com periodontite. De 54% dos pacientes sem doença periodontal, foram isolados 29% de estafilococos subgingivais. Diferenças não significativas na frequência de isolamento ou no número de estafilococos isolados dos sítios doentes e sadios foram observadas. A espécie *S. epidermidis* foi a mais frequentemente encontrada. Setenta por cento (115 de 165) de todos os isolados foram resistentes à penicilina.

Quadro 3: Referência bibliográfica, objetivos, metodologia e resultados do trabalho de Loberto e colaboradores, selecionado para a revisão sistemática sobre a presença de *Staphylococcus* spp. no biofilme subgengival de sítios periodontais. Natal/RN, 2007.

Referência
Loberto JCS, Martins CAP, Santos SSF, Cortelli JR, Jorge AOC. <i>Staphylococcus</i> spp. in the oral cavity and periodontal pockets of chronic periodontitis patients. Braz Journal Microbiol 2004; 35:64-68.
Objetivos
Avaliar a presença de estafilococos na cavidade oral e em bolsas periodontais de pacientes com periodontite crônica. Identificar os isolados e verificar a relação entre a presença de estafilococos na cavidade oral e a presença em bolsas periodontais.
Metodologia
<u>Caracterização da amostra</u>
<ul style="list-style-type: none"> ◆ Tamanho da amostra: 88 pacientes com periodontite crônica ◆ Idade: 25-60 anos; ◆ Boa saúde geral; ◆ Os grupos não tomaram antibióticos; ◆ Critérios de inclusão: apresentar pelo menos 2 sítios periodontais com profundidade de bolsa $\geq 5\text{mm}$.
<u>Material e Métodos</u>
Grupo teste:
<ul style="list-style-type: none"> ◆ Uso da sonda de Williams por um único examinador para exame dos parâmetros clínicos; ◆ Isolamento da cavidade oral com algodão estéril; ◆ Remoção do biofilme supragengival com gaze estéril;

- ◆ Uso de pontas de papel absorvente nº 30 por 30 segundos;
- ◆ Meio para transporte: eppendorfs com 1 mL de solução tampão fosfato (0.1M/pH 7.2);
- ◆ Coleta de 3 sítios periodontais doentes;
- ◆ Coleta de bochechos orais;
- ◆ Diluição em 2,5 mL e 0,6 mL de solução tampão fosfato;
- ◆ Cada amostra (0,1 mL) foi semeada em Baird Parker agar;
- ◆ Incubação a 37° C em aerobiose por 24 a 72 horas;
- ◆ Identificação: morfologia colonial, coloração de Gram de acordo com os critérios de Koneman et al. (1997);
- ◆ Identificação dos *Staphylococcus* coagulase-negativos através Sistema API Staph.

Resultados

Do total dos pacientes, 37,50% apresentaram estafilococos nas bolsas periodontais e 61,36% na cavidade oral. 27,27% apresentaram estafilococos em ambos os sítios. A espécie *S. epidermidis* foi a mais prevalente nas bolsas periodontais (15,9%) e na cavidade oral (27,27%).

Além dos trabalhos acima referidos, alguns artigos são de suma importância, uma vez que também abordam a ocorrência de estafilococos na doença periodontal. No entanto, os mesmos tratam a relação do tratamento periodontal com a presença de estafilococos e do uso de antibióticos como terapia coadjuvante no tratamento da doença periodontal.

Dentro dessa perspectiva, verificou-se que Rams e colaboradores ⁹¹ analisaram a prevalência de estafilococos em 506 indivíduos com periodontite crônica avançada (36-89 anos), 108 com periodontite de acometimento precoce (35 anos), 13 com periodontite juvenil localizada (22 anos), 18 com gengivite crônica (16-62 anos) e 20 com implantes dentários de titânio que falharam (40-75 anos). Todos os grupos de pacientes tinham sofrido tratamento periodontal convencional e terapia antibiótica antes da pesquisa.

Nos procedimentos metodológicos, o biofilme supragengival foi removido antes da coleta. Com pontas de papel finas, o biofilme subgengival foi coletado após a permanência das mesmas por 10 segundos em cada sítio periodontal selecionado. As amostras foram identificadas através da morfologia clonal, coloração de Gram, prova da catalase, teste de aglutinação Bacto Staph látex para atividade da coagulase e o Sistema API STAPH Trac.

Foram isolados estafilococos do biofilme subgengival de 255 (50,4%) dos indivíduos com periodontite crônica avançada. Das 94 cepas de estafilococos subgengivais identificadas, 45,8% correspondiam a *S. epidermidis* e 22,3% a *S. aureus*. Dos pacientes com gengivite crônica, observou-se o isolamento de 50% de estafilococos subgengivais, 45,4% nos pacientes com periodontite de acometimento precoce, 30,8% em periodontite juvenil localizada e 69,2% dos pacientes com implantes dentários. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na prevalência ou proporções de estafilococos entre os grupos supracitados. No entanto, vale salientar que as lesões de periimplantite mostraram diferenças significativas nas médias das proporções de estafilococos isolados (15,1%) quando comparados aos indivíduos com gengivite crônica (0,06%) ou periodontite crônica avançada (1,2%). Estas amostras apresentaram resistência à tetraciclina (14,4%), penicilina (4,9%), eritromicina (12,1%) e metronidazol (31,9%).

No mesmo ano, Rams e colaboradores⁹² analisaram a ocorrência subgengival de estafilococos, bacilos entéricos e fungos após terapia sistêmica com doxiciclina. Um total de 21 adultos (11 homens e 10 mulheres com idade de 32 a 66 anos) com periodontite avançada foram estudados. Todos os pacientes tinham boa saúde geral e não tinham recebido terapia antibiótica nos 6 meses anteriores a pesquisa. Os pacientes receberam instruções de higiene oral e várias sessões de raspagem e aplainamento radicular com anestesia local associada a irrigações com gluconato de clorexidina a 0,12% nos sítios periodontais durante as sessões de instrumentação mecânica e, cinco pacientes também utilizaram duas vezes ao dia bochechos com clorexidina a 0,12%. Estes passos foram seguidos pela administração sistêmica de doxiciclina (100 mg no primeiro dia, e então 100mg/dia por 20 dias) para todos os pacientes. A terapia de manutenção periodontal foi realizada por 6 a 8 semanas após a complementação do regime antibiótico. Após o tratamento, a profundidade de sondagem dos sítios periodontais foi registrada.

A metodologia para coleta do biofilme subgengival empregada foi semelhante à utilizada por Rams em seu artigo anterior supracitado. Os *Staphylococcus* subgengivais foram isolados de 11 pacientes antes da terapia com doxiciclina sistêmica (média = $1,4 \times 10^3$ organismos /mL) em 5 deles e, 6 pacientes inicialmente cultura – negativa para estafilococos exibiram a média de $3,6 \times 10^3$ /ml de *Staphylococcus* subgengivais após terapias com doxiciclina.

Do mesmo modo, Helovuo e colaboradores³⁶ analisaram as mudanças na prevalência de estafilococos, bacilos entéricos e fungos após tratamento com penicilina e eritromicina. Um total de 72 pacientes com evidência radiográfica e clínica de periodontite foi estudado. Eles foram divididos em 3 grupos: grupo controle (18 mulheres e 9 homens); grupo eritromicina (10 mulheres e 11 homens); e grupo penicilina (15 mulheres e 9 homens). Os pacientes tinham de 40-49 anos de idade e apresentavam pelo menos 16 dentes naturais; não usavam dentaduras removíveis; sem tratamento dentário durante os 4 meses anteriores a pesquisa, exceto emergências; sem história de diabetes mellitus, discrasias sanguíneas, desordens de imunodeficiência ou irradiação; sem medicação atual para asma ou câncer e sem tratamento com hormônios sexuais, fenitoína ou corticosteróides; e sem ocorrência de gravidez. Foi prescrito aos pacientes penicilina sistêmica por 7-10 dias (3 vezes ao dia) ou eritromicina sistêmica por 7-10 dias (500 mg 3 vezes ao dia).

A metodologia para a coleta do biofilme subgengival empregada foi um pouco diferente da utilizada no estudo anterior, uma vez que eles usaram curetas estéreis finas ao invés de pontas de papel absorvente para a coleta e outros meios de transporte e semeadura. Os resultados mostraram que os *S. aureus* não foram isolados de qualquer dos 3 grupos antes do tratamento antibiótico. A prevalência dessas bactérias aumentou significativamente após o tratamento com penicilina. Os estafilococos coagulase-negativos foram isolados de todos os 3 grupos antes e após o tratamento antibiótico.

Face ao exposto, sabe-se da habilidade dos estafilococos para causar uma ampla variedade de doenças. Porém, ainda não existem evidências suficientes que comprovem sua participação na etiopatogenia da doença periodontal, uma vez que poucas amostras de biofilme subgengival têm sido coletadas de ambientes saudáveis, fazendo-se necessárias maiores investigações sobre este microrganismo para estabelecer uma possível relação com estas doenças e haver uma interpretação definitiva dos dados quantitativos e qualitativos disponíveis na literatura.

3 OBJETIVO GERAL

O propósito deste estudo foi detectar a presença, estabelecendo a prevalência de bactérias do gênero *Staphylococcus* no biofilme subgingival de sítios saudáveis e doentes (com gengivite crônica e periodontite crônica), relacionando-a com fatores do hospedeiro, do ambiente bucal e próprios das doenças.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a prevalência de *Staphylococcus* spp. nos indivíduos e em sítios saudáveis, sítios com gengivite crônica e sítios com periodontite crônica leve, moderada e severa em pacientes que demandaram atendimento na Clínica de Periodontia da UFRN no ano de 2006;
- Caracterizar o gênero *Staphylococcus* quando isolado dos sítios, quanto à espécie *S. aureus* e ao grupo *Staphylococcus* coagulase-negativos, determinando suas prevalências nos sítios estudados;
- Verificar o perfil de susceptibilidade dos estafilococos isolados aos antimicrobianos comumente utilizados na prática médica para o tratamento das infecções causadas por este gênero bacteriano;
- Obter o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) do gênero *Staphylococcus* nos diversos sítios estudados para estabelecer seus níveis de infecção;
- Estabelecer uma relação entre as variáveis dependentes (Presença ou ausência de *Staphylococcus* coagulase-negativos e níveis de infecção por *Staphylococcus* coagulase-negativos) e as variáveis independentes (Idade, Sexo, Presença ou ausência de doença de base,

Tipo de doença de base, Presença ou ausência de doença periodontal, Glicemia, Condição do sítio periodontal, Presença ou ausência de sangramento gengival por sítio, Índice de Sangramento Gengival por indivíduo (ISG_G), Índice de Sangramento Gengival por dentes coletados (ISG_D), Profundidade à sondagem, Recessão gengival, Nível de inserção, Fumo) deste estudo.

4. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

4.1 Caracterização do estudo

Estudo seccional no qual fator e efeito são observados num mesmo momento histórico.

4.2 Estudo Piloto

A realização deste estudo objetivou identificar problemas e dificuldades, além de possibilitar a análise, revisão e direcionamento dos aspectos da investigação, no que se refere aos instrumentos metodológicos e possibilitar o cálculo para o tamanho da amostra. Foram selecionados 17 indivíduos sob os mesmos critérios utilizados para o grupo de indivíduos da pesquisa. O delineamento do estudo piloto foi o mesmo da pesquisa, utilizando os mesmos critérios. Os sujeitos, previamente à realização do estudo, foram esclarecidos a respeito da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexos B e C).

4.3 Amostra

4.3.1 Caracterização da Amostra

A amostra envolvida na pesquisa foi intencional e composta de 30 pacientes adultos que procuraram o Setor de Periodontia do Departamento de Odontologia da UFRN para tratamento periodontal, no período de Março a Agosto de 2006.

4.3.2 Critérios de Inclusão

Alguns requisitos foram determinados como critérios de inclusão da pesquisa, tais quais: indivíduos que apresentassem idade entre 19 e 55 anos, que ao exame clínico fosse constatada a presença de sítios periodontais saudáveis e/ou com gengivite crônica e/ou periodontite crônica, sem distinção de sexo e raça, gozando de boa saúde geral ou não e que concordassem em participar da pesquisa de acordo com o esquema adotado.

4.3.3 Critérios de Exclusão

Da mesma forma, determinaram-se alguns requisitos como critérios de exclusão, quais sejam: gestantes, indivíduos que tivessem sido submetidos a tratamento odontológico para periodontite ou gengivite nos últimos seis meses, que fizeram uso de qualquer antibiótico ou antimicrobiano local ou sistêmico nos últimos três meses e que usassem aparelho ortodôntico.

4.3.4 Cálculo do Tamanho da Amostra

Para determinação do tamanho da amostra realizou-se um estudo piloto com 17 participantes, para estabelecer a prevalência de *Staphylococcus* spp. e, a partir dos dados coletados, poderemos calcular o tamanho da amostra para o estudo. Para tanto, utilizamos a planilha para o cálculo do tamanho da amostra para estudos seccionais (Variável qualitativa dicotômica) da seguinte forma:

Prevalência estimada da doença (%) = 95

Margem de erro (%) = 10

Efeito do desenho = 1

Taxa de não-resposta (%) = 20

Resultado = 24 indivíduos participantes.

4.4 Coleta de dados

4.4.1 Avaliação Clínica

Inicialmente, uma ficha clínica foi preenchida, para cada paciente, com todos os dados relacionados a anamnese (idade, sexo, presença ou ausência de doença de base, tipo de doença de base, glicemia, uso de fumo) e aos parâmetros clínicos da pesquisa, tais como: Índice de

Sangramento Gengival do indivíduo, Profundidade de sondagem, Recessão gengival, Presença ou ausência de periodontite e Nível de inserção clínica (ANEXO A).

Para obtenção destes dados, o paciente foi submetido a um exame clínico para medição da profundidade de sondagem, medida em milímetros, através da introdução de uma sonda milimetrada no sulco gengival ou bolsa periodontal de cada um dos sítios periodontais: Mésio-Vestibular (MV), Vestibular (V), Disto-Vestibular (DV), Mésio-Lingual (ML), Lingual (L), Disto-Lingual (DL) e, em seguida, a verificação do Índice de Sangramento Gengival (O'Leary modificado) que traduz o nível de inflamação da gengiva causado pela presença do biofilme envelhecido localizado, sendo visto 10 a 15 segundos após a sondagem. O número de unidades positivas foi dividido pelo número de margens gengivais examinadas e o resultado multiplicado por 100, para expressar o índice como uma porcentagem⁵⁷. Verificou-se também o nível de inserção clínica de cada elemento dentário como segue: medida da sondagem em milímetros com sonda periodontal milimetrada somada a recessão gengival (medida que parte da margem gengival à junção cimento-esmalte de cada sítio periodontal), caso o elemento dentário apresentasse a recessão gengival. Se não houvesse recessão gengival no elemento dentário, o nível de inserção clínica foi representado pela profundidade de sondagem do mesmo.

Os pacientes foram submetidos ao monitoramento da glicose no sangue, através de um dispositivo marcador de glicemia denominado glicosímetro (ACCU-CHEK Softclix, Roche®) que permite a verificação rápida do nível de glicose circulante sanguínea. O procedimento consistiu na produção de uma pequena perfuração no dedo do paciente através de uma agulha descartável. Obteve-se uma gota de sangue que foi colocada sobre o marcador para leitura.

4.4.2 Coleta e processamento do biofilme subgengival para análise bacteriológica

Para coleta do biofilme subgengival foram selecionados, aleatoriamente (sorteio), 3 elementos dentários de acordo com as condições de saúde e doença presentes no ambiente oral. Esta coleta foi realizada em 6 sítios de cada elemento, sejam: Mésio-Vestibular (MV), Vestibular (V), Disto-Vestibular (DV), Mésio-Lingual (ML), Lingual (L), Disto-Lingual (DL), totalizando-se 18 sítios periodontais por indivíduo. Um único operador calibrado para os critérios do estudo

fez a coleta. Os terceiros molares superiores e inferiores, dentes mal posicionados, dentes com cáries extensas e cáries radiculares foram excluídos do sorteio.

A região foi mantida livre de saliva com a ajuda de um sugador descartável e gaze estéril, além de um leve jateamento de ar comprimido para secar a superfície e facilitar a visualização. Em seguida, o biofilme supragengival foi removido da superfície dentária com gaze e curetas estéreis e descartado. O processo de coleta do biofilme subgengival se deu com a introdução de uma ponta de papel absorvente estéril (uma ponta para cada sítio), até o fundo do sulco gengival ou bolsa periodontal. A ponta de papel permaneceu por 30 segundos, em cada sítio periodontal dos elementos dentários selecionados (figura 2-1).

As amostras coletadas foram armazenadas, individualmente, em solução salina (0,5 mL) contidas em micro-tubos, e transportadas ao Laboratório de Microbiologia Oral do Departamento de Odontologia da UFRN, devidamente conservadas em gelo para análise bacteriológica.

4.4.3 Isolamento primário das estirpes

Num período máximo de até 30 minutos após a coleta do biofilme subgengival, as amostras foram processadas. Os Eppendorfs contendo as pontas de papel absorvente e solução salina foram agitados em Vortex® por 30 segundos com o intuito de desalojar as bactérias e ressuspê-las. Em seguida, uma alíquota de 0,1 mL desta suspensão foi semeada sobre o meio de cultura seletivo para estafilococos Agar Manitol Salgado (AMS) – BBL® Sparks USA com auxílio de uma alça de Drigalsky. As placas de Petri foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24-48 horas (figura 2-2).

Após 24-48 horas de incubação foi realizada uma leitura macroscópica para contagem dos diferentes tipos morfológicos coloniais isolados na placa de Petri, obtidos por sítio periodontal (figura 2-3).

4.4.4 Identificação das estirpes

Uma UFC representativa de cada um dos tipos morfológicos isolados no AMS foi repicado para o caldo Tryptic Soy Broth (TSB) – Bacto® Sparks USA, contido em tubos de ensaio com 3 mL cada (figura 2-4). Os tubos foram incubados em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas. Passadas 24 horas, foram realizados esfregaços corados pela técnica de coloração de Gram para análise do aspecto morfotintorial das amostras. Aquelas que se apresentaram como cocos Gram positivos, presuntivos do gênero *Staphylococcus*, foram selecionadas para os demais testes (figura 2-5). Dando prosseguimento ao processo, uma alíquota da suspensão bacteriana foi semeada em meio de cultura Tryptic Soy Agar (TSA) – Difco® Sparks USA, para obtenção de colônias isoladas puras e, a partir deste cultivo serem realizados os testes para a caracterização do gênero *Staphylococcus* (figura 2-6).

4.4.5 Caracterização do gênero *Staphylococcus*

4.4.5.1 Prova da Catalase

Os cultivos que se mostraram como cocos Gram-positivos foram submetidos à prova para a produção da enzima catalase. Sobre uma lâmina de microscopia foram colocadas algumas colônias de um cultivo de 24 horas em TSA e sobre as mesmas uma gota de peróxido de hidrogênio (Água oxigenada 3%) (figura 2-7). Os cultivos que demonstraram uma rápida e sustentada produção de bolhas de gás ou efervescência foram considerados positivos para esta prova e foram submetidos ao teste da Coagulase livre⁴⁸. O controle positivo deste teste foi feito utilizando a amostra-padrão de *S. aureus* ATCC 25923 e a cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 como controle-negativo.

4.4.5.2 Susceptibilidade à Bacitracina

A partir do cultivo obtido em TSA, uma suspensão de 24 horas do microrganismo foi padronizada para uma turvação equivalente a 0,5 da escala de MacFarland em solução salina e,

então, semeada de forma confluyente sobre a superfície de placas contendo Ágar Mueller Hinton Difco® Sparks USA, com o auxílio de um “swab estéril”. Em seguida, aplicou-se um disco impregnado com bacitracina (0,04 UI – DME, São Paulo, Brasil) sobre o inóculo. Após incubação por 24 horas a 35° C, foi verificada a presença ou não de halo de inibição. Os estafilococos são resistentes à bacitricina não apresentando halo de inibição ou um halo menor que 10 mm. Foi utilizada a cepa de *S. aureus* ATCC 25923 como controle-positivo para esta prova ⁴⁸.

4.4.5.3 Prova da Coagulase Livre

Para a realização deste teste, uma porção de um cultivo de 24 horas em TSA foi inoculado em tubo de ensaio contendo 0,4 mL (400 microlitros) de plasma de coelho (Newprov Produtos para Laboratório Ltda Paraná, Brasil) diluído em solução salina estéril a 0,85%, de acordo com as orientações do fabricante. A seguir o tubo foi incubado a 35⁰C em estufa bacteriológica e, durante os intervalos de 2, 4, 6, 8 e 24 horas foram feitas leituras deste teste. O teste positivo caracteriza formação de coágulo, enquanto o teste negativo caracteriza ausência de coágulo. Nenhuma das amostras apresentou formação de coágulo (figura 2-8), o que caracterizou a identificação de *Staphylococcus* coagulase-negativos ⁴⁸. A cepa padrão ATCC 25923 foi utilizada como controle positivo dessa prova e a cepa de *S. epidermidis* ATCC 12228 como controle-negativo. As amostras submetidas a esta prova foram estocadas em micro-tubos contendo glicerol a 50% e TSB sendo armazenadas a – 20°C.

4.4.6 Susceptibilidade a antimicrobianos

As amostras identificadas como *Staphylococcus* foram submetidas ao teste de susceptibilidade a 12 antimicrobianos através da técnica de difusão em meio sólido (Kirby-Bauer). A partir do cultivo obtido em TSA, uma suspensão de 24 horas do microrganismo foi padronizada para uma turvação equivalente a 0,5 da escala de MacFarland em solução salina e,

então, semeada de forma confluyente sobre a superfície de placas de Petri contendo Ágar Mueller Hinton Difco® Sparks USA, com o auxílio de um “swab” estéril. Em seguida, aplicaram-se os discos impregnados com os antibióticos sobre o inóculo. Após incubação por 24 horas a 35° C, foi verificada a presença ou não de halo de inibição e feita a medida do halo, quando presente, para posterior comparação com os parâmetros do Clinical and Laboratory Standards Institute ¹². Os antibióticos (Labor Clin®) utilizados foram: penicilina G (10U), oxacilina (1µg), cefoxitina (30µg), vancomicina (30µg), ciprofloxacina (5µg), eritromicina (15µg), sulfametoxazol-trimetoprin (23,75µg-1,25µg), cloranfenicol (30µg), gentamicina (10µg), tetraciclina (30µg), rifampicina (5µg) e clindamicina (2µg). Durante a aplicação dos discos de antibióticos sobre o meio de cultura, os discos de clindamicina e eritromicina foram dispostos a uma distância de 20mm um do outro para a verificação de resistência induzida para clindamicina (Teste-D)¹².

4.4.7 Teste para a detecção de resistência à meticilina

Este teste foi realizado como recomendado por De Lencastre e colaboradores ¹⁸. Uma alíquota de 50 µl, a partir dos estoques iniciais foi semeada em tubos de ensaio contendo 3 mL de TSB (Bacto® Sparks USA). Estes tubos foram incubados a 35°C, sob agitação, por 24 horas. Cem microlitros dos cultivos bacterianos obtidos (10^{10} - 10^9 UFC/mL) foram semeados com o auxílio de alças de Drigalski, sobre a superfície de placas de Petri contendo TSA (Difco® Sparks USA), adicionado de 25 µg/mL de meticilina (Sigma®).

Em seguida, as placas foram incubadas a 35°C por 24-48 horas. Decorrido este intervalo de tempo, as placas foram examinadas em relação à presença ou ausência de crescimento bacteriano. O crescimento obtido foi submetido à coloração de Gram para a confirmação da morfologia característica de *Staphylococcus* spp. e, conseqüente comprovação da pureza da amostra. Em seguida foram feitos novos cultivos em TSA a partir destas colônias para a realização das provas de catalase e coagulase livre. A cepa de *S. aureus* BMB 9393, homogeneamente resistente à meticilina, foi utilizada como controle positivo dessa prova.

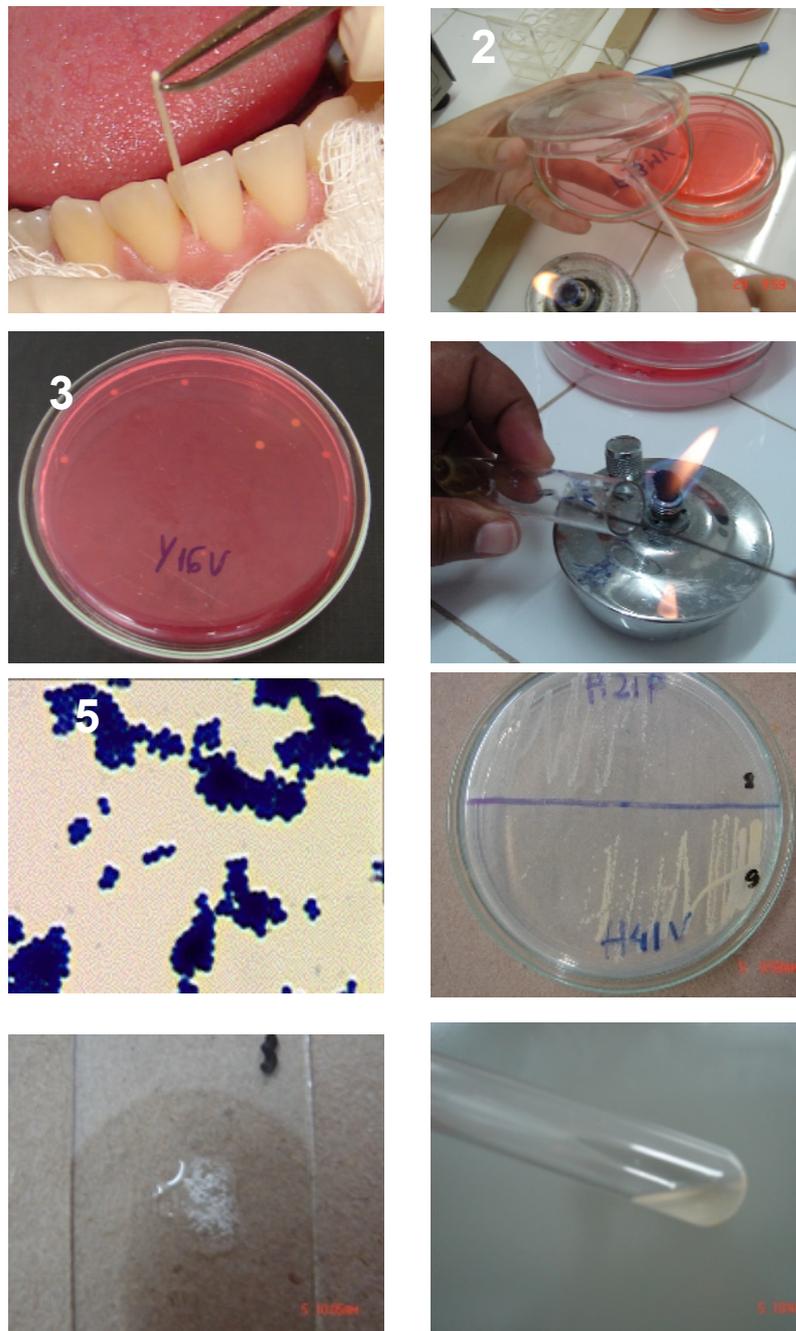


Figura 2: Coleta do biofilme subgengival com ponta de papel absorvente (1); Semeadura em AMS (2); UFC isoladas em AMS (3); Colônia repicada para o TSB (4); Coloração de Gram para o TSB (4); Coloração de Gram (5); Colônias repicadas para o TSA (6); Teste da catalase (7); Teste da coagulase livre (8).

4.5 Elenco de Variáveis

As variáveis dependentes e independentes envolvidas no estudo e suas respectivas classificações encontram-se descritas nos quadros 1 e 2.

Quadro 4: Variáveis dependentes analisadas no estudo. Natal/RN, 2007.

VARIÁVEIS DEPENDENTES		
Nome da Variável	Definição	Classificação
Presença ou ausência de <i>Staphylococcus</i> coagulase-negativos	Presença ou ausência de <i>Staphylococcus</i> coagulase-negativos nos indivíduos e sítios estudados.	Presente Ausente
Nível de infecção por <i>Staphylococcus</i> coagulase-negativos	Quantidade de UFCs de estafilococos presentes no meio seletivo Agar manitol salgado dos indivíduos e sítios estudados.	0 10 Mais de 10

Quadro 5: Variáveis independentes analisadas no estudo. Natal/RN, 2007.

VARIÁVEIS INDEPENDENTES		
Nome da variável	Definição	Classificação
Idade	Número de anos desde o nascimento.	19 a 55 anos
Sexo	Conjunto de características que distinguem os seres vivos pela sua função reprodutora.	Masculino Feminino
Presença ou ausência de doença de base	Doenças causadas por um processo metabólico anormal. Pode ser congênita devido à anormalidade enzimática herdada ou adquirida devido à doença de um órgão endócrino ou insuficiência de um órgão.	Presente Ausente
Tipo de doença de base	Caracterização do distúrbio sistêmico presente no organismo.	Diabetes mellitus tipo I Diabetes mellitus tipo II Hipertensão Hipertensão e Diabetes
Presença ou ausência de Periodontite	Condição inflamatória crônica de caráter infeccioso que acomete os tecidos periodontais de proteção e/ou sustentação do elemento dentário no paciente.	Presente Ausente
Glicemia	Quantidade de açúcar no sangue em mg/dL	70 mg/dL a 440 mg/dL
Condição do sítio periodontal	Condição que está presente no sítio de acordo com a classificação das doenças Periodontais da AAP.	Saudável Gengivite crônica Periodontite crônica
Presença ou ausência de sangramento gengival por sítio	Presença ou ausência de sangramento gengival após sondagem por sítio periodontal.	Presente Ausente
Índice de Sangramento Gengival (ISG) por indivíduo	Percentual de sangramento gengival caracterizando inflamação gengival devido ao biofilme envelhecido acumulado por má higienização.	0 a 100%

Índice de Sangramento Gengival (ISG) dos dentes coletados	Percentual de sangramento gengival caracterizando inflamação gengival devido ao biofilme envelhecido acumulado por má higienização.	0 a 100%
Profundidade à Sondagem	Quantidade em milímetros que a sonda periodontal penetra no sulco.	1 a 10 mm
Recessão gengival	Quantidade em milímetros medida pela sonda partindo da margem gengival à junção amelocementária.	1 a 10 mm
Nível de inserção	Medida em milímetros da soma da sondagem e recessão gengival de um elemento dentário.	1 a 14 mm
Fumo	Uso do tabaco pelo menos 1 vez ao dia.	Sim Não

4.6 Análise Estatística

Os dados do estudo foram inseridos no software SPSS versão 13.0 for Windows para análise dos resultados. Os resultados foram analisados mediante o teste não paramétrico Mann-Whitney (U) para o cruzamento da variável dependente Presença ou ausência de *Staphylococcus* coagulase-negativos e as variáveis independentes quantitativas: idade, glicemia, Índice de Sangramento Gengival geral (ISG_G), Índice de Sangramento Gengival dos dentes coletados (ISG_D), Profundidade de sondagem, Recessão gengival e Nível de inserção. A análise das variáveis categóricas em relação à Presença ou ausência de *Staphylococcus* coagulase-negativos em cada sítio periodontal foi realizada mediante o teste de associação do Qui-quadrado ou Exato de Fisher. Para o cruzamento da variável dependente níveis de infecção por *Staphylococcus* coagulase-negativos no sítio examinado com as variáveis independentes quantitativas: idade, glicemia, Índice de Sangramento Gengival geral (ISG_G), Índice de Sangramento Gengival dos dentes coletados (ISG_D), Profundidade à sondagem, recessão gengival e nível de inserção usou-se o Teste Kruskal-Wallis. A análise das variáveis categóricas em relação aos níveis de infecção por *Staphylococcus* coagulase-negativos foi realizada mediante o teste de associação do Qui-quadrado ou Exato de Fisher. O nível de significância foi de 5% para todos os testes.

4.7 Considerações Éticas

O projeto de pesquisa foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFRN, nº do protocolo 007/06, para devida análise recebendo parecer favorável à sua execução, sendo considerado de baixo risco para os pacientes que dele participaram e estando de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, a qual trata de pesquisa em seres humanos (ANEXO C). O termo de consentimento foi fornecido juntamente com todos os esclarecimentos necessários a respeito do estudo (ANEXO B).

5. RESULTADOS

Esse capítulo encontra-se dividido em quatro seções. A primeira delas versa sobre a caracterização da amostra, que constou de 30 indivíduos, dos quais foram analisados 90 dentes e destes, 540 sítios periodontais. A segunda seção apresenta a prevalência de *Staphylococcus* spp. por indivíduo, por sítio periodontal examinado e a caracterização dessa prevalência por condição periodontal e tipo de sítio e, ainda, a relação entre a presença de *Staphylococcus* coagulase-negativos (ECN) nos sítios periodontais examinados e as variáveis independentes categóricas e quantitativas relacionadas aos indivíduos, elemento dentários e sítios periodontais. A seção três aborda a relação entre os níveis de infecção por ECN e as variáveis categóricas e quantitativas associadas. Encerrando o capítulo, a seção quatro mostra o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos das amostras de *Staphylococcus* coagulase-negativos isoladas do biofilme dentário subgingival.

5.1 Caracterização da amostra

Na tabela 1, verifica-se a distribuição dos dados das variáveis independentes categóricas, considerando os trinta participantes da pesquisa, em números absolutos e respectivos percentuais.

Tabela 1: Análise descritiva das variáveis independentes categóricas considerando os indivíduos, em números absolutos e respectivos percentuais. Natal/RN, 2007.

Variáveis independentes categóricas	n	%
Sexo		
Feminino	19	63,3
Masculino	11	36,7
Doença de base		
Presente	5	16,7
Ausente	25	83,3
Tipo de doença de base		
Hipertensão	2	6,7
Diabetes mellitus tipo I	1	3,3
Diabetes mellitus tipo II	1	3,3
Diabetes tipo II e hipertensão	1	3,3
Uso do fumo		
Sim	1	3,3
Não	25	83,3
Ex-fumante	4	13,3
Alergia		
Sim	6	20
Não	24	80
Doença periodontal		
Presente	28	93,3
Ausente	2	6,7
Severidade da doença periodontal		
Gengivite crônica	7	25
Periodontite crônica leve localizada	6	21,4
Periodontite crônica leve generalizada	3	10,7
Periodontite crônica moderada localizada	1	3,6
Periodontite crônica moderada generalizada	6	21,4
Periodontite crônica severa generalizada	5	17,9

Conforme observado na tabela 1, dos 30 participantes arrolados para a pesquisa, aproximadamente dois terços corresponderam ao sexo feminino. Pouco mais de 15% destes apresentava alguma doença de base, sendo a hipertensão arterial a mais prevalente. Trata-se de uma população classificada como não-fumante, tendo em vista que somente um participante fazia uso do fumo. Em relação à doença periodontal, 93,3% da população apresentava alguma forma da doença, variando desde uma gengivite crônica a quadros de periodontite crônica severa generalizada.

No que diz respeito às variáveis quantitativas, suas medidas de tendência central e dispersão, considerando os trinta participantes da pesquisa, encontram-se expressas na tabela 2.

Tabela 2: Médias, desvios-padrões, medianas e quartis 25 e 75 para as variáveis independentes quantitativas idade, quantidade de açúcar no sangue (em mg/dL), ISG_G, ISG_D, profundidade da sondagem, recessão gengival e nível de inserção. Natal/RN, 2007.

Variáveis independentes quantitativas	$\bar{X} \pm DP$	Mediana	Q25-Q75
Idade	37,73 ± 11,08	40,5	27-47
Quantidade de açúcar no sangue mg/dL	131,79 ± 76,84	108	96-128
ISG_G	39,54 ± 33,81	24,25	8,33-69,40
ISG_D	39,05 ± 36,26	29,16	8,33-61,10
Profundidade da sondagem	2,26 ± 1,35	2	1-3
Recessão gengival	0,58 ± 1,14	0	0-1
Nível de inserção	2,84 ± 2,01	2	1-4

Os valores das medidas de tendência central e dispersão expressos na tabela 2 revelam que a população analisada trata-se de uma população classificada como adulta, onde pelo menos 75% tinham 27 anos ou mais. Seu nível sanguíneo de açúcar (em mg/dL) encontra-se um pouco acima dos padrões considerados de normalidade (70 a 100 mg/dL). As médias do Índice de sangramento gengival geral (ISG_G) e o Índice de sangramento dos dentes coletados (ISG_D) são similares e

correspondem ao preconizado pela literatura para se considerar um ambiente oral doente, ou seja, acima de 30%. Os dados referentes aos parâmetros clínicos periodontais (Profundidade de sondagem, Recessão gengival e Nível de inserção) revelam que a maioria dos indivíduos apresenta uma doença periodontal mais branda, ou seja, doenças como gengivite crônica e periodontite crônica leve (em geral a profundidade de sondagem situa-se em 3 mm e a recessão gengival para a periodontite crônica leve entre 1 e 2 mm).

Tomando como base não mais o indivíduo e sim os dentes e sítios periodontais analisados, a tabela 3 expressa a distribuição dos dados para as variáveis independentes categóricas.

Tabela 3: Análise descritiva das variáveis independentes categóricas considerando os elementos dentários e sítios periodontais, em números absolutos e respectivos percentuais. Natal/RN, 2007.

Variáveis independentes categóricas	n	%
Mobilidade dentária		
Ausente	78	86,7
Presente	12	13,3
Sangramento gengival no sítio periodontal		
Presente	308	57
Ausente	232	43
Condição do sítio periodontal		
Saudável	306	56,7
Gengivite crônica	120	22,2
Periodontite crônica leve	74	13,7
Periodontite crônica moderada	30	5,6
Periodontite crônica severa	10	1,9

Como se pode observar na tabela 3, a maioria dos elementos dentários não apresentou nenhuma mobilidade. Já a presença de sangramento gengival nos sítios foi verificada em quase 60% destes. Com relação à condição periodontal dos sítios examinados, uma grande porcentagem

corresponde a sítios saudáveis ou que apresentam as formas mais brandas da doença periodontal como uma gengivite crônica, perfazendo ambos, um total de quase 80% dos sítios examinados.

5.2 Prevalência de *Staphylococcus* spp. no biofilme subgengival

Um contingente de 86,7% dos indivíduos que participaram da pesquisa albergava estafilococos no biofilme dentário subgengival em pelo menos um sítio periodontal estudado, ou seja, dos 30 pacientes arrolados somente 4 não apresentavam este microrganismo (Figura 3).

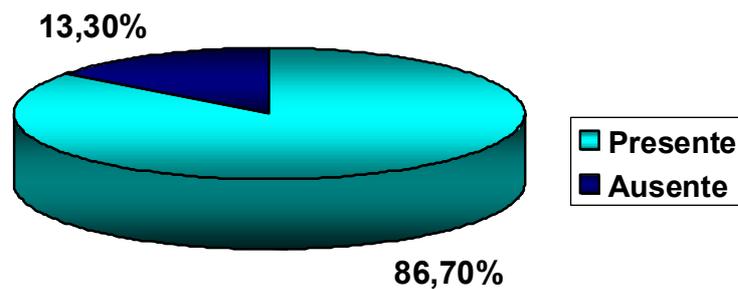


Figura 3: Representação gráfica da Prevalência de *Staphylococcus* spp. no biofilme subgengival dos indivíduos pesquisados. Natal/RN, 2007.

Após os testes de identificação das amostras com a prova da catalase, prova da coagulase livre e sensibilidade à bacitracina, observou-se que todas elas pertenciam ao grupo *Staphylococcus* coagulase-negativos. Nenhuma amostra foi identificada como *Staphylococcus aureus*. Quando foram analisados os 540 sítios periodontais, um percentual muito menor foi encontrado, em termos de presença de ECN, revelando sua baixa ocorrência nos sítios examinados.

A representação gráfica da prevalência de estafilococos por sítio periodontal examinado encontra-se na figura 4.

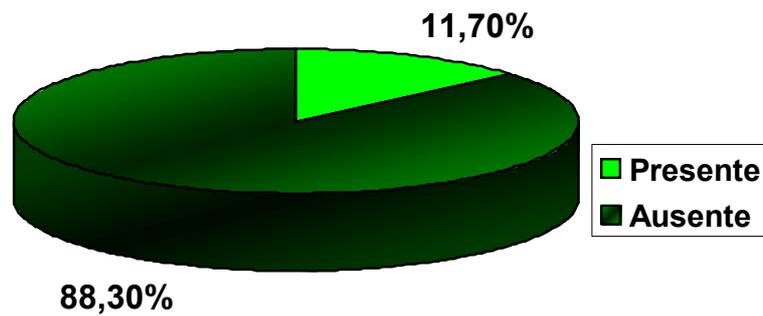


Figura 4: Representação gráfica da Prevalência de *Staphylococcus* coagulase-negativos no biofilme subgengival dos sítios periodontais examinados. Natal/RN, 2007.

O percentual de estafilococos de 11,7% representa apenas 63 amostras de biofilme subgengival que albergavam este microrganismo. Já o número de sítios periodontais que albergava estafilococos por indivíduo, em média, foram 2,16 sítios.

A prevalência de ECN nos sítios periodontais examinados, de acordo com a condição clínica do mesmo encontra-se na figura 5.

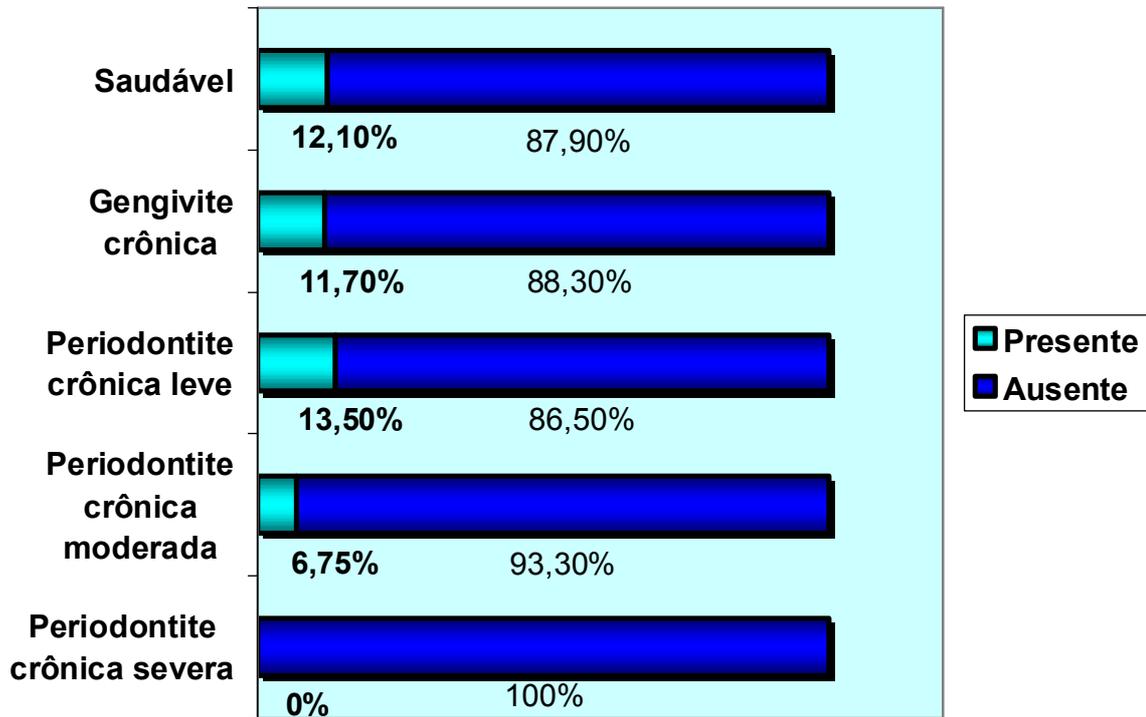


Figura 5: Representação gráfica da Prevalência de *Staphylococcus* coagulase-negativos no biofilme subgengival de acordo com a condição periodontal dos sítios examinados. Natal/RN, 2007.

Observando a figura 5, pode-se perceber que há uma tendência a uma menor taxa de isolamento de *Staphylococcus* coagulase-negativos nos quadros mais graves de doença periodontal, sem, no entanto, haver associação significativa ($p=0,672$) entre a condição do sítio e a presença de ECN no mesmo.

Levando em consideração o tipo de sítio estudado, observa-se na figura 6 o percentual de isolamento de ECN.

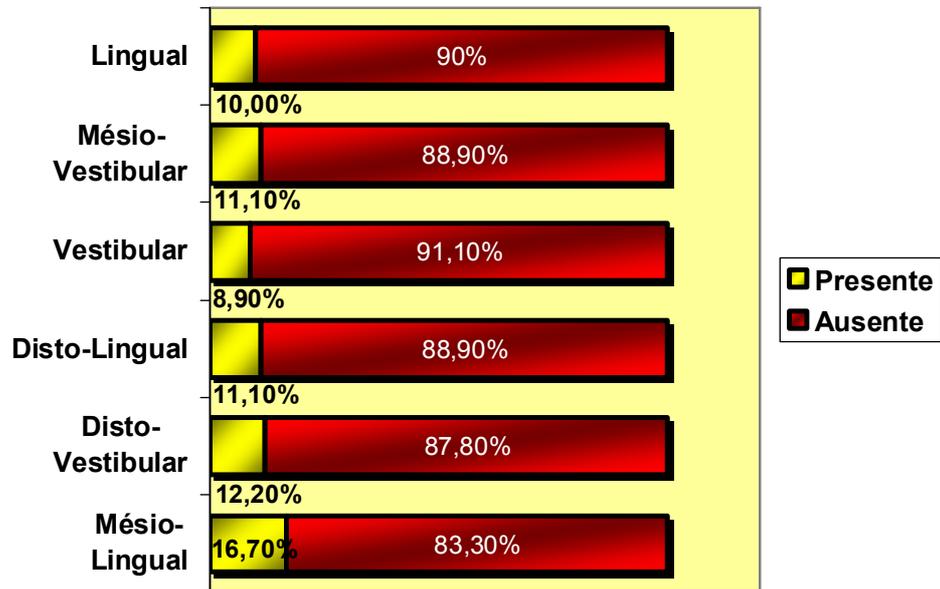


Figura 6: Representação gráfica da Prevalência de *Staphylococcus* coagulase-negativos por tipo de sítio periodontal examinado. Natal/RN, 2007.

De acordo com a figura 6, observa-se uma baixa ocorrência de ECN em todos os tipos de sítios. Um maior isolamento de ECN foi observado no sítio Mésio-lingual e uma menor ocorrência no sítio Vestibular, muito embora tal diferença não tenha sido significativa ($p=0,672$).

Na tabela 4, vê-se a associação entre a variável dependente *Staphylococcus* coagulase-negativos no sítio periodontal examinado e as variáveis independentes categóricas do estudo por sítio periodontal.

Tabela 4: Números absolutos e relativos de sítios com presença ou ausência de *Staphylococcus* coagulase-negativos em relação às variáveis independentes categóricas e seus respectivos níveis de significância estatística. Natal/RN, 2007.

<i>Staphylococcus</i> coagulase-negativos no sítio periodontal examinado			
Variáveis independentes categóricas			
Sexo	Presente n (%)	Ausente n (%)	p
Feminino	37 (10,8)	305 (89,2)	0,420
Masculino	26 (13,1)	172 (86,9)	
Doença periodontal			
Ausente	3 (8,3)	33 (91,7)	0,787*
Presente	60 (11,9)	444 (88,1)	
Doença de base			
Ausente	57 (12,7)	393 (87,3)	0,106
Presente	6 (6,7)	84 (93,3)	
Uso do fumo			
Não	53 (11,8)	397 (88,2)	0,708*
Sim	1 (5,6)	17 (94,4)	
Alergia			
Não	48 (11,1)	384 (88,9)	0,421
Sim	15 (13,9)	93 (86,1)	
Severidade da doença periodontal			
Gengivite crônica	14 (11,1)	112 (88,9)	0,624
Periodontite crônica leve localizada	13 (12)	95 (88)	
Periodontite crônica leve generalizada	10 (18,5)	44 (81,5)	
Periodontite crônica moderada localizada	3 (16,7)	15 (83,3)	
Periodontite crônica moderada generalizada	10 (9,3)	98 (90,7)	
Periodontite crônica severa generalizada	10 (11,1)	80 (88,9)	
Mobilidade dentária			
Presente	6 (8,3)	66 (91,7)	0,454
Ausente	57 (12,2)	411 (87,8)	
Sangramento gengival no sítio			
Presente	26 (11,2)	206 (88,8)	0,878
Ausente	37 (12)	271 (88)	

Teste de associação do Qui-quadrado e * Teste Exato de Fisher

De acordo com a tabela 4, observa-se que não houve associação significativa entre as variáveis categóricas em questão e a presença de *Staphylococcus* coagulase-negativos nos sítios periodontais examinados.

Ainda no que diz respeito à variável dependente *Staphylococcus* coagulase-negativos no sítio periodontal examinado, observa-se na tabela 5, a associação desta com as variáveis independentes quantitativas.

Tabela 5: Medianas, quartis 25 e 75, média dos postos, valores de U e significância estatística para as variáveis independentes quantitativas idade, quantidade de açúcar no sangue (em mg/dL), ISG_G, ISG_D, profundidade da sondagem, recessão gengival e nível de inserção em relação a presença de ECN no sítio periodontal examinado. Natal/RN, 2007.

	Mediana	Q25-Q75	Média dos postos	U	p	
<i>Staphylococcus</i> coagulase- negativos no sítio periodontal examinado	Idade					
	Presente	41,00	29-48	281,79	14314,50	0,541
	Ausente	40,00	27-47	269,01		
	Quantidade de Açúcar no sangue em mg/dL					
	Presente	110	100-128	278,79	13369,50	0,331
	Ausente	108	96-128	259,13		
	ISG_G					
	Presente	21,60	8,33-69,40	276,36	14656,50	0,751
	Ausente	26,40	8,33-69,40	269,73		
	IGS_D					
	Presente	25,00	8,33-50,00	267,64	14845,50	0,876
	Ausente	33,33	8,33-61,10	270,88		
	Profundidade da sondagem					
	Presente	2	2-3	298,91	13235,50	0,107
	Ausente	2	1-3	266,75		
	Recessão gengival					
	Presente	0	0-0	262,78	14539,00	0,590
	Ausente	0	0-1	271,52		
	Nível de inserção					
	Presente	2	2-4	292,61	13632,50	0,217
Ausente	2	1-4	267,58			

* Teste de Mann-Whitney

Depreende-se, a partir da análise da tabela 5, que não houve diferenças entre as medianas das variáveis independentes quantitativas e a variável dependente ECN no sítio periodontal examinado, ou seja, nenhuma das variáveis quantitativas analisadas foi maior ou menor para os sítios que albergavam ECN.

5.3 Níveis de infecção por *Staphylococcus* coagulase-negativos

Para análise da segunda variável dependente utilizamos os dados referentes ao número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC). Ao analisar este dado por indivíduo, verificou-se que 50% destes apresentavam 40 ou menos UFC, variando de zero a incontável, em todos os sítios periodontais estudados.

Na tabela 6, verifica-se a distribuição das variáveis independentes categóricas relacionando-as à variável dependente Níveis de infecção por *Staphylococcus* coagulase-negativos. Os valores estão distribuídos de acordo com os sítios periodontais estudados.

Tabela 6: Valores absolutos e percentuais de sítios periodontais com diferentes níveis de infecção por *Staphylococcus* coagulase-negativos e as variáveis independentes categóricas, e a significância estatística por indivíduo. Natal/RN, 2007.

Níveis de infecção por <i>Staphylococcus</i> coagulase-negativos				
Variáveis independentes categóricas				
Sexo	0 UFC n (%)	10 UFC n (%)	+ 10 UFC n (%)	<i>p</i>
Feminino	305 (89,2)	22 (6,4)	15 (4,4)	0,282
Masculino	172 (86,9)	11 (5,6)	15 (7,6)	
Doença periodontal				
Ausente	33 (91,7)	1 (2,8)	2 (5,6)	0,687
Presente	444 (88,1)	32 (6,3)	28 (5,6)	
Doença de base				
Ausente	393 (87,3)	31 (6,9)	26 (5,8)	0,200
Presente	84 (93,3)	2 (2,2)	4 (4,4)	
Uso do fumo				
Não	397 (88,2)	29 (6,4)	24 (5,3)	0,539
Sim	17 (94,4)	0 (0)	1 (5,6)	
Alergia				
Não	384 (88,9)	27 (6,3)	21 (4,9)	0,364
Sim	93 (86,1)	6 (5,6)	9 (8,3)	
Severidade da doença periodontal				
Gengivite crônica	112 (88,9)	7 (5,6)	7 (5,6)	0,821
Periodontite crônica leve localizada	95 (88)	6 (5,6)	7 (6,5)	
Periodontite crônica leve generalizada	44 (81,5)	7 (13)	3 (5,6)	
Periodontite crônica moderada localizada	15 (83,3)	2 (11,1)	1 (5,6)	
Periodontite crônica moderada generalizada	98 (90,7)	5 (4,6)	5 (4,6)	
Periodontite crônica severa generalizada	80 (88,9)	5 (5,6)	5 (5,6)	
Mobilidade dentária				
Ausente	411 (87,8)	29 (6,2)	28 (6)	0,522
Presente	66 (91,7)	4 (5,6)	2 (2,8)	
Sangramento gengival no sítio				
Ausente	271 (88)	20 (6,5)	17 (5,5)	0,913
Presente	206 (88,8)	13 (5,6)	13 (5,6)	
Condição do sítio periodontal				
Saudável	269 (87,9)	20 (6,5)	17 (5,6)	0,923
Gengivite crônica	106 (88,3)	6 (5)	8 (6,7)	
Periodontite crônica leve	64 (86,5)	6 (8,1)	4 (5,4)	
Periodontite crônica moderada	28 (93,3)	1 (3,3)	1 (3,3)	
Periodontite crônica severa	10 (100)	0 (0)	0 (0)	
Sítio periodontal examinado				
Disto-vestibular	79 (87,8)	7 (7,8)	4 (4,4)	0,601
Vestibular	82 (91,1)	2 (2,2)	6 (6,7)	
Meso-vestibular	80 (88,9)	7 (7,8)	3 (3,3)	
Disto-lingual	80 (88,9)	4 (4,4)	6 (6,7)	
Lingual	81 (90)	6 (6,7)	3 (3,3)	

* Teste de associação do Qui-quadrado

Como observado na tabela 6, os dados revelam que não houve associação entre as variáveis independentes categóricas e os níveis de infecção por ECN. Para a variável severidade da doença periodontal, é importante ressaltar que, tanto num ambiente oral com quadro saudável quanto apresentando as variadas formas de doença periodontal, os níveis de infecção dos ECN se deu de maneira similar.

Conforme pode ser destacado ao observar a tabela 6, não houve associação significativa entre as variáveis mobilidade dentária, doença periodontal, sangramento gengival no sítio, condição do sítio periodontal e tipo de sítio periodontal examinado e os níveis de infecção por ECN. Tal fato revela que os ECN podem estar presentes ou não e em quantidades maiores ou menores no meio ambiente oral saudável ou doente, assim como em sítios periodontais saudáveis e doentes.

Na tabela 7, verifica-se a distribuição das medidas de tendência central e dispersão das variáveis independentes quantitativas relacionando-as à variável dependente Níveis de infecção por *Staphylococcus* coagulase-negativos. Os valores estão distribuídos de acordo com os sítios periodontais estudados.

Tabela 7: Medianas, quartis 25 e 75, média dos postos, valores de KW e significância estatística para as variáveis independentes quantitativas idade, quantidade de açúcar no sangue (em mg/dL), ISG_G, ISG_D, profundidade da sondagem, recessão gengival e nível de inserção em relação aos níveis de infecção por ECN no sítio periodontal examinado. Natal/RN, 2007.

	Mediana	Q25-Q75	Média dos postos	KW	<i>p</i>	
Níveis de infecção por <i>Staphylococcus</i> coagulase- negativos	Idade					
	0 UFC	40,00	27-47	269,01	0,519	
	10 UFC	40,00	29,50-46	263,68	1,311	
	+ 10 UFC	45,50	28,50-49,25	301,70		
	Quantidade de Açúcar no sangue em mg/dL					
	0 UFC	108	96-128	259,13	1,615	0,446
	10 UFC	108	101-117	263,95		
	+ 10 UFC	115	98-133	295,10		
	ISG_G					
	0 UFC	26,40	8,33-69,40	269,73	0,827	0,661
	10 UFC	20,00	8,04-69,40	260,41		
	+ 10 UFC	36,05	13,48-70,54	293,90		
	IGS_D					
	0 UFC	33,33	8,33-61,10	270,88	0,058	0,971
	10 UFC	25,00	8,33-61,10	264,23		
	+ 10 UFC	26,16	10,41-50,00	271,40		
	Profundidade da sondagem					
	0 UFC	2	1-3	266,75	3,280	0,194
	10 UFC	2	1-3	284,09		
	+ 10 UFC	2	2-3	315,22		
	Recessão gengival					
	0 UFC	0	0-1	271,52	0,308	0,857
	10 UFC	0	0-0,50	264,70		
	+ 10 UFC	0	0-0,25	260,67		
	Nível de inserção					
	0 UFC	2	1-4	267,58	2,431	0,296
	10 UFC	2	1,50-4,50	275,26		
+ 10 UFC	3	2-4	311,70			

Teste de Kruskal-Wallis

Ao se analisar a tabela 7, pode-se observar que não houve diferenças entre as medianas das variáveis independentes quantitativas com relação a variável dependente níveis de infecção por ECN, ou seja, o fato de um sítio periodontal não ter ECN, ter 10 ou mais de 10 UFCs não significa dizer que ele possua maiores ou menores valores para os parâmetros periodontais avaliados, nem seja de um indivíduo com maior ou menor idade e quantidade de açúcar no sangue.

5.4 Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos das cepas de ECN

Nesta seção, aborda-se a susceptibilidade das 74 cepas isoladas de ECN a antimicrobianos comumente utilizados na prática médica para tratar infecções por estafilococos.

A tabela 8 mostra a distribuição dos dados quanto ao perfil de resistência aos antimicrobianos das cepas de ECN isoladas do biofilme subgengival.

Tabela 8: Números absolutos e percentuais quanto à resistência aos antimicrobianos das cepas de ECN isoladas do biofilme dentário subgingival. Natal/RN, 2007.

Antimicrobianos	n	%
Oxacilina	4	5,4%
Cefoxitina	4	5,4%
Penicilina	41	55,4%
Clindamicina	7	9,4%
Eritromicina	24	32,4%
Gentamicina	2	2,7%
Tetraciclina	9	12,16%
Sulfametoxazol-trimetoprim	3	4,05%
Cloranfenicol	3	4,05%
Ciprofloxacina	0	0%
Vancomicina	0	0%
Rifampicina	0	0%

De acordo com a tabela 8, a maior resistência observada para as cepas de ECN isoladas neste estudo foi à penicilina, eritromicina e tetraciclina. Dentre as cepas resistentes à penicilina, 14 (34,1%) delas também apresentaram resistência a eritromicina. Sete cepas (9,4%) foram resistentes á clindamicina, sendo que 3 delas apresentaram resistência induzida, quando na análise do Teste-D.

Destaca-se ainda, que as 4 (5,3%) cepas que foram resistentes à oxacilina, também apresentaram resistência à meticilina. Estas ainda apresentaram resistência a todos os outros β -lactâmicos testados e, ainda, a duas outras classes de antibióticos.

Com relação às 74 cepas analisadas, 7 foram resistentes a duas ou três classes diferentes de antibióticos, sendo que para a maioria destas, as classes referidas eram a dos β -lactâmicos e dos macrolídeos. Nenhuma cepa apresentou resistência aos antibióticos ciprofloxacina, rifampicina e vancomicina.

6. DISCUSSÃO

As infecções periodontais compreendem um grupo de condições inflamatórias causadas por microrganismos que colonizam a superfície dentária supragengival e/ou subgengival, através da formação do biofilme dentário. Resultam de um desequilíbrio, ou seja, da quebra do balanço homeostático entre a resposta do hospedeiro e os microrganismos patogênicos^{21, 26, 82, 96, 127}.

A etiologia primária das doenças periodontais deve-se à presença do biofilme dentário, composto de aproximadamente 400 espécies microbianas, anfíbios da cavidade bucal. O biofilme apresenta-se como uma complexa massa bacteriana na margem gengival, e no interior do sulco gengival ou da bolsa periodontal, que uma vez estabelecido, resulta numa resposta inflamatória e imune do hospedeiro à presença das bactérias e de seus produtos, evoluindo continuamente, com períodos de exacerbação e de remissão, dependendo das propriedades agressoras dos microrganismos e da capacidade do hospedeiro em resistir a essa agressão^{64, 96}.

Além disso, fatores como deficiência de neutrófilos⁴³, resposta imunológica do hospedeiro inadequada, AIDS, fumo e diabetes são fatores que contribuem para a destruição dos tecidos^{53, 64}. Ainda, Genco e colaboradores²⁷ citam que o estresse pode ajudar na propagação dos microrganismos na gengiva e tecidos por seus efeitos imunossupressivos sobre o hospedeiro, através de distúrbios endócrinos das catecolaminas e glicocorticóides.

A busca pelos agentes etiológicos das doenças periodontais vem ocorrendo há mais de um século, iniciando aproximadamente em 1880, época em que os agentes etiológicos de muitas infecções importantes foram determinados. No entanto, essas pesquisas não obtiveram o mesmo sucesso que as investigações sobre algumas doenças infecciosas extra-orais^{54, 132}.

Nestes últimos anos, evidências abundantes sustentando a etiologia microbiana das doenças periodontais têm sido acumuladas. Vários patógenos periodontais e espécies potencialmente benéficas têm sido sugeridas. Embora incompleto, o entendimento aperfeiçoado da etiologia microbiana e patogênese das doenças periodontais têm guiado periodontistas a fornecer aos pacientes terapias mais adequadas, baseadas em evidências científicas. Tais investigações têm revelado que a maioria das formas da doença são tratadas previsivelmente pela terapia

periodontal convencional e, que a saúde periodontal, pode ser mantida por um longo período de tempo com programas de manutenção adequados ^{14, 54}.

Atualmente, diversos estudos têm sido realizados visando relacionar microrganismos específicos à etiologia das diferentes doenças periodontais. Bactérias específicas estão relacionadas a fases diferentes da formação do biofilme dentário e uma grande parcela já está estabelecida como agentes causadores das doenças periodontais.

No entanto, dada a grande habilidade dos biofilmes subgingivais de armazenarem uma significativa carga bacteriana, outros microrganismos vêm sendo estudados como possíveis patógenos das doenças periodontais e, até, supostamente, como microrganismos orais residentes.

Desde meados dos anos 60, o gênero *Staphylococcus* está sendo pesquisado na cavidade oral como um possível colonizador deste ambiente.

Vários autores de estudos nessa área sugerem que os estafilococos podem ser isolados frequentemente da cavidade oral, em particular de grupos de pacientes tais como crianças ⁷⁴, idosos ³ e alguns grupos com doenças sistêmicas ⁴⁹ como doentes terminais, indivíduos com artrite reumatóide e pacientes com doenças hematológicas malignas. A cavidade oral pode representar um ambiente pobremente reconhecido de reservatório de estafilococos, alguns dos quais podem, sob condições apropriadas, causar infecções locais ou sistêmicas ¹¹³.

Além disso, os estafilococos assim como outros microrganismos ditos não residentes da cavidade oral como bacilos entéricos, pseudomonas e fungos, podem causar uma variedade de infecções orais em pacientes cuja resistência está diminuída ou que são expostos a terapias prolongadas com antimicrobianos ^{16, 110}.

Na cavidade oral, os estafilococos, principalmente os *S. aureus*, têm sido associados com infecções dento-alveolares agudas ⁶¹, cistos de mandíbula infectados ⁴¹, abscessos endodônticos ¹²⁸, parotidite supurativa aguda ³⁰, lesões de mucosa oral ⁶ e estomatite induzida por dentadura ¹²⁶. Em termos de habitat, a colonização estafilocócica tem sido demonstrada na língua, superfícies mucosas, dentaduras removíveis, implantes dentários endósseos, superfícies dentárias supragengivais e bolsas periodontais ¹¹³.

As bolsas periodontais proporcionam um sítio onde a aderência de bactérias não específicas pode ocorrer, sendo estas retidas na cavidade oral em íntima proximidade à corrente sanguínea.

Na periodontite, a média da área de superfície dento-gengival pode ser de 8-20 cm², comparado com 5 cm² em pessoas periodontalmente saudáveis. Além disso, a micro-ulceração do epitélio sulcular e de revestimento da bolsa facilitam a bacteremia e difusão sistêmica de produtos bacterianos e imunocomplexos. Embora não esteja claro se há uma relação causal entre a presença de estafilococos e a doença periodontal crônica, estes têm sido isolados de sítios subgengivais de pacientes com periodontite. Entretanto, poucas amostras de biofilme subgengival têm sido coletadas de sítios não doentes e, conseqüentemente, não tem sido possível determinar se o isolamento de estafilococos dá-se por causa do estado de doença dos tecidos ou se os estafilococos são microrganismos característicos dos sítios subgengivais ⁷⁶.

Dadas tantas evidências da prevalência de estafilococos no meio ambiente oral na literatura, este trabalho propôs buscar a ocorrência de estafilococos na doença periodontal e em ambientes saudáveis e, a partir dos resultados, estabelecer uma possível relação entre tais microrganismos e a doença. Para tanto, iniciou-se o trabalho com um estudo piloto, uma vez que no mesmo puderam-se testar todos os instrumentos selecionados para pesquisa e averiguar prováveis falhas com relação ao momento de coleta, semeadura e identificação das amostras.

Trinta indivíduos foram arrolados para a pesquisa. A seleção dos mesmos quanto ao sexo, à presença ou não de doença de base, o tipo de doença de base, o uso ou não de fumo e a alergia foi aleatória, de forma que os números absolutos para cada variável são totalmente diversificados. O ideal seria a composição de grupos distintos e similares em número para cada variável, caso se desejasse verificar a hipótese da associação entre cada uma delas e a presença de estafilococos em ambientes periodontais.

No que se refere ao sexo dos indivíduos, a análise descritiva revela que aproximadamente dois terços corresponderam ao sexo feminino.

Com relação à presença ou não de doença de base e tipo de doença, pouco mais de 15% destes apresentava alguma doença, sendo a hipertensão arterial a mais prevalente. Houve uma baixa ocorrência de indivíduos com distúrbios sistêmicos neste estudo, como mostra a tabela 1. No entanto, vê-se na literatura o relato de alguns autores sobre as diferenças de isolamento de determinados microrganismos, assim como de estafilococos ¹⁰¹ quando o indivíduo apresenta um distúrbio sistêmico, principalmente em se tratando do diabetes mellitus.

Do mesmo modo, para o uso do fumo, a população foi classificada como não-fumante, uma vez que somente 1 indivíduo fazia uso do mesmo (tabela 1). Muitos estudos afirmam que os fumantes possuem um maior número de espécies microbianas associadas com a periodontite, incluindo *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*¹³⁵, *Prevotella intermedia*, *P. micros*, *F. nucleatum*, *C. rectus*¹³⁰, *S. aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*⁵⁰ do que os não-fumantes. Os fumantes podem ter uma proporção mais elevada de locais com esses patógenos putativos, em particular as faces palatinas dos dentes superiores e as regiões de incisivos superior e inferior^{33, 34}. Porém, este fato não pôde ser evidenciado na pesquisa dado à pequena amostra de fumantes.

Os indivíduos participantes deste estudo foram selecionados intencionalmente quando buscaram tratamento na clínica de Periodontia da UFRN, tendo os parâmetros clínicos periodontais (Profundidade de sondagem, Recessão gengival e Nível de inserção) registrados. Após avaliação dos dados, o diagnóstico clínico de cada indivíduo foi realizado classificando-o desde um indivíduo saudável, até apresentando quadros de periodontite crônica severa. Os resultados mostraram que 93,3% dos participantes apresentavam alguma forma de doença periodontal (tabela 1) e, apenas 2 indivíduos tinham o periodonto saudável integralmente. Isso revela que a população estudada foi considerada portadora de doença periodontal, perfazendo desde os quadros mais brandos (gengivite crônica) até os quadros mais graves (periodontite crônica severa generalizada) das doenças.

No tocante à idade, verificou-se que a população foi composta de indivíduos adultos, em geral, jovens, com pelo menos 75% possuindo 27 anos ou mais (tabela 2), o que contribui para a manutenção de uma microbiota oral mais estável. Outros estudos como o de Dahlén¹⁶ incluíram indivíduos com idade variando de < 19 a > 70 anos, porém a maior parcela da população tinha entre 30 e 59 anos. No presente trabalho, o cuidado em relação à idade foi tomado na seleção dos indivíduos, porque a maioria dos estudos mostra uma tendência de isolamento de alguns patógenos, principalmente, dos oportunistas, nos dois extremos da vida, ou seja, em crianças e idosos. Vários fatores podem contribuir para esse maior índice de isolamento nestes indivíduos. A susceptibilidade apresentada pelos idosos em relação ao fato de microrganismos oportunistas colonizarem a cavidade oral, é decorrente da fragilidade imunológica, o mesmo ocorrendo para as crianças^{16, 110, 121}.

Outros fatores como a higiene oral inadequada nos idosos e crianças resulta na formação do biofilme dentário contendo patógenos oportunistas. Como microrganismos que habitam biofilmes formam comunidades e são resistentes a agentes antimicrobianos, eles podem causar infecções crônicas e persistentes. Saltzman e Peterson ⁹⁸ relataram que mudanças na microbiota oral ocorrem em indivíduos com mais de 70 anos, principalmente, associada às infecções oportunistas com a diminuição da função imune.

Em relação ao nível sanguíneo de açúcar (em mg/dL), observou-se que os valores encontravam-se um pouco acima dos padrões considerados de normalidade (70 a 100 mg/dL). No entanto, apenas 24,1% das glicemias foram tomadas em jejum, o que eleva a concentração sanguínea de açúcar (tabela 2), sem, portanto, alterar os resultados no tocante ao isolamento dos microrganismos estudados.

No que se refere aos índices de sangramento gengival geral e dos dentes coletados dos indivíduos, houve uma homogeneidade nos resultados (tabela 2), traduzindo a presença de inflamação gengival e, conseqüentemente, doença periodontal, de acordo com o percentual considerado pela literatura para um ambiente periodontal doente e o índice gengival avaliado no estudo ⁵⁷. Para Murdoch ⁷⁶, o índice de sangramento gengival deve estar acima ou igual a 30% para se considerar a presença de doença periodontal no indivíduo. Fazendo uma leitura mais refinada, podem-se detectar índices mais elevados, correspondentes aos quadros mais graves da doença. Do mesmo modo, os parâmetros clínicos (profundidade de sondagem, recessão gengival e nível de inserção) apresentaram medianas compatíveis com valores correspondentes tanto ao estado de saúde dos tecidos periodontais quanto ao estado de doença (tabela 2).

Considerando os elementos dentários e sítios periodontais, foram analisadas a presença ou ausência de mobilidade dentária, de sangramento gengival no sítio periodontal e a condição periodontal do mesmo. Como demonstrado nos resultados, apenas 13,3% dos dentes apresentaram algum grau de mobilidade (tabela 3), revelando que a maioria dos dentes selecionados para a coleta apresentava uma doença periodontal mais branda. No tocante à presença do sangramento gengival no sítio examinado, observou-se que quase 60% dos sítios apresentavam sangramento à sondagem (tabela 3). Tal fato pode acontecer tanto nos sítios com gengivite crônica quanto naqueles com periodontite crônica severa. Com relação à condição dos sítios periodontais estudados, pôde-se averiguar que mais de 50% correspondeu a sítios

saudáveis, o que permite uma melhor análise da presença de microrganismos nesta condição (tabela 3).

Para avaliar a presença de estafilococos nos sítios periodontais, amostras do biofilme subgengival de sítios saudáveis e doentes foram coletadas. Com relação à metodologia de coleta desse biofilme, várias formas são relatadas na literatura. A utilização de curetas periodontais finas, pontas morse 0-00, pontas de papel absorvente de larguras variadas e o Periopaper® são descritos para tal. Neste trabalho, para a coleta do biofilme foram usadas pontas de papel absorvente (nº 20 a 40), conforme os estudos de Dahlén¹⁶, Loberto⁶⁶ e Rams⁹¹. As mesmas foram introduzidas no sulco ou bolsa periodontal de forma delicada, por tempo determinado (30 s), sem produção de trauma gengival, o que poderia interferir nos resultados. Murdoch e colaboradores⁷⁶ afirmam que as técnicas de coleta de amostras subgengivais com curetas e pontas de papel têm a desvantagem de causar trauma gengival e sangramento.

Ao contrário de outros autores⁷⁶ que recomendam o uso do Periopaper®, o uso da ponta de papel absorvente mostrou-se totalmente viável e reprodutível. Tem sido demonstrado que a coleta de amostras usando tiras de Periopaper® cria distúrbios insignificantes para os vasos sanguíneos durante o primeiro minuto de coleta da amostra.

Uma vez obtidas as amostras de biofilme subgengival com as pontas de papel absorvente, a análise da prevalência de *Staphylococcus* spp. no biofilme subgengival dos indivíduos participantes foi realizada. Os resultados mostraram que 86,7% (n=26) dos mesmos albergavam este microrganismo nos sítios periodontais examinados, conforme mostra a figura 3. Slots e colaboradores¹¹⁰ isolaram estafilococos em 28,3% de indivíduos com periodontite crônica refratária. Da mesma forma, Loberto e colaboradores⁶⁶ isolaram 37,5% (n=33) de estafilococos no biofilme subgengival de indivíduos com periodontite crônica.

Com um percentual um pouco mais elevado, Murdoch e colaboradores⁷⁶ isolaram 54% de estafilococos dos sítios subgengivais doentes e 43% dos sítios sadios de um total de 50% de pacientes com periodontite. De 54% dos pacientes sem doença periodontal, foram isolados 29% de estafilococos subgengivais. Diante desses dados, pôde-se observar que os resultados são bastante discrepantes. Uma das razões para tal, seria a condição periodontal do sítio que se obteve a amostra de biofilme. No presente trabalho, observou-se que quanto mais grave o quadro de doença periodontal instalado, menor foi isolamento de estafilococos naquele ambiente, tendo em

vista que foram isolados apenas 6,75% de estafilococos de sítios que exibiam periodontite crônica moderada e de nenhum sítio com periodontite crônica severa (figura 5).

Dentro dessa perspectiva, Rams e colaboradores ⁹¹ analisaram a prevalência de estafilococos em grupos de indivíduos exibindo diferentes condições clínicas de doença periodontal. No entanto, todos os grupos de pacientes tinham sofrido tratamento periodontal convencional e terapia antibiótica antes da pesquisa. Foram isolados estafilococos de 50,4% dos indivíduos com periodontite crônica avançada. Destes, 45,8% correspondiam a *S. epidermidis* e 22,3% a *S. aureus*. Dos pacientes com gengivite crônica verificaram 50% de estafilococos, 45,4% nos pacientes com periodontite de acometimento precoce, 30,8% em periodontite juvenil localizada e 69,2% de estafilococos nos pacientes com implantes dentários.

No mesmo ano, Rams e colaboradores ⁹² analisaram a ocorrência subgengival de estafilococos, bacilos entéricos e fungos após terapia sistêmica com doxiciclina. Do total de 21 pacientes, 11 (52,4%) albergavam estafilococos subgengivais.

Helovuo e colaboradores ³⁶ analisaram as mudanças na prevalência de estafilococos, bacilos entéricos e fungos após tratamento com penicilina e eritromicina. Um total de 72 pacientes com evidência radiográfica e clínica de periodontite foi estudado. Os resultados mostraram que os *S. aureus* não foram isolados de qualquer dos 3 grupos (grupo sob tratamento com penicilina, grupo sob tratamento com eritromicina e grupo controle) antes do tratamento antibiótico. A prevalência dessas bactérias aumentou significativamente após o tratamento com penicilina. Os estafilococos coagulase-negativos foram isolados de todos os 3 grupos.

Ao se identificar às amostras, os resultados mostraram que no presente estudo todas pertenceram ao grupo *Staphylococcus* coagulase-negativos. Nenhuma amostra foi identificada como *Staphylococcus aureus*. Outros estudos obtiveram um maior percentual de isolamento de amostras de *S. epidermidis*, sendo os *S. aureus* a segunda espécie mais comumente isolada ^{16, 66, 76, 81, 91}.

Dahlén e colaboradores ¹⁶ encontraram um percentual de 54,4% de *Staphylococcus epidermidis*, enquanto o *Staphylococcus aureus* foi isolado de somente 8,2% dos indivíduos. Já Loberto e colaboradores ⁶⁶ isolaram 15,9% de *S. epidermidis* e 4,55% de *S. aureus* do biofilme subgengival.

No estudo de Murdoch e colaboradores ⁷⁶ foram isolados 64,3% de *S. epidermidis* dos indivíduos portadores de periodontite crônica e 42,9% dos indivíduos saudáveis. Os *S. aureus* foram isolados de 7,1% dos pacientes com periodontite crônica e de 3,6% dos saudáveis.

Diante dos resultados, está clara a pequena taxa de isolamento de *Staphylococcus aureus* entre os autores. Em estudos mais antigos que analisaram a presença de estafilococos em indivíduos com periodontite, o *S. aureus* foi isolado em baixíssimas proporções ou não isolado da microbiota subgengival ^{28, 75, 101, 116}.

Destaca-se ainda a esse respeito que a maioria dos estudos buscava este microrganismo em vários ambientes da cavidade oral num mesmo momento de coleta, sugerindo uma provável contaminação cruzada. Os ambientes variavam desde as diferentes formas de doença periodontal, à busca na saliva, no assoalho bucal e nas narinas. Os maiores percentuais de isolamento de *S. aureus* foram isolados dos demais ambientes que não o biofilme subgengival. Isto corrobora os resultados do presente estudo que não isolou nenhuma amostra de *S. aureus* do biofilme dentário subgengival.

Tem sido mostrado que amostras orais de estafilococos produzem vários fatores de virulência *in vitro* como a elastase, proteases e desoxiribonucleases ^{71, 81, 90}. Portanto, a ocorrência de *S. epidermidis* nas bolsas periodontais poderia resultar em processos mais severos.

É relatado ainda na literatura ⁷⁷ que o *S. epidermidis* isolado do biofilme dentário pode exibir efeito inibitório sobre o crescimento de *S. aureus* e algumas cepas de *Streptococcus* orais, através da produção de bacteriocinas. As bacteriocinas são peptídeos ou proteínas com atividade antimicrobiana que podem variar em seus mecanismos e espectro de ação contra outras bactérias ⁴⁴. Estas proteínas também são usadas na prevenção de doenças infecciosas bacterianas em humanos, animais e plantas ⁵⁹.

Uma outra abordagem realizada no presente trabalho foi a análise dos 540 sítios periodontais, onde se buscou a presença de *Staphylococcus* spp.. Sob esta ótica, um percentual muito menor (11,7%) foi encontrado, em termos de presença de ECN, revelando sua baixa ocorrência nos sítios examinados (figura 4). Todos os estudos que avaliaram a presença deste microrganismo no biofilme subgengival fizeram a coleta em, no máximo, três sítios periodontais por paciente, enquanto, este trabalho coletou de 18 sítios por paciente.

Buscando caracterizar tal prevalência, cada sítio periodontal foi classificado de acordo com as condições clínicas do periodonto. Isto permitiu uma análise da presença dos estafilococos nos diferentes ambientes periodontais, a partir dos considerados sítios saudáveis e doentes.

Diante dos resultados observou-se que não houve diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes (saudável, gengivite crônica, periodontite crônica leve, periodontite crônica moderada e periodontite crônica severa) conforme figura 5. No entanto, há uma tendência a uma menor taxa de isolamento de *Staphylococcus* coagulase-negativos nos quadros mais graves de doença periodontal, o que pode ter sido tanto pelo número reduzido de sítios com condições mais graves, como também, pelas características dos ambientes estudados.

Considerando esta última hipótese, sabe-se que a maioria das espécies de *Staphylococcus* são bactérias anaeróbias facultativas que colonizam superfícies e ambientes preferencialmente aeróbios. O biofilme dentário proporciona um ambiente de proteção aos microrganismos colonizadores e permite propriedades metabólicas que não seriam possíveis se as espécies existissem em um estado livre ¹¹⁹. Ao nos reportar sobre o meio ambiente oral, mais especificamente, sobre os sítios periodontais estudados, sabe-se que os microrganismos que predominam nos sítios periodontais saudáveis e com gengivite crônica são anaeróbios facultativos como os *Actinomyces* e os *Streptococcus*, enquanto os microrganismos que colonizam sítios com periodontite crônica não dependem do oxigênio para sobrevivência, ou seja, são, em geral, anaeróbios gram-negativos e móveis. Este fato reforça a assertiva de que o menor isolamento dos estafilococos nos sítios com doença periodontal mais grave se deve à característica do micro-ambiente periodontal, de tal modo que seleciona a colonização por estas bactérias.

Além de verificar as condições periodontais dos sítios estudados, o tipo de sítio periodontal dos quais os estafilococos foram isolados também foi analisado. Um maior isolamento de ECN foi observado no sítio mesio-lingual e uma menor ocorrência no sítio vestibular, muito embora tal diferença não tenha sido significativa (figura 6). Provavelmente, este resultado sugere que exista uma maior facilidade de limpeza na região vestibular do que na mesio-lingual por parte dos pacientes. Este fato pode dificultar o acúmulo e amadurecimento do biofilme subgengival, resultando num menor isolamento de estafilococos.

Em relação ao isolamento de ECN, a associação deste com determinadas características individuais, ambientais e próprios das doenças estudadas, pode ser observado, na tabela 4.

Em se tratando do sexo dos participantes e a presença de ECN, no presente estudo houve uma predominância de isolamento no sexo masculino (13,1%). Loberto e colaboradores⁶⁶ analisaram a relação do sexo com o isolamento de estafilococos e observaram que a prevalência de *Staphylococcus* spp. na cavidade oral dos homens foi significativamente maior em relação às mulheres ($p=0,04$). No entanto, quando avaliaram a mesma prevalência no biofilme subgengival, encontraram que não houve associação estatisticamente significativa ($p=0,95$). No estudo de Dahlén e colaboradores¹⁶ houve uma predominância do sexo feminino em todos os grupos (pacientes não tratados, tratados com raspagem e aplainamento corono-radicular + orientação de higiene oral, raspagem corono-radicular + cirurgia, raspagem corono-radicular + antibióticos e sem informação), no entanto, não houve associação significativa entre a presença de estafilococos e o sexo. Da mesma forma, no estudo de Slots e colaboradores⁶⁸ o sexo feminino predominou perfazendo um total de 47,3% dos indivíduos.

Ainda em relação às variáveis categóricas e o isolamento de ECN, verifica-se na tabela 4 que não houve associação entre as demais (doença periodontal, doença de base, uso de fumo, alergia, severidade da doença periodontal, mobilidade dentária e sangramento gengival no sitio) e a presença de estafilococos. Isso provavelmente se deve a falta de homogeneidade na composição das categorias das variáveis, o que pode ter prejudicado a comparação entre elas pelo fato dos valores correspondentes terem sido muito baixos em uma das categorias, sem expressão estatística. Mesmo admitindo tal fato, ainda assim, pode-se sugerir que essas variáveis não sejam determinantes da ocorrência de ECN no biofilme subgengival dos sítios estudados.

No que se referem às variáveis idade, quantidade de açúcar no sangue (mg/dL), índice de sangramento gengival geral, índice de sangramento gengival dos dentes coletados, profundidade de sondagem, recessão gengival e nível de inserção e o isolamento de ECN, como mostra a tabela 5, não houve diferenças entre as medianas dessas variáveis nos casos em que os ECN foram isolados e naqueles em que isso não ocorreu.

Com relação à idade dos indivíduos arrolados, foi discutido anteriormente o cuidado em selecionar apenas indivíduos adultos. Na tabela 5 pode-se ver claramente que não houve diferença na idade dos indivíduos em que os estafilococos foram isolados ou não. No estudo de

Loberto e colaboradores ⁶⁶, a média da idade dos participantes foi de 40,95 anos. Neste estudo, foi realizada uma análise por faixa etária no intuito de detectar diferenças no isolamento de estafilococos. Eles observaram que não houve associação estatisticamente significativa entre as faixas etárias e um maior ou menor isolamento desses microrganismos.

Do mesmo modo, Dahlén e colaboradores ¹⁶ verificaram que não houve relação da presença de estafilococos nas amostras subgengivais e a idade.

No que se refere ao Diabetes mellitus, sua relação com infecções bacterianas é muito controversa em ambos os campos da Medicina e Odontologia. Cohen e colaboradores ¹³ afirmam ser a periodontite em diabéticos mais severa que em pacientes não-diabéticos. Com relação aos estafilococos, Farrer e Macleod ²⁴, numa ampla busca de infecções estafilocócicas adquiridas no meio ambiente hospitalar, encontraram uma maior incidência de infecções em pacientes admitidos com diabetes mellitus. Smith, O'Connor e Willis ¹¹² relataram que diabéticos tratados com insulina carregavam *S. aureus* nas narinas anteriores mais frequentemente que os não diabéticos.

Massler ⁷³ estudando a microbiota oral em diabéticos e não-diabéticos encontrou um aumento significativo na incidência de *S. aureus* em diabéticos. Da mesma forma, Sanchez-Cordero ¹⁰¹ mostraram uma diferença significativa nos níveis de estafilococos do biofilme subgengival na população diabética quando comparado à população não-diabética. Em contrapartida, o mesmo não isolou *S. aureus* da população estudada. Houve uma predominância de *S. epidermidis* nos sujeitos diabéticos. Como dito em outro momento desta discussão, no presente trabalho também não foi isolado *S. aureus*, o que permite várias justificativas. A mais simples delas seria uma possível contaminação no momento da coleta realizada por Massler ⁷³, tendo em vista que nesta data não havia a importância que há hoje quanto à contaminação cruzada.

No presente trabalho, também não houve diferenças estatisticamente significativas entre a quantidade de glicose sanguínea dos indivíduos e o isolamento ou não de ECN, nem naqueles portadores de diabetes mellitus. Pelo contrário, dos dois indivíduos que não foram isoladas amostras de ECN, um deles era diabético. Torna-se, portanto, questionável e sujeita a estudos confirmatórios essa “susceptibilidade” dos indivíduos diabéticos em albergarem estafilococos mais facilmente que os não diabéticos.

Já para os índices de sangramento gengival geral e dos dentes coletados dos indivíduos, houve uma distribuição balanceada entre as medianas destes nos sítios em que houve o isolamento de ECN e naqueles onde estas bactérias não foram isoladas. Apesar da inexistência da utilização dessa variável nos estudos analisados, acredita-se não ser o sangramento gengival um determinante no isolamento de ECN em amostras do biofilme subgengival. Da mesma forma, pode-se verificar que os parâmetros clínicos (profundidade de sondagem, recessão gengival e nível de inserção) não apresentaram diferença nos seus valores para aqueles sítios onde os ECN foram isolados ou não.

De todos os estudos que avaliaram o isolamento de estafilococos em amostras subgengivais, somente o trabalho de Loberto e colaboradores ⁶⁶ questionam a associação da profundidade de sondagem com o isolamento de ECN. No presente trabalho, não houve associação entre a profundidade da bolsa ou sulco gengival e o isolamento de ECN. Loberto e colaboradores ⁶⁶ isolaram baixas proporções de *S. epidermidis* nas profundidades de 5 a 6 mm (15,15%), 7 a 8 mm (17,07%) e 9 a 10 mm (14, 29%). Já os *S. aureus* foram isolados em menores proporções nas seguintes profundidades: 5 a 6 mm (6,06%), 7 a 8 mm (0%) e 9 a 10 mm (14, 29%).

Uma outra questão a ser respondida neste estudo foi à relação dos níveis de infecção por ECN isolados dos sítios periodontais e as variáveis do estudo que determinam as características individuais, ambientais e próprias das doenças estudadas (tabela 6 e 7).

Poucos estudos relatam os números de UFC/mL de estafilococos em pacientes comprometidos periodontalmente e saudáveis, o que torna uma comparação entre os diferentes estudos difícil. Além disso, poucos estudos longitudinais têm sido realizados, o que não nos permite afirmar que os estafilococos podem ser membros transitórios da microbiota oral.

No presente estudo, nenhuma das variáveis estudadas, sejam aquelas correspondentes às características individuais, ambientais e próprias das doenças teve associação com os níveis de infecção por estafilococos coagulase-negativos, não sendo, portanto, tais variáveis determinantes de isolamento de um maior número de estafilococos nos sítios periodontais. Nos parece lícito afirmar que uma maior ou menor quantidade de estafilococos nos sítios se deva a características ambientais de cada sítio, permitindo assim uma maior colonização de um em detrimento a outros.

Para ressaltar tal fato, observou-se neste estudo que 5,5% (n=30) de sítios possuíam mais de 10 UFCs de ECN. Destes, 17 (56,6%) eram saudáveis, 8 (26,6%) com gengivite crônica, 4

(13,3%) com periodontite crônica leve e 1 (3,3%) com periodontite crônica moderada (tabela 6). Vale salientar que a mediana de UFCs de ECN foi de 40 ou menos UFCs considerando o fato como uma baixa taxa de isolamento de ECN nos ambientes periodontais.

Rams e colaboradores ⁹¹ isolaram *Staphylococcus* subgingivais de 11 pacientes antes da terapia com doxiciclina sistêmica (média = $1,4 \times 10^3$ organismos /mL) em 5 deles e, 6 pacientes inicialmente cultura – negativa para estafilococos exibiram a média de $3,6 \times 10^3$ /ml de *Staphylococcus* subgingivais após terapias com doxiciclina.

Murdoch e colaboradores ⁷⁶ afirmaram que seria interessante comparar o número de UFC/mL de estafilococos em relação ao número total de UFC/mL das bactérias encontradas, para obter uma estimativa da proporção de estafilococos no total da população bacteriana subgingival.

A outra vertente a ser avaliada no presente estudo foi o perfil de susceptibilidade antimicrobiana das cepas de ECN isoladas do biofilme subgingival.

Os *Staphylococcus* coagulase-negativos são considerados patógenos importantes, principalmente por estarem envolvidos em infecções nosocomiais relacionadas ao uso de dispositivos médicos implantados, como por exemplo, cateteres e próteses ^{1, 78}.

Cerca de 80 a 90% das cepas de ECN isoladas de infecções hospitalares são resistentes à meticilina. Embora essa taxa diminua para 30 a 40% em carreadores saudáveis, esse percentual ainda é considerado bastante elevado ^{1, 108}. Contudo, dados sobre a susceptibilidade de cepas de estafilococos isolados do ambiente oral são bastante escassos.

A resistência à meticilina é frequentemente acompanhada de múltipla resistência a drogas. Esse fenômeno é devido a aquisição de ilhas genéticas carreadoras de vários determinantes de resistência, além do gene que codifica para a resistência à meticilina.

Nesse estudo, 5,4% (n=4) dos estafilococos isolados foram resistentes à meticilina. As amostras isoladas pertenciam a sítios periodontais saudáveis (n=1), com gengivite crônica (n=1), com periodontite crônica leve (n=1) e uma com periodontite crônica moderada (n=1). No estudo de Murdoch e colaboradores ⁷⁶, 3% dos estafilococos orais isolados foram resistentes a essa droga. Embora não tenhamos feito a detecção genética do gene *mecA* que codifica a resistência à meticilina, os estafilococos isolados nesse estudo que apresentaram resistência para oxacilina através do antibiograma, foram submetidos a uma triagem para resistência à meticilina através do

cultivo desses microrganismos em meio contendo 25µg/mL dessa droga. Este teste é indicado pela literatura como sendo 100% compatível com os testes genéticos para a detecção do gene *mecA*, que codifica tal resistência ⁹⁴. A resistência à meticilina indica que as cepas são resistentes a todos os outros antibióticos β-lactâmicos, incluindo à amoxicilina, muito embora essa droga não tenha sido especificamente avaliada nessa pesquisa.

Quanto à penicilina, 55,4% das cepas apresentaram resistência a essa droga, um percentual um pouco abaixo do que o encontrado por Murdoch e colaboradores ⁷⁶, onde 70% dos estafilococos foram resistentes a esse antibiótico. Já Handal e colaboradores ³⁵ encontraram resistência à penicilina nas duas únicas cepas isoladas de estafilococos, de sítios com periodontite crônica resistente à terapia. No entanto, os mesmos verificaram a concentração inibitória mínima através da técnica de diluição em meio sólido ao invés do antibiograma como foi utilizado no presente trabalho. Quase que a totalidade dos estafilococos isolados atualmente são resistentes à penicilina e tal resistência é devido à produção de enzimas extracelulares denominadas de β-lactamases, as quais hidrolizam o anel β-lactâmico. Essa resistência é determinada por um gene (*blaZ*) localizado em um elemento genético móvel - “transposon”, o qual se encontra inserido em um plasmídeo ⁶⁹. É importante constar que assim como a penicilina, a amoxicilina também é sensível à ação das β-lactamases.

As β-lactamases são freqüentemente encontradas em bolsas periodontais ^{35, 131}, uma vez que também são produzidas por patógenos periodontais tal como as espécies de *Bacteroides* ⁶⁰. Portanto, é muito provável que os estafilococos orais resistentes à penicilina também sejam resistente à amoxicilina, em função da ação dessas enzimas.

Conseqüentemente, o uso profilático da amoxicilina pode não ser efetivo contra infecções estafilocócicas e, podem ainda estimular a seleção de cepas resistentes a essa droga, aumentando potencialmente a possibilidade desses microrganismos invadirem a corrente sanguínea. Isto pode ter sérias implicações para pacientes com periodontite onde, micro-ulcerações no epitélio da bolsa poderiam permitir a disseminação dos estafilococos na corrente sanguínea ³⁷.

Um outro dado relevante dessa pesquisa foi o percentual elevado de resistência (32,4%) para o macrolídeo eritromicina. Do total das 24 amostras de ECN resistentes a eritromicina, 14 (46,6%) pertenciam a indivíduos distintos, onde cada indivíduo apresentava pelo menos um sítio periodontal com uma amostra resistente à eritromicina. Vale salientar que essa droga ainda é uma

escolha para tratar de algumas infecções orais. No entanto, não se encontrou artigos disponíveis na literatura que testaram a sensibilidade da eritromicina em estafilococos isolados de sítios periodontais.

Dentre as 24 cepas de ECN resistentes a eritromicina, 2 (8,3%) delas também foram resistentes à clindamicina, sugerindo um mecanismo de resistência constitutiva (R-MLS_{BC}; Resistance-Macrolides, Lincosamides and Streptogramin B), codificada pelo gene *erm*, embora não tenhamos feito nenhuma análise genética confirmatória de tal mecanismo de resistência. Observou-se ainda que 3 (12,5%) apresentaram resistência induzida à clindamicina, uma vez que as mesmas apresentaram um achatamento do halo de inibição, quando na análise do Teste-D, demonstrando um fenótipo de resistência constitutivo induzido (Resistance-Macrolides, Lincosamides and Streptogramin B Constitutive - R-MLS_{Bi}). É importante a realização do Teste-D, uma vez que outros métodos de estudos da susceptibilidade antimicrobiana como, por exemplo, os métodos recomendados pelo o CLSI ¹² para a determinação da concentração mínima inibitória, não detectam esse tipo de resistência.

O restante das cepas foi sensível à clindamicina, revelando um fenótipo de resistência do tipo R-MB_B (Resistance Macrolides and Streptogramin B).

Incluindo as cepas que apresentaram resistência induzida, foi detectado um percentual de 9,4% de resistência à clindamicina. É um dado preocupante, uma vez que essa droga é recomendada pela a Sociedade Britânica de Quimioterapia Antimicrobiana ¹⁰⁵ e pela Associação Americana do Coração ¹⁷ para a profilaxia de pacientes submetidos a procedimentos periodontais como raspagem e aplainamento corono-radicular, principalmente àqueles alérgicos à penicilina.

Ainda com relação aos antimicrobianos, Handal e colaboradores ³⁵ testaram também a resistência das duas cepas de estafilococos à clindamicina e tetraciclina. Ambas foram sensíveis aos referidos antibióticos. No presente estudo, 12,16% das cepas foram resistentes à tetraciclina. Este dado é relevante, tendo em vista que a tetraciclina ainda é utilizada no tratamento de algumas formas de doença periodontal.

Diante de todos os aspectos abordados no presente trabalho, vê-se a necessidade da realização de mais estudos sobre a prevalência de estafilococos no meio ambiente oral e, principalmente, de estudos longitudinais, tendo em vista que não há na literatura revista artigos específicos que tratam desse mérito. Além disso, no tocante à prevalência e aos níveis de infecção

por estafilococos nos sítios periodontais examinados, observou-se uma baixa prevalência e uma tendência ao isolamento destes microrganismos nos sítios saudáveis e que apresentavam um estado de doença mais brando, acreditando-se ser pela característica do ambiente.

Com relação ao segundo aspecto principal do trabalho, acredita-se que os estafilococos não devam ser ignorados quando nas condutas de antibioticoterapia do ambiente oral, uma vez que esses microrganismos possuem uma grande plasticidade genética na obtenção de genes de resistência e o uso indiscriminado de antibióticos poderia selecionar cepas resistentes nesse ambiente. E ainda, a presença desses microrganismos pode ser fonte de genes de resistência para outras bactérias da cavidade oral.

Isso sugere uma revisão nos protocolos de profilaxia antibiótica, tendo em vista a grande utilização de β -lactâmicos e macrolídeos pelos cirurgiões-dentistas. Uma maior atenção também deve ser dada ao fato da presença de cepas de ECN resistentes à meticilina na cavidade oral, uma vez que tal resistência normalmente confere resistência a múltiplas drogas, muito embora as cepas de ECN isoladas nesse estudo, não apresentaram um perfil de multirresistência.

7. CONCLUSÕES

Diante do exposto, podemos sugerir que:

- A prevalência do gênero *Staphylococcus* nos indivíduos avaliados foi considerada elevada, enquanto nos sítios periodontais foi baixa e independente dos quadros de saúde ou doença;
- Quanto à identificação desses microrganismos, detectou-se apenas ECN nos sítios periodontais examinados e demonstrando baixa prevalência nos mesmos;
- A maioria dos sítios examinados apresentou baixos níveis de infecção por ECN independente da condição de saúde ou doença dos mesmos;
- Nesse sentido, sugere-se que os estafilococos coagulase-negativos embora estejam presentes no ambiente subgingival e, contribuam para o sinergismo patogênico nas doenças periodontais, não participam diretamente da patogênese destas doenças;
- O perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas de ECN demonstrou uma elevada resistência à penicilina e à eritromicina. Pôde-se observar ainda, uma importante resistência à tetraciclina, clindamicina e metecilina.

8. REFERÊNCIAS

- 1 Allori MCG, Jure MA, Romero C, Castillo MEC. Antimicrobial resistance and production of biofilms in clinical isolates of coagulase-negative *Staphylococcus* strains Biol Pharm Bull 2006; 29(8): 1592-1596.
- 2 Armitage GC. Development of a classification system for periodontal disease conditions. Ann Periodontol 1999; 4(1):1-6.
- 3 Bagg J, Sweeney MP, Harvey-Wood K, Wiggins A. Possible role of *Staphylococcus aureus* in severe oral mucositis among elderly dehydrated patients. Microb Ecol Health Dis 1995; 8:51-56.
- 4 Bannerman TL. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. Washington D.C. USA: ASM Press; 2003. p. 384-404.
- 5 Bayliss R, Clarke C, Oakley CM, Somerville W, Whitfield AG, Young SE. The microbiology and pathogenesis of infective endocarditis. Br Heart J 1983; 50(6):513-519.
- 6 Bergmann OJ. Oral infections and septicemia in immunocompromised patients with haematologic malignancies. J Clin Microbiol 1988; 26: 2105-2109.
- 7 Bergstrom J, Preber H. The influence of tobacco smoking on the development of experimental gingivitis. J Periodontal Res 1986; 21: 668-676.
- 8 Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. Projeto SB Brasil 2003: condições de saúde bucal da população brasileira 2002-2003: resultados principais. Brasília: Ministério da Saúde; 2004.

- 9 Brook I. Microbiology of polymicrobial abscesses and implications for therapy. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50(6):805-810.
- 10 Brown LJ, Løe H. Prevalence, extent, severity and progression of periodontal disease. In: Løe H, Brown LJ, editors. *Periodontology 2000: classification epidemiology of periodontal diseases*. Copenhagen Munksgaard 1993; p.98-116.
- 11 Chiller GL, Selkin BA, Murakawa GJ. Skin microflora and bacterial infection of the skin. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2001; 6:170-174.
- 12 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Normas de desempenho para testes de sensibilidade antimicrobiana, 15. Suplemento Informativo 2005; 25(1): 47-54. Tabela 2C.
- 13 Cohen DW, Friedman LA, Shapiro J, Kyle GC, Franklin S. Diabetes mellitus and periodontal disease. Part II. *IADR Abstracts*, 1971; 616: 206.
- 14 Colombo AP, Haffajee AD, Dewhirst FE, Paster BJ, Smith CM, Cugini MA, Socransky SS. Clinical and microbiological features of refractory periodontitis subjects. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 169-180.
- 15 Dahlén G, Linde A, Møller AJR, Ohman A. A retrospective study of microbiologic samples from oral mucosal lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982; 53: 250-255.
- 16 Dahlén G, Wikström M. Occurrence of enteric rods, *Staphylococci* and *Candida* in subgingival samples. *Oral Microbiol Immunol* 1995; 10(1):42-46.
- 17 Dajani AS, Taubert KA, Wilson W et al. Prevention of bacterial endocarditis: recommendations of the American Heart Association. *J Am Dent Assoc* 1997; 128: 1142-1151.

- 18 De Lencastre H, Figueiredo AMS, Urban K, Rahal J e Tomasz A. Multiple mechanisms of methicillin resistance and improved methods for detection in clinical isolates of *Staphylococcus Aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother* 1991; 35: 632-639.
- 19 Dibart S, Skobe Z, Snapp KR, Socransky SS, Smith CM, Kent R. Identification of bacterial species on or in crevicular epithelial cells from healthy and periodontally disease patients using DNA-DNA hybridization. *Oral Microbiol Immunol* 1998; 13(1):30-35.
- 20 Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13:16-34.
- 21 Edwardsson S, Bing M, Axtelius B, Lindberg B, Söderfeldt B, Attström R: The microbiota of periodontal pockets with different depths in therapy-resistant periodontitis. *J Clin Periodontol* 1999; 26: 143-152.
- 22 Etienne J, Fleurette J, Ninet JF, Favet P, Gruer LD. Staphylococcal endocarditis after dental extraction. *Lancet* 1986; 2: 511-512.
- 23 Ezzo PJ, Cutler CW. Microorganisms as risk indicators for periodontal disease. *Periodontology* 2000 2003; 32:24-35.
- 24 Farrer SM, Macleod CM. Staphylococcal infections in a general hospital. *Am J Hyg* 1960; 72: 38.
- 25 Fischer RIR. Pesquisa de bactérias bucais em amostras de placa subgengival de indivíduos com periodonto normal e de portadores de periodontite através da técnica do "Slot Immunoblot" [tese]. Bauru (SP): Faculdade de Odontologia de Bauru; 1993.
- 26 Genco RJ. Host responses in periodontal disease: current concepts. *J Periodontol* 1992; 63: 338-355.

- 27 Genco RJ, Ho AW, Grossi SG, Dunford RG & Tedesco LA. Relationship of stress, distress and inadequate coping behaviors to periodontal diseases. *J Periodontol* 1999; 70: 711-723.
- 28 Gibbons RJ, Socransky SS, Araújo WC, Van Houte J. Studies on the predominant cultivable microbiota of dental plaque. *Arch Oral Biol* 1964; 9: 365-370.
- 29 Gibson J, Wray D, Bagg J. Oral staphylococcal mucositis. A new clinical entity in orofacial granulomatosis and Crohn's disease. *Oral Surg Med Pathol Oral Radiol Endod* 2000; **89**: 171-176.
- 30 Goldberg NH. Infections of the salivary glands. In: Topazian RG, Goldberg NH (eds) *Management of infections of the oral and maxillofacial regions*. Philadelphia, WB Saunders 1981: 293-311.
- 31 Götz F. *Staphylococcus* and biofilms. *Mol Microbiol* 2002; 43: 1367-1378.
- 32 Gugliucci A. Glycation as the glucose link to diabetic complications (review). *J Am Osteopath Assoc* 2000; 100(10): 621-634.
- 33 Haffajee AD, Socransky SS. Relationship of cigarette smoking to attachment level profiles. *J Clin Periodontol* 2001a; 28: 283-295.
- 34 Haffajee AD, Socransky SS. Relationship of cigarette smoking to the subgingival microbiota. *J Clin Periodontol* 2001b; 28: 377-288.
- 35 Handal T, Olsen I, Walker CB, Caugant DA. B-Lactamase production and antimicrobial susceptibility of subgingival bacteria from refractory periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 2004; 19: 303-308.

- 36 Helovuo H, Hakkarainen K, Paunio K. Changes in the prevalence of subgingival enteric rods, staphylococci and yeasts after treatment with penicillin and erythromycin. *Oral Microbiol Immunol* 1993; 8: 75-79.
- 37 Herzberg M, Meyer M. Effects of oral flora on platelets: possible consequences in cardiovascular disease. *J Periodontol* 1996; 67: 1138-1142.
- 38 Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Bergey. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th ed. Baltimore USA:Willians & Wilkins; 1994.
- 39 Homayounfar A, Bergström J, Hammarström L. Activation of human B-lymphocytes by *Prevotella intermedia*. *Swed Dent J* 1999; 23(1):11-15.
- 40 Hugoson A, Norderyd O, Slotte C, Thorstensson H. Oral hygiene and gingivitis in a Swedish adult population 1973, 1983 and 1993. *J Clin Periodontol* 1998; 25(10):807-812.
- 41 Iatrou IA, Legakis N, Ioannidou E, Patrikiou A. Anaerobic bacteria in jaw cysts. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1988; 26(1):62-69.
- 42 Irwin CR, Myrillas TT. The role of IL-6 in the pathogenesis of periodontal diseases. *Oral Dis* 1998; 4(1):43-47.
- 43 Iwase M, Slots J, Berthold P, Taichman NS. Leukocidal activity of staphylococci isolated from human periodontal lesions. *Oral Microbiol Immunol* 1990; 5: 233-236.
- 44 Jack RW, Tagg JR, Ray B. Bacteriocins of Gram-positive bacteria, *Microbiol* 1995; 59: 171-200.
- 45 Jackson MS, Bagg J, Gupta MN, Sturrock RD. Oral carriage of *Staphylococci* in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 1999; 38:572-575.

- 46 Jackson MS, Bagg J, Kennedy H, Michie J. Staphylococci in the oral flora of healthy children and those receiving treatment for malignant disease. *Microb Ecol Health Dis* 2000; 12: 60-64.
- 47 Jacobson JJ, Patel B, Asher G, Woolliscroft JO, Schaberg D. Oral *Staphylococcus* in older subjects with rheumatoid arthritis. *J Am Geriatr Soc* 1997; 45:590-593.
- 48 Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Cocos Gram-positivos: parte I: Estafilococos e microrganismos relacionados. In: Koneman EW, Allen SD, editors. *Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.p.551-578.
- 49 Jobbins J, Bagg J, Parsons K, Finlay I, Addy M, Newcombe RG. Oral carriage of yeasts, coliforms and staphylococci in patients with advanced malignant disease. *J Oral Pathol Med* 1992; 21: 305-308.
- 50 Kamma JJ, Nakou M, Baehni PC. Clinical and microbiological characteristics of smokers with early onset periodontitis. *J Periodontol Res* 1999; 34: 25-33.
- 51 Kennedy HF, Morrison D, Kaufmann ME *et al*. Origins of *Staphylococcus epidermidis* and *Streptococcus oralis* causing bacteraemia in a bone marrow transplant patient. *J Med Microbiol* 2000; **49**: 367-370.
- 52 Kim KJ, You YO, Kim ES *et al*. δ -Hemolysin like gene of *Staphylococcus lugdenensis* in acute oral infection have partial homology with δ -hemolysin gene of *Staphylococcus aureus*. *J Oral Biol* 1995; **19**: 61-65.
- 53 Kinane DF, Berglundh T, Lindhr J. Interações entre parasita e hospedeiro na doença periodontal. In: Lindhe J, Karring T, Lang NP, editors. *Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005.p.148-171.

- 54 Kinane DF, Lindhe J. Periodontite crônica. In: Lindhe J, Karring T, Lang NP, editors. Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005.p.205-210.
- 55 Kondell PA, Nord CE, Nordenram G. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from oral surgical outpatients compared to isolates from hospitalized and non-hospitalized individuals. *Int J Oral Surg* 1984; 13: 416-422.
- 56 Kralovic SM, Melin-Aldana H, Smith KK, Linnemann CC. *Staphylococcus lugdenensis* endocarditis after tooth extraction. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 715-716.
- 57 Lang NP. Commonly used indices to assess oral hygiene and gengival and periodontal health and diseases. In: Lang NP, Attström R, Løe H. Proceedings of the European workshop on mechanical plaque control: status of the art and science of dental plaque control; 1998; Chicago. Chicago: Quintessence; 1998. p.50-57.
- 58 Lascala NT, Moussalli NH. Alterações crônicas: gengivite e periodontite. In: Lascala NT, editors. Compêndio terapêutico periodontal. 2ª ed. São Paulo: Artes Médicas; 1995.p. 92-134.
- 59 Lavermicocca P, Lonigro SL, Valério F, Evidence A, Visconti A. Reduction of olive knot disease by a bacteriocin from *Pseudomonas syringae* pv. *Ciccaronei*, *Appl. Environ. Microbiol* 2002; 68: 1403-1407.
- 60 Legg JA, Wilson M. The prevalence of beta-lactamase producing bacteria in subgingival plaque and their sensitivity to Augmentin. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1990; 28: 180-184.
- 61 Lewis MAO, MacFarlane TW, McGown DA. A microbiology and clinical review of acute dentoalveolar abscess. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1990; 28: 359-366.

- 62 Lindhe J, Rylander H. Experimental gingivitis in young dogs. *Scand J Dent Res* 1975; 83: 314-326.
- 63 Lindhe J, Karring T, Lang NP. Anatomia do periodonto. In: Lindhe J, Karring T, Araújo M. *Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005.p.3-48.
- 64 Lindhe J, Karring T, Lang NP. Interações entre parasita e hospedeiro na doença periodontal. In: Lindhe J, Karring T, Araújo M. *Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005.p.148-171.
- 65 Lindhe J, Karring T, Lang NP. Periodontite crônica. In: Lindhe J, Karring T, Araújo M. *Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005.p.205-210.
- 66 Loberto JCS, Martins CAP, Santos SSF, Cortelli JR, Jorge AOC. *Staphylococcus* spp. in the oral cavity and periodontal pockets of chronic periodontitis patients. *Braz J Microbiol* 2004; 35: 64-68.
- 67 Løe H. Periodontal diseases: a brief historical perspective. *Periodontol 2000* 1993; 2:7-12.
- 68 Løe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol* 1965; 36: 177-187.
- 69 Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest.* 2003 ; 111(9):1265-73.
- 70 Maiden MF, Tanner AC, Macuch PJ, Murray L, Kent RL. Subgingival temperature and microbiota in initial periodontitis. *J Clin Periodontol* 1998; 25(10):786-793.
- 71 Males BM, Riggers WA, Parisi JT. Virulence factors of *Staphylococcus epidermidis* from clinical sources. *J Clin Microbiol* 1975; 1: 256.

- 72 Martins CAP, Koga-Ito CY, Jorge AOC. Presence of *Staphylococcus* spp. and *Candida* spp. in the human oral cavity. *Braz J Microbiol* 2002; 33:236-240.
- 73 Massler M. The oral flora in diabetes. *J Dent Res* 1949; 674: 118.
- 74 Miyake Y, Iwai M, Sugai M, Miura K, Suginaka H, Nagasaka N. Incidence and characterization of *Staphylococcus aureus* from of tongues of children. *J Dent Res* 1991; 70: 1045-1047.
- 75 Moore WE, Holdeman LV, Cato EP, Smibert RM, Burmeister JA, Palcanis KG et al. Comparative bacteriology of juvenile periodontitis. *Infect Immun* 1985; 48(2):507-519.
- 76 Murdoch FE, Sammons RL, Chapple ILC. Isolation and characterization of subgingival *Staphylococci* from periodontitis patients and controls. *Oral Dis* 2004; 10:155-162.
- 77 Nakamura T, Hirai K, Shibata Y, Fujimura S. Purification and proprieties of a bacteriocin of *Staphylococcus epidermidis* isolates from dental plaque. *Oral Microbiol Immunol* 1998; 13: 387-389.
- 78 O’Gara JP, Humphreys H. *Staphylococcus epidermidis* biofilms: importance and implications. *J. Med. Microbiol* 2001; 50: 582-587.
- 79 Öhman S-C, Dahlén G, Möller A, Öhman A. Angular cheilitis: a clinical and microbial study. *J Oral Pathol* 1986; 15: 213-217.
- 80 Opperman RV, Rösing CK. Epidemiologia das doenças periodontais. In: Osano E, Bessho M, Ogata M, editors. *Periodontia: ciência e clínica*. São Paulo: Artes Médicas, 2001.
- 81 Osano E, Bessho M, Ogata M, Tanaka T, Eguchi H, Hibi E. Occurrence and enzymatic activities of coagulase-negative staphylococci isolated from human oral cavity. *Aichi Gakuin Daigaku Shigakkai Shi* 1983; 21(4):694-701.

- 82 Page RC. Host response tests for diagnosing periodontal diseases. *J Periodontol* 1992; 63: 356-366.
- 83 Passanezi E, Sant'ana ACP, Rezende MLR, Greggi SLA. Epidemiologia da doença periodontal. In: Paiva JS, Almeida RV, editors. *Periodontia: a atuação clínica baseada em evidências científicas*. São Paulo: Artes Médicas; 2005.p.121-138.
- 84 Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA et al. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol* 2001; 183: 3770-3783.
- 85 Percival RS, Challacombe SJ, Marsh PD. Age – related microbiological changes in the salivary and plaque microflora of healthy adults. *J Med Microbiol* 1991; 35:5-11.
- 86 Peterson DE, Menah GE, Overholser CD, Suzuki JB, DePaola LG, Stansbury DM et al. Microbiology of acute periodontal infection in myelosuppressed cancer patients. *J Clin Oncol* 1987; 5(9):1461-1468.
- 87 Piper C, Körfer R, Horstkotte D. Prosthetic valve endocarditis. *Heart* 2001; 85:590-593.
- 88 Pindborg JJ. Tobacco and gingivitis. 1. Statistical examination of the significance of tobacco in the development of ulceromembranous gingivitis and in the formation of calculus. *J Dent Res* 1947; 26: 261-264.
- 89 Piochi BJA, Zelante F. Contribution to the study of *Staphylococcus* isolated from the mouth. III *Staphylococcus* isolated from the dental plaque. *Rev Fac São Paulo* 1995; p.91-98.
- 90 Quinn EL, Cox F, Fisher M. The problem of associating coagulase negative staphylococci with disease. *Ann NY Acad Sci* 1965; 128: 428.

- 91 Rams TE, Feik D, Slots J. *Staphylococci* in human periodontal diseases. *Oral Microbiol Immunol* 1990; 5:29-32.
- 92 Rams TE, Babalola OO, Slots J. Subgingival occurrence of enteric rods, yeasts and staphylococci after systemic doxycycline therapy. *Oral Microbiol Immunol* 1990; 5: 166-168.
- 93 Reader CM, Boniface M, Bujanda-Wagner S. Refractory endodontic lesion associated with *Staphylococci aureus*. *J Endod* 1994; 20(12):607-609.
- 94 Resende CA, Figueiredo AM. Discrimination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from borderline-resistant and susceptible isolates by different methods. *J Med Microbiol*. 1997 ; 46(2):145-9.
- 95 Rosenberg SW. Oral complications of câncer chemotherapy: a review of 398 patients. *J Oral Med* 1986; **41**: 93-97.
- 96 Rösing CK, Fernandes MI, Susin C, Oppermann RV. Biofilme dental e cálculo dental. In: Paiva JS, Almeida RV, editors. *Periodontia: a atuação clínica baseada em evidências científicas*. São Paulo: Artes Médicas; 2005.p.23-37.
- 97 Rossi T, Peltonen R, Laine J, Eerola E, Vuopio-Varkila J, Kotilainen P. Eradication of the long-term carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the patients wearing dentures: a follow-up of 10 patients. *J Hosp Infect* 1996; 34(4):311-320.
- 98 Saltzman RL, Peterson PK. Immunodeficiency of the elderly. *Ver Infect Dis* 1987; 9: 1127-1239.
- 99 Sampaio JEC, Leite FRM, Zandim DL, Toledo BEC. O periodonto – Anatomia e histofisiologia. In: Paiva JS, Almeida RV. *Periodontia: A atuação clínica baseada em evidências científicas*. São Paulo: Artes Médicas; 2005.p.1-21.

- 100 Samaranayake LP, MacFarlane TW, Lamey PJ, Ferguson MM. A comparison of oral rinse and imprint sampling techniques for the detection of yeast, coliform and *Staphylococcus aureus* carriage in the oral cavity. *J Oral Pathol* 1986; 15(7):386-388.
- 101 Sánchez-Cordero S, Hoffman H, Stahl SS. Occurrence of *Staphylococcus* in periodontal pockets of diabetic and nondiabetic adults. *J Periodontol* 1979; 50:109-113.
- 102 Schlegel-Bregenzler B, Persson RE, Lukeart S, Braham P, Oswald T, Persson GR. Clinical and microbiological findings in elderly subject with gingivitis or periodontitis. *J Clin Periodontol* 1998; 25(11 Pt 1):897-907.
- 103 Séguier S, Godeau G, Leborgne M, Pivert G, Brousse N. Immunohistologic and morphometric analysis of cytotoxic T lymphocytes in gingivitis. *J Periodontol* 1999; 70(11):1383-1391.
- 104 Seppala B, Ainamo J. Dark field microscopy of the subgingival microflora in insulin-dependent diabetes. *J Clin Periodontol* 1996; 23: 63-67.
- 105 Seymour RA, Lowry R, Whitworth JM, Martin MV. Infective endocarditis, dentistry and antibiotic prophylaxis; time for a rethink? *Br Dent J* 2000; 189: 610-616.
- 106 Shenker BJ, Datar S. *Fusobacterium nucleatum* inhibits human T-cell activation by arresting cells in the mid-G1 phase of the cell cycle. *Infect Immun* 1995; 63(12):4830-4836.
- 107 Shenker BJ, Vitale L, King C. Induction of human T cells that coexpress CD4 and CD8 by an immunomodulatory protein produced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Cell Immunol* 1995; 164(1):36-46.

- 108 Silva FR, Mattos EM, Coimbra MV, Ferreira-Carvalho BT, Figueiredo AM. Isolation and molecular characterization of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from nasal flora of healthy humans at three community institutions in Rio de Janeiro City. *Epidemiol Infect.* 2001;127(1):57-62.
- 109 Sloat N, Thomas M, Marre R, Gatrmann S. Purification and characterization of elastase from *S. epidermidis*. *J Med Microbiol* 1992; 37: 201-205.
- 110 Slots J, Feik D, Rams TE. Age and sex relationships of superinfecting microorganisms in periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol* 1990; 5:305-308.
- 111 Slots J. *Actinobacillus actinomycetencomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in periodontal disease: introduction. *Periodontol* 2000 1999; 20:(6)7-13.
- 112 Smith JA, O'Connor JJ, Willis AT. Nasal carriage of staphylococcus aureus in diabetes mellitus. *Lancet* 1966; 2: 776.
- 113 Smith AJ, Jackson MA, Bagg J. The ecology of *Staphylococcus* species in the oral cavity. *J Med Microbiol* 2001; 50:940-946.
- 114 Smith AJ, Brewer A, Kirkpatrick P, Jackson MS, Young J, Watson S et al. Staphylococcal species in the oral cavity from patients in a regional burns unit. *J Hosp Infect* 2003; 55(3):184-189.
- 115 Smith AJ, Robertson D, Tang MK, Jackson MS, MacKenzie D, Bragg J. *Staphylococcus aureus* in the oral cavity: a three-year retrospective analysis of clinical laboratory data. *Br Dent J* 2003; 195(12): 701-703.
- 116 Socransky SS, Haffajee AD, Dzink JL. Relationship of subgingival microbial complexes to clinical features at the sampled sites. *J Clin Periodontol* 1988; 15:440-444.

- 117 Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol* 1992; 63(4):322-331.
- 118 Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998; 25:134-144.
- 119 Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilmes: difficult therapeutic targets. *Periodontology* 2000 2002; 28:12-55.
- 120 Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol* 2000 2005; 38: 135-187.
- 121 Tada A, Senpuku H, Motozawa Y, Yoshihara A, Hanada N and Tanzawa H. Association between commensal bacteria and opportunistic pathogens in the dental plaque of elderly individuals. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 776-781.
- 122 Tanner A, Maiden MFJ, Macuch PJ, Murray LL, Kent RL. Microbiota of health, gingivitis and initial periodontitis. *J Clin Periodontol* 1998; 25(2):85-98.
- 123 Tawara Y, Honma K, Naito Y. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* on denture surfaces. *Bull Tokyo Dent Coll* 1996; 37: 119-128.
- 124 Teng YTA, Nguyen H, Hassanloo A, Ellen RP, Hoxzumi N, Gorczynski RM. Periodontal immune responses of human lymphocytes in *Actinobacillus actinomycetemcomitans* inoculated NOD/SCID mice engrafted with peripheral blood leukocytes of periodontitis patients. *J Periodont Res* 1999; 34(1):54-61.
- 125 Theilade E, Fejerskov O, Karring T, Theilade J. Predominant cultivable microflora of human dental fissure plaque. *Infect Immun* 1982; 36: 977-982.

- 126 Theilade E, Burdtz-Jorgensen E. Predominant cultivable microflora of plaque on removable dentures in patients with denture induced stomatitis. *Oral Microbiol Immunol* 1988; 3: 8-13.
- 127 Tonetti MS. Etiology and pathogenesis. In: *Proceedings of the 1st European Workshop on Periodontology*, eds. Lang N & Karring T, p.54-59. London: Quintessence Publishing Co.
- 128 Tronstad L, Barnett F, Riso K, Slots J. Extraradicular endodontic infections. *Endod Dent Traumatol* 1987; 3: 86-90.
- 129 Van Der Weijden GA, Timmerman MF, Danser MM, Nijboer A, Saxton CA, Van der Verden U. Effect of pre-experimental maintenance care duration on the development of gingivitis in a partial mouth experimental gingivitis model. *J Periodontol Researh* 1994; 29(3):168-173.
- 130 Van Winkelhoff AJ, Bosch-Tijhof CJ, Winkel EG, Van der Reijden WA. Smoking affects the subgingival microflora in periodontitis. *J Periodontol* 2001; 72: 666-671.
- 131 Walker CB, Tyler KT, Low SB. Penicillin-degrading enzymes in sites associated with adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1987; 2: 129-131.
- 132 Williams BL, Pantalone RM, Sherris JC. Subgingival microflora and periodontitis. *J Periodont Res* 1976; 11:1-18.
- 133 Willians RC. Doença Periodontal: o surgimento de um novo paradigma. In: *Aspectos periodontais e saúde sistêmica – Simpósio Internacional de Medicina Periodontal*. Colgate-Palmolive Co. 1998. p.1-10.

- 134 Yamaguchi T, Nishifuji K, Sasaki M, Fudaba Y, Aepfelbacher M, Takata T et al. Identification of the *Staphylococcus aureus* etd pathogenicity island which encodes a novel exfoliative toxin, EDT, and EDINB. Infect Immun 2002; 70:5835-5845.
- 135 Zambon JJ, Grossi SG, Machtei EE, Ho AW, Dunford R, Genco RJ. Cigarette smoking increases the risk for subgingival infection with periodontal pathogens. J Periodontol 1996; 67: 1050-1054.



ANEXO A
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA – PERIODONTIA

FICHA CLÍNICA – DADOS PESSOAIS E ANAMNESE

NOME: _____
IDADE: _____ ESTADO CIVIL: _____
COR: _____ PROFISSÃO: _____
ENDEREÇO: _____
BAIRRO: _____ CEP: _____
IDENTIDADE: _____ CPF: _____

1. ESTATUS PERIODONTAL:

- () GENGIVA SAUDÁVEL - SÍTIOS: _____
() GENGIVITE - SÍTIOS: _____
() PERIODONTITE CRÔNICA - SÍTIOS: _____
() PERIODONTITE SEVERA - SÍTIOS: _____

2. ESTATUS SISTÊMICO:

- () SAUDÁVEL – SEM COMPROMETIMENTO SISTÊMICO
() PORTADOR DE DIABETES MELLITUS
() OUTROS _____

3. ALERGIAS:

- () PACIENTE ALÉRGICO A QUE? _____
() PACIENTE NÃO ALÉRGICO

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)