

EDSON YUKIO KOMIYAMA

**PREVALÊNCIA E SUSCETIBILIDADE AOS ANTIBIÓTICOS DE
Enterococcus spp. ISOLADOS DA CAVIDADE BUCAL HUMANA**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, Área Biopatologia Bucal.

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

EDSON YUKIO KOMIYAMA

**PREVALÊNCIA E SUSCETIBILIDADE AOS ANTIBIÓTICOS DE
Enterococcus spp. ISOLADOS DA CAVIDADE BUCAL HUMANA**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, Área Biopatologia Bucal.

Orientadora: Prof^a. Adjunta Cristiane Yumi Koga-Ito

SÃO JOSÉ DOS CAMPOS

2008

Apresentação gráfica e normalização de acordo com:
Bellini AB. Manual para elaboração de monografias: estrutura do trabalho científico. São José dos Campos: FOSJC/UNESP; 2006.

K836p Komiyama, Edson Yukio.
Prevalência e suscetibilidade de *Enterococcus* spp. isoladas da cavidade bucal humana / Edson Yukio Komiyama. __ São José dos Campos : [s.n.]; 2008
91.f. : il.

Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal) – Faculdade de Odontologia de São Jose dos Campos, Universidade Estadual Paulista, 2008.

Orientador: Prof. Adj Cristiane Yumi Koga Ito

1. *Enterococcus*. 2. Prevalência. I. Koga-Ito, Cristiane Yumi. II. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Odontologia de São José dos Campos. III. Título

tD24

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP

AUTORIZAÇÃO

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, desde que citada a fonte.

São José dos Campos, 12 de Setembro de 2008 .

Assinatura :

E-mail: edsonkomiyama@yahoo.com.br

FOLHA DE APROVAÇÃO

Komiyama EY. Prevalência e suscetibilidade aos antibióticos de *Enterococcus* spp. isolados da cavidade bucal humana [dissertação]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP; 2008.

São José dos Campos, 21 de julho de 2008.

Banca examinadora

1 - Profa. Adj. Cristiane Yumi Koga-Ito
Faculdade de Odontologia de São José dos Campos
Universidade Estadual Paulista – UNESP

2 - Prof. Tit. Antonio Olavo Cardoso Jorge
Faculdade de Odontologia de São José dos Campos
Universidade Estadual Paulista – UNESP

3 – Profa. Dra. Celia Regina Golçalves e Silva
Instituto Básico de Biociências
Universidade de Taubaté - UNITAU

DEDICATÓRIA

A minha família, alicerce da minha Vida.

Aos pacientes, objetivo maior de toda atividade científica.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À Deus, meu guia, e fonte de toda a Vida.

Aos meus pais, Mario Tadatero Komiyama e Helena Emico Miyasaki Komiyama pelo apoio e incentivo dado aos meus estudos. Minha eterna gratidão por todo esforço, garra, ensinamento e educação. Não existem palavras para expressar meus agradecimentos a vocês!

Aos meus irmãos, Wellington Akira Komiyama e Claudia Marie Komiyama que sempre estiveram ao meu lado me apoiando e incentivando, Muito Obrigado!

À minha orientadora, Professora Adjunta Cristiane Yumi Koga Ito, que desde a iniciação científica me acolheu de abraços abertos, transmitindo não somente seu conhecimento científico, mas seu caráter, amizade e carinho com seus alunos, proporcionando um grande aprendizado. Serei sempre grato pelos ensinamentos, apoio e amizade!

Aos voluntários da Pesquisa, que de forma anônima, se propuseram a participar da pesquisa.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, na pessoa do diretor da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Prof. Assistente Dr. José Roberto Rodrigues, e do vice-diretor Prof. Assistente Dr. Carlos Augusto Pavanelli;

À Prof^a. Adj. Rosilene Fernandes da Rocha, vice-coordenadora do Programa de Pós-graduação em Biopatologia Bucal, Área de Biopatologia Bucal.

Aos Professores da Disciplina de Microbiologia e Imunologia, Prof Tit. Antonio Olavo Cardoso Jorge e Prof^a. Assistente Dr^a. Juliana Campos Junqueira.

Ao pessoal técnico da Biblioteca Prof^a. Leila Novaes da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos.

À CAPES que me concedeu uma bolsa durante o mestrado, contribuindo para viabilização desta dissertação. Deixo aqui expressos meus agradecimentos.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo auxílio à pesquisa (Processo nº 06/59929-5).

Aos professores da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos que colaboraram no projeto deste trabalho, durante a coleta clínica dos pacientes incluídos na pesquisa.

Ao Sr. Marcos Salvador, representante da empresa

Antibióticos do Brasil Ltda – ABL, pela doação do antibiótico vancomicina, utilizado na pesquisa.

À Sr^a. Lilian Sesari, coordenadora da Casa do Idoso de São José dos Campos; às Irmãs Consolação e Fabíola e a Assistente Social Sr^a. Rosangela Nunes Vieira do Lar Frederico Osanan de Jacareí SP; Prefeitura Municipal de São José dos Campos, na pessoa da Dr^a. Marina de Fátima de Oliveira, pela possibilidade da coleta clínica na Unidade Básica de Saúde Centro II dos pacientes envolvidos na pesquisa.

Aos amigos de jornada diária no laboratório de Microbiologia: Graziella, Silvia, Patrícia, Bruno, Marta, Flávio, Rosilene, Edna, Francine, Thaís e também aos colegas de pós-graduação em Biopatologia Bucal.

Aos alunos de Iniciação Científica: Cinthia, Laura, Akemi e Felipe, pelo apoio e dedicação prestada durante a parte experimental.

Às secretárias da Pós-graduação Rosemary de Fátima Salgado, Maria Aparecida Consiglio de Souza, Erena Michie Hasegawa e Lílian Faria das Graças pela disponibilidade e atenção prestada durante o curso.

À Sra. Silvia Scapel, secretária da disciplina de Microbiologia e Imunologia

Ao Prof. Ivan Balducci, da Disciplina de Bioestatística, pela análise estatística.

Ao Sr. Carlos Guedes, pela colaboração na organização

referente ao Processo Fapesp.

Aos técnicos de laboratório Sergio e Domingos pela amizade e presteza durante esse período.

A todos os funcionários da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, que contribuíram de forma direta ou indireta para realização do trabalho.

Aos meus amigos Fernanda da Costa Moreira Santos, Bruno Mello de Matos, Ednei Delfim dos Santos, Wagner Luis Pereira, Tiago Tadashi Yokoyama. Muito obrigado pela força e apoio de cada dia!

A todos que me apoiaram e acompanharam minha jornada acadêmica, meus sinceros agradecimentos!

EPÍGRAFE

*“Há pessoas que transformam o Sol numa simples
mancha amarela, mas há também aquelas que fazem
de uma simples mancha amarela, o próprio Sol”*

(Pablo Picasso)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE QUADRO E TABELAS.....	13
RESUMO	14
1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3 PROPOSIÇÃO.....	38
4 MATERIAIS E MÉTODOS	39
4.1 Aspectos éticos.....	39
4.2 Critérios de inclusão	39
4.3 Critérios de exclusão	40
4.4 Coleta das amostras	40
4.5 Processamento das amostras.....	41
4.6 Identificação das amostras	42
4.7 Testes de suscetibilidade aos antibióticos	44
5 RESULTADOS.....	46
6 DISCUSSÃO.....	56
7 CONCLUSÕES.....	63
8 REFERÊNCIAS	64
APÊNDICES	76
ANEXO	87
ABSTRACT.....	91

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Morfologia de colônias sugestivas de <i>Enterococcus</i> spp. em ágar Enterococcosel.	42
FIGURA 2 – Kit de identificação API 20 strep (Biomérieux, França).....	43
FIGURA 3 – Distribuição das contagens, em unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/ml), observado para cada faixa etária estudada.	46
FIGURA 4 – Distribuição de identificação das amostras de <i>Enterococcus</i> spp. divididos entre as faixas etárias.	49
FIGURA 5 – Classificação em Sensível, Intermediário e Resistente de acordo com os pontos de corte do CLSI ¹⁵ (2003) para <i>Enterococcus faecalis</i>	52
FIGURA 6 – Classificação em Sensível, Intermediário e Resistente de acordo com os pontos de corte do CLSI ¹⁵ (2003) para <i>Enterococcus faecium</i>	53
FIGURA 7 – Classificação em Sensível, Intermediário e Resistente de acordo com os pontos de corte do CLSI ¹⁵ (2003) para <i>Enterococcus avium</i>	54
FIGURA 8 – Classificação em Sensível, Intermediário e Resistente de acordo com os pontos de corte do CLSI ¹⁵ (2003) para <i>Enterococcus durans</i>	55

LISTA DE QUADRO E TABELAS

Tabela 1 – Apresenta os normas interpretativas do teste da concentração inibitória mínima ($\mu\text{g}/\text{mL}$) para os antibióticos testados.	45
Tabela 2 – Análise descritiva das contagens de <i>Enterococcus</i> spp., expressas em unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/ml), observadas para cada faixa etária	47
Tabela 3 – Distribuição de espécies de <i>Enterococcus</i> observada em cada faixa etária	48
Tabela 4 – Valores de CIM ₉₀ e CIM ₅₀ dos antibióticos para os isolados de <i>Enterococcus</i> spp. avaliados (em $\mu\text{g}/\text{ml}$)	50
Tabela 5 – Valores de CIM ₉₀ e CIM ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$) para cada espécie de <i>Enterococcus</i> avaliadas frente aos antibióticos testados....	51
Tabela 6- Valores de concentração inibitória mínima (CIM) de cada isolado de <i>Enterococcus</i> spp. frente aos antibióticos testados.....	94
Quadro 1- Resultados individuais das contagens de <i>Enterococcus</i> spp. a partir dos enxágües bucais, expressos em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL), faixa etária, gênero e identificação das amostras.....	86

Komiyama EY. Prevalência e suscetibilidade aos antibióticos de *Enterococcus* spp. isolados da cavidade bucal humana [dissertação] São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos: Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a prevalência e suscetibilidade aos antibióticos de *Enterococcus* spp. isolados da cavidade bucal de indivíduos (n=240) de diferentes faixas etárias (4 a 11, 12 a 17, 18 a 34, 35 a 59 e acima de 60 anos). Foram excluídos indivíduos diabéticos, gestantes, fumantes, edêntulos totais, indivíduos sob tratamento com fármacos que interfiram sobre o fluxo e composição salivar, pacientes usuários de prótese total, prótese parcial removível ou aparelhos ortodônticos, indivíduos que tenham sido submetidos à antibioticoterapia ou utilizado antiséptico nos últimos 45 dias. Amostras foram coletadas por enxágüe bucal e isolamento utilizando ágar Enterococcosel. Os isolados foram identificados pelo sistema API 20 Strep e avaliação da suscetibilidade aos antibióticos pela metodologia de diluição em ágar CLSI (2003). Considerando a população total (n=240), foram observados 16,6% dos indivíduos positivos para *Enterococcus* spp. na cavidade bucal com média de 121,73 UFC/ml de enxágüe bucal. Maior número de pacientes acima de 35 anos foram positivos. Observou-se diferença entre as contagens de enterococos dos grupos estudados ($p=0,0019$). O teste de Dunn indicou diferença entre o grupo de 12-17 anos em relação aos grupos 35-59 anos ($p=0,0004$) e acima de 60 anos ($p=0,004$). Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre as medianas de UFC/ml para os gêneros masculino e feminino ($p=0,3645$). Foi observada maior prevalência de *E. faecalis* em todos os grupos etários em relação as demais espécies ($p=0,000$). Do total de isolados 12% foram resistentes à vancomicina, 16% à amoxicilina, 54% à tetraciclina, 18% à ampicilina, 20% à cloranfenicol e 46% à eritromicina.

Palavras-chave: *Enterococcus*, prevalência, boca

1 INTRODUÇÃO

Enterococcus spp. são cocos Gram-positivos organizados aos pares ou curtas cadeias, anaeróbios facultativos (KIRSCHINER et al.⁴⁴, 2001). Duas espécies se destacam neste gênero, *E. faecalis* e *E. faecium*. *E. faecalis* é isolado de cerca de 80 a 90% das infecções enterocócicas humanas, seguido de *E. faecium* que perfaz 10 a 15% destes quadros. O isolamento de outras espécies tais como *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. hirae*, *E. casseliflavus*, *E. gilvus* sp. nov., *E. pallens* sp. nov. de amostras humanas também já foi relatado (KIRSCHINER et al.⁴⁴, 2001; TYRRELL et al.⁸⁴, 2002).

Enterococcus spp. são bactérias entéricas, normalmente isoladas de amostras de fezes e na microbiota intestinal de humanos e animais (GARCIA-GARROTE et al.³², 2000; KIRSCHINER et al.⁴⁴, 2001; FRANZETTI et al.³⁰, 2004; SEDGLEY et al.⁷⁴, 2004; LEAVIS et al.⁴⁸, 2006; BUTLER¹⁰, 2006). *E. faecalis* é encontrado no intestino grosso na ordem de 10^7 células por grama de fezes e no trato urinário. A distribuição de *E. faecium* é semelhante, porém em menor frequência. Não são comumente isolados do trato respiratório e pele (SILVA et al.⁸⁰, 2005; LEENER et al.⁴⁹, 2005).

E. faecalis são relatados como capazes de causar infecções potencialmente fatais. Na década de 1990, tornaram-se um dos patógenos hospitalares mais temidos, uma vez que muitas cepas apresentaram-se resistentes a vários antibióticos convencionais, sendo uma das principais causas de infecções nosocomiais nos EUA e França, representando de 67 a 90% dos casos (SADER et al.⁶⁷, 1995; MUNDY et

al.⁵⁷, 2000; CETINKAYA et al.¹¹, 2000; KIRSCHINER et al.⁴⁴, 2001; LAVIGNE et al.⁴⁷, 2005; FRANZETTI et al.³⁰, 2004; STRABELLI et al.⁸², 2006, SEDGLEY et al.⁷⁶, 2005; BUTLER¹⁰, 2006). O trato urinário e a corrente sanguínea são os locais mais comumente envolvidos pelas infecções (COLODNER et al.¹⁷ 2006; SEDGLEY et al.⁷⁶, 2005).

Durante a última década, os estudos concentram-se nas cepas de enterococos resistentes à vancomicina (VRE), devido à sua presença e disseminação em nível hospitalar, constituindo um grande risco para pacientes hospitalizados (RICE⁶⁴, 2001; KIRSCHINER et al.⁴⁴, 2001; LAVIGNE et al.⁴⁷, 2005; LEAVIS et al.⁴⁸, 2006; BUTLER¹⁰, 2006). Estas cepas apresentam também alta resistência às penicilinas, cefalosporinas e adquirem também elevado grau de resistência aos aminoglicosídeos (KIRSCHINER et al.⁴⁴, 2001; SILVA et al.⁸⁰, 2005).

Na Odontologia, *E. faecalis* tem sido relacionado a insucessos no tratamento endodôntico, relacionado à sua alta resistência a medicamentos utilizados nesta terapia (DUGGAN e SEDGLEY²⁰, 2007; SEDGLEY et al.⁷³ 2005, APPELBE e SEDGLEY⁴, 2007), tais como iodofórmio e clorexidina (SEDGLEY⁷⁸, 2007).

Reservatórios bucais de microrganismos patogênicos podem causar doenças sistêmicas e comprometer a vida de pacientes debilitados ou imunocomprometidos (DAHLÈN¹⁸, 1993), uma vez que a cavidade bucal representa uma porta de entrada para estas infecções. Poucos estudos avaliaram a prevalência de *Enterococcus* spp. na cavidade bucal. Sedgley et al.⁷⁴ (2004) relataram maior isolamento de *E. faecalis* de enxágües bucais de pacientes sob tratamento endodôntico quando comparado a estudantes de Odontologia. A maior prevalência desta espécie dentre pacientes com gengivite ou periodontite em relação aos com periodonto saudável também foi relatada (SEDGLEY et al.⁷⁷,

2006).

A partir do exposto, julgou-se necessário e de grande valia a pesquisa sobre a prevalência *Enterococcus* spp. na cavidade bucal de indivíduos de diversas faixas etárias e a suscetibilidade dos isolados aos antibióticos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Enterococcus spp. são cocos Gram-positivos, dispostos aos pares ou pequenas cadeias, são ovóides ou ligeiramente alongados, anaeróbios facultativos, não possuem capacidade de formar esporos bacterianos (KIRSCHINER et al.⁴⁴, 2001; KONEMAN et al.⁴⁵, 2008).

Até meados da década de 80, *Enterococcus* eram classificados como sendo pertencentes ao gênero *Streptococcus*, classificados como estreptococos do grupo D, porém diferenciaram-se em um novo gênero por crescerem bem na faixa de temperatura de 10°C a 45°C. Suas colônias, quando semeadas em ágar sangue, apresentam-se como não-hemolíticos, mas podendo apresentar α -hemólise ou β -hemólise. Crescem na presença de 6,5% de NaCl, e em pH de 9,6; são tolerantes a 40% de sais biliares, podendo ainda hidrolisar esculina. Testes bioquímicos, tais como reações de fermentação, hidrólise de pirrolidônio- β -naftilamida (PYR), motilidade, produção de pigmentos, são necessários para diferenciar as espécies de *Enterococcus* (KONEMAN et al.⁴⁵, 2008; ANDRÉ et al.², 2005). Apesar de serem catalase-negativos, podem produzir uma pseudo-catalase, causando fraca efervescência no respectivo teste (FACKLAM et al.²⁴, 2002).

Esses microrganismos possuem a capacidade de sobreviver em ambientes desfavoráveis à maioria de outros microrganismos, suportando altas temperaturas, exposição a alguns anti-sépticos e podem sobreviver por longo período de tempo em superfícies inanimadas (BUTLER¹⁰, 2006).

A denominação *Enterococcus* vem do nome “entérococoque”, utilizado primeiramente por Thiercelin, em uma publicação em 1899, na França. Esse nome foi proposto para enfatizar a origem intestinal desses microrganismos Gram-positivos (MURRAY⁵⁸, 1990).

Enterococcus spp. apresentam diversos fatores de virulência, dentre os quais adesinas de superfície, substância de agregação, ácido lipoteicóico e produção extracelular de superóxido (CHOW et al.¹⁴, 1993). Outros fatores também têm sido relacionados com a virulência destes microrganismos como produção de as-48 e outras bacteriocinas (KAYAOGLU e ORSTAVIK⁴³, 2004).

Sedgley et al.⁷³ (2005) descreveram a presença de antígeno de endocardite (*efaA*) e fatores de aderência (*esp* e *asa*) em espécies de *Enterococcus*. O gene da gelatinase (*gelE*) foi detectado em *E. faecalis*, porém não foi encontrado em cepas de *E. faecium*.

Segundo Kayaoglu e Orstavik⁴³ (2004), as adesinas de superfície têm como função auxiliar na colonização do tecido do hospedeiro, enquanto outras proteínas atuam na evasão das defesas do hospedeiro, podendo levar assim, a um processo infeccioso.

A substância de agregação (*as*) apresenta-se como uma adesina bacteriana que é codificada por um plasmídeo e/ou transposon. Sua expressão na superfície celular é estimulada através do soro (KAYAOGLU e ORSTAVIK⁴³, 2004; KREFT et al.⁴⁶, 1992). Vanek et al.⁸⁷ (1999) observaram que *as* pode apresentar resistência da fagocitose por neutrófilos, independente da opsonina, promovendo uma adesão direta à células hospedeiras.

E. faecalis possui quatro plasmídeos com genes que

codificam substância de agregação: pAD1, pCF10, pD1, pAM373. Os genes que codificam as substâncias de agregação são: *asa1*, *asc10*, *asa 373* e *ash 701*. Atuam num sistema de troca genética em resposta a ferormônios bacterianos, promovendo contato entre enterococos a fim de facilitar a transferência do plasmídeo (KAYAOGLU e ORSTAVIK⁴³, 2004; KREFT et al.⁴⁶, 1992; VANEK et al.⁸⁷, 1999).

O ácido lipoteicóico pode ser encontrado na parede celular de várias bactérias Gram-positivas. Atua na ligação de bactérias às células eucarióticas plaquetas e linfócitos, promovendo reabsorção óssea e liberação de mediadores químicos da inflamação (KAYAOGLU e ORSTAVIK⁴³, 2004; BEACHEY et al.⁶, 1979).

Outro fator de virulência bacteriano é o superóxido extracelular. Estudos *in vitro* demonstraram que *E. faecalis* que produzem essa substância possui maior taxa de sobrevivência (HUYCKE e GILMORE³⁶, 1997; MUNDY et al.⁵⁷, 2000).

Enterococcus spp. não produzem toxinas potentes, embora proteínas hidrolíticas, tais como citolisinas, hialuronidases e gelatinases tenham sido identificadas (SEDGLEY et al.⁷³, 2005).

A citolisina é encontrada em até 60% das amostras de *E. faecalis* em casos de infecção enterocócica (MUNDY et al.⁵⁷, 2000). A citolisina é uma toxina hemolítica que pode promover hemólise contra hemácias de cavalos, coelho e humanos; porém inativa contra hemácias de carneiro. Possui atividade sobre grande faixa de bactérias Gram-positivas, promovendo lise celular (SHANKAR et al.⁷⁹, 2002; MUNDY et al.⁵⁷, 2000). A hialuronidase está frequentemente associada a *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*. É reconhecida como fator de virulência desses microrganismos,

facilitando sua invasão nos tecidos (RICE⁶⁴, 2001).

A gelatinase é uma enzima que degrada a gelatina, colágeno, hemoglobina, produzida pelo gene *gelE* (KAYAOGLU e ORSTAVIK⁴³, 2004; VERGIS et al.⁸⁹, 2002; KREFT et al.⁴⁶, 1992). Eaton e Gasson²¹ (2001), analisando fatores de virulência de *Enterococcus* spp. de humanos, observaram que *gelE* foi encontrado em amostras que não possuíam atividade de gelatinase, sendo denominados genes silenciosos. Os autores sugeriram que esse gene pode tornar-se ativo por fatores ambientais ou sinergismo bacteriano.

Enterococcus spp. são residentes normais do trato gastrointestinal e biliar, podendo também ser encontrados na cavidade bucal, vagina, uretra masculina. Além nos humanos, são encontrados em outros mamíferos, pássaros, répteis, alimentos e água contaminados (MURRAY⁵⁸, 1990; WERNER et al.⁹⁰, 2007, SEDGLEY et al.⁷³, 2005; SEDGLEY et al.⁷⁴, 2004; PETERSEN e DALSGAARD⁶¹, 2003; SARAIVA et al.⁷¹, 1997; FRANZETTI et al.³⁰, 2004).

E. faecalis e *E. faecium* são as espécies mais prevalentes e juntas correspondem mais de 80% dos isolados clínicos das infecções enterocócicas (BUTLER¹⁰, 2006). O isolamento de outras espécies tais como *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. hirae* e *E. casseliflavus*, *E. gilvus* sp. nov., *E. pallens* sp. nov. de amostras humanas também já foi relatado (KIRSCHINER et al.⁴⁴, 2001; TYRRELL et al.⁸⁴, 2002).

Noble⁵⁹ (1978) estudando fezes de lactentes de 6-7 dias de vida, verificou a prevalência de 48% de *E. faecalis* de 21 lactentes estudados, não sendo observados *E. faecium* e *E. avium*. Entre os adultos estudados, *E. faecalis* foi encontrado em 8 de 10 pacientes hospitalizados e 14 de 21 pacientes em ambulatórios com contagens de

10^5 a 10^7 unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL). *E. faecium* foi encontrado em 15 de 39 adultos, com contagens entre 10^4 a 10^5 UFC/mL. *E. avium* foi isolado em 3 de 30 adultos e *E. durans* não foi encontrado. Entretanto, Mead⁵⁴ (1978) verificou maior prevalência de *E. faecium* que *E. faecalis* em amostras de fezes humanas.

Enterococcus spp. foram encontrados nas fezes da maioria dos adultos saudáveis no Japão. Foi relatada a presença em 97% de 71 indivíduos da Alemanha e Escandinávia, sendo *E. faecalis* mais comumente encontrados em relação a *E. faecium* (MURRAY⁵⁸, 1990).

A maior parte das infecções por *Enterococcus* spp. origina-se da microbiota normal do intestino do paciente, embora possam também ser transferidos de paciente para paciente ou adquiridos através do consumo de água ou alimentos contaminados (BLANCH et al.⁸, 2003; LINDEN e MILLER⁵⁰, 1999; ANDRÉ et al.², 2005; MIRANDA et al.⁵⁶, 2005; PETERSEN e DALSGAARD⁶¹, 2003). Silva et al.⁸⁰ (2005) relataram que esses microrganismos podem sobreviver em lagos por longo período de tempo, quando liberados diretamente ao meio ambiente.

Araya et al.⁵ (2005) analisaram amostras de leite não-pasteurizado da área metropolitana de Costa Rica quanto à presença de *Enterococcus* spp. e suscetibilidade dos isolados aos antimicrobianos. Foi observada a presença de *Enterococcus* spp. em 38% das amostras de leite analisadas, sendo *E. faecalis* mais prevalente (71%), seguido de *E. faecium* (19%), *E. durans* (4%), *E. gallinarum* (4%) e *E. avium* (2%). Os autores ainda observaram alta porcentagem de *Enterococcus* spp. multiresistentes provenientes de leite não pasteurizado.

Entre as bactérias Gram-positivas, espécies de *Enterococcus* têm sido descritas como um dos principais microrganismos

responsáveis por infecções urinárias (COLODNER et al.¹⁷ 2006; SADER et al.⁶⁷, 1995; FRANZETTI et al.³⁰, 2004; BUTLER¹⁰, 2006; ROE et al.⁶⁵, 2008). Jones et al.³⁹ (1997) relataram ser o segundo microrganismo mais freqüente em uroculturas de pacientes com infecções urinárias.

As infecções por *Enterococcus* spp. são particularmente comuns em pacientes com cateteres urinários ou intravasculares e em pacientes que ficam hospitalizados por longos períodos e que estiveram sob tratamento com antibióticos de largo espectro (KIRSCHNER et al.⁴⁴, 2001; BUTLER¹⁰, 2006; ROE et al.⁶⁵, 2008). Roe et al.⁶⁵ (2008) relataram que pacientes que fazem uso de cateteres urinários, possuem risco aumentado em aproximadamente 80% de desenvolver infecções hospitalares do trato urinário.

Garcia-Garrote et al.³² (2000) e Butler¹⁰ (2006) relataram que esses microrganismos estão relacionados com sérias infecções do peritônio, podendo ainda causar septicemias, endocardites e meningites. Os fatores de risco para desenvolvimento de bacteriemia incluem imunossupressão e debilidade, causadas por diabetes *mellitus*, úlceras com infecções secundárias, instrumentações prévias do trato gastrointestinal, genitourinário, respiratório e hospitalização prolongada (GRANINGER e RAGETTE³⁴, 1992; GULLBERG et al.³⁵, 1989; WERNER et al.⁹⁰, 2007).

Endocardite infecciosa é uma infecção do endocárdio, geralmente o endocárdio valvar, podendo acometer outras estruturas do coração, como o endocárdio das comunicações interventriculares e as próteses valvares. É uma doença rara, mas que causa seqüelas graves, muitas vezes leva ao óbito (WAHL e PALLASCH⁸⁸, 2005). Ramos et al.⁶³ (2001) relatam que a endocardite infecciosa é uma doença grave, que apresenta risco de morte e seu desenvolvimento pode estar relacionado

com bacteriemias decorrentes de procedimentos odontológicos. Segundo Dajani¹⁹ (1998), a incidência de bacteriemias de origem odontológica está relacionada com o grau de infecção e inflamação dos tecidos bucais. Para os autores, os pacientes que possuem fatores de risco para endocardite infecciosa, devem manter uma adequada saúde bucal, por meio de cuidados profissionais regulares, uso correto de fio e escova dental, além de outros métodos empregados para o controle do biofilme dental.

O risco de bacteriemias de origem odontológica parece depender de duas variáveis importantes: grau do traumatismo dos tecidos produzido pelo tratamento odontológico e da doença inflamatória local preexistente. Apesar disso, grande número de casos relatados demonstraram que a endocardite infecciosa pode ocorrer, após tratamento dental de baixa complexidade, tais como, profilaxia, escovação e pacientes edêntulos totais com lesões traumáticas produzidas por próteses (SONIS et al.⁸¹, 1985; PALLASCH⁶⁰, 2003). Estudos têm demonstrado bacteriemias transitórias após extração, gengivectomia, curetagem, profilaxia, escovação (SONIS et al.⁸¹, 1985; YAGIELA et al.⁹⁴, 1998). Entretanto, Lucas e Roberts⁵¹ (2000) relataram não existir associação entre tratamento odontológico e endocardite infecciosa.

Bermann⁷ (1991) relatou maior predisposição a bacteriemia por microrganismos bucais em pacientes com leucemia mielóide aguda, quando submetidas à quimioterapia, principalmente quando associadas com infecções bucais agudas. Também foram diagnosticados casos de pneumonia, meningites e osteomelites causadas por *Enterococcus* spp. em pacientes imunocomprometidos (BUTLER¹⁰, 2006).

Sakamoto et al.⁶⁸ (1999), analisando 30 pacientes com câncer bucal, verificaram infecção dos linfonodos cervicais por

microrganismos em 45,8% de 70 avaliados. Dos sítios avaliados, 4 linfonodos apresentaram infecção por *E. faecalis*.

A profilaxia antibiótica é recomendada sempre que houver expectativa de sangramento, durante o tratamento odontológico (DAJANI¹⁹, 1998). O regime profilático padrão recomendado pela American Heart Association em 2008 (WILSON et al.⁹¹, 2008) consiste numa única dose de amoxicilina por via oral. A amoxicilina é recomendada por ser melhor absorvida pelo trato gastrointestinal e proporcionar níveis séricos mais elevados e duradouros. O protocolo atual proposto pela AHA recomenda uma dose única de 2,0 g de amoxicilina para adultos e de 50 mg/kg para crianças, nunca excedendo 2,0 g, administrada 1 h antes dos procedimentos odontológicos. Para pacientes com hipersensibilidade às penicilinas pode ser prescrito cloridrato de clindamicina. Apesar de ser bacteriostático em dosagem usual constitui, atualmente, o antibiótico mais recomendado por atingir concentração sérica rápida e elevada. Atinge seu pico sérico máximo em 40 a 60 minutos após a administração de 150 a 300 mg (WILSON et al.⁹¹, 2008).

van den Braak et al.⁸⁶ (2000), analisando VRE em unidades de terapia intensiva (UTIs), centros de hematologia-oncologia e hemodiálise de pacientes da Holanda, verificaram que a colonização por esses microrganismos não é freqüente. Os autores sugeriram a possibilidade da aquisição de VRE fora dos hospitais nestes pacientes debilitados.

Estudos têm apontado para a crescente prevalência de infecções nosocomiais causados por *Enterococcus* spp. (BUTLER¹⁰, 2006; SILVA et al.⁸⁰, 2005; IVERSEN et al.³⁷, 2004; MURRAY⁵⁸, 1990; APECIH³, 1999; BONTEN et al.⁹, 1996; WERNER et al.⁹⁰, 2007; FRANZETTI et al.³⁰, 2004). De acordo com a Associação Paulista de

Estudos e Controle de Infecção Hospitalar (APECIH³, 1999), o primeiro caso de infecção por VRE no Brasil foi registrado em uma paciente internada por leucemia em um hospital no município de Curitiba em 1996, sendo relatados posteriormente em diversos hospitais de São Paulo. Desde modo, a partir de 1998, VRE passou a ser considerado um patógeno de grande importância em muitas instituições no país. Recentemente, casos de infecção hospitalar em UTI de adultos por VRE foram relatados na cidade de Recife e Campinas. Em Recife, 17 pessoas foram infectadas por *E. faecium* resistente a vancomicina (AGÊNCIA FOLHA¹, 2007; JC ONLINE³⁸, 2007).

Relatos do *Center of Diseases Control* (CDC) relataram que 25% das infecções por VRE ocorrem em pacientes internados em Centros de Terapia Intensiva (SILVA et al.⁸⁰, 2005).

A crescente taxa de resistência aos antimicrobianos por *Enterococcus* spp. tem sido relatada (TSUDA et al.⁸³, 2008; VACHÉE et al.⁸⁵, 2008; WITTE et al.⁹³, 2007; WERNER et al.⁹⁰, 2007; FRACALANZZA et al.²⁹, 2007; MURRAY⁵⁸, 1990; PETERSEN e DALSGAARD⁶¹, 2003; FRANZETTI et al.³⁰, 2004).

O aumento do número de amostras de *Enterococcus* spp. multirresistente é um desafio à terapia (ENGELBERT et al.²², 2004; PETERSEN e DALSGAARD⁶¹, 2003). Diversos autores relatam que a disseminação de cepas resistentes a vancomicina pode estar relacionada ao uso indiscriminado de vancomicina e antibióticos de amplo espectro, além da disseminação ocasionada pelo despejo de esgoto sem tratamento ao meio ambiente (SILVA et al.⁸⁰, 2005; BONTEN et al.⁹, 1996; IVERSEN et al.³⁷, 2004; FRANZETTI et al.³⁰, 2004).

Araya et al.⁵ (2005) e Miranda et al.⁵⁶ (2005) relataram

que cepas de *Enterococcus* spp. resistentes aos antimicrobianos, podem ser transmitidas através da alimentação, levando à ocorrência de doenças. O leite contém microrganismos de importância na Saúde Pública, destacando-se *E. faecalis* e *E. faecium*. Essas bactérias são resistentes ao calor e podem resistir a processos de pasteurização do leite (ARAYA et al.⁵, 2005).

Os antibióticos fazem parte de um grupo de substâncias químicas sintetizadas por microrganismos ou produzidas de forma sintéticas, possuem capacidade bactericida ou bacteriostática. Estes antimicrobianos são classificados em grupos relativos à sua estrutura química e mecanismo de ação, este por sua vez é definido pela sua estrutura molecular. Dividem-se em dois grupos, beta-lactâmicos e não beta-lactâmicos (SANTOS et al.⁷⁰, 2002; YAGIELA et al.⁹⁵, 2000; ROSSI e ANDREAZZI⁶⁶, 2005).

A ciprofloxacina faz parte da classe das Quinolonas e Fluoroquinolonas, do grupo dos não beta-lactâmicos, sendo eficaz sistemicamente contra uma grande variedade de microrganismos. Inibe rapidamente a síntese de DNA bacteriano o que leva a morte rápida das bactérias. As concentrações plasmáticas são atingidas normalmente 1 a 3 h após a administração da dose. A ciprofloxacina ainda é o mais potente antibiótico das fluoroquinolonas frente às bactérias Gram-negativas (SANTOS et al.⁷⁰, 2002; YAGIELA et al.⁹⁴, 2000; ROSSI e ANDREAZZI⁶⁶, 2005)

O cloranfenicol é um fármaco da classe dos fenicóis, incluído no grupo dos antibióticos não beta-lactâmicos. São atualmente sintetizados, porém foram inicialmente isolados de *Streptomyces venezuelae*, possui amplo espectro de ação e tem como mecanismo de ação a entrada na célula por um processo dependente de energia e atua

inibindo a síntese de proteína. A meia-vida plasmática do cloranfenicol em adultos é de 4 h após a administração. Este fármaco tem atividade contra microrganismos Gram-negativos, alguns esteptococos e estafilococos, riquetsias, treponemas, clamídias e micoplasmas (SANTOS et al.⁷⁰, 2002; YAGIELA et al.⁹⁴, 2000; ROSSI e ANDREAZZI⁶⁶, 2005).

A gentamicina é um complexo de antibiótico produzido por *Micromonospora purpurea*. Faz parte da classe dos aminoglicosídeos e faz parte do grupo dos antibióticos não beta-lactâmicos. Age inibindo a síntese das proteínas através de sua ligação a proteínas específicas que estão presentes no ribossomo bacteriano. Em concentrações baixas, possui ação bacteriostática, entretanto em concentrações que são alcançadas clinicamente com facilidade, quase sempre possui ação bactericida. Os microrganismos sensíveis a gentamicina, principalmente são os bacilos Gram-negativos aeróbios. Os aminoglicosídeos são fármacos de amplo espectro, portanto eficazes contra os microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos (SANTOS et al.⁷⁰, 2002; YAGIELA et al.⁹⁴, 2000; ROSSI e ANDREAZZI⁶⁶, 2005).

A eritromicina, é um antibiótico pertencente à classe dos macrolídeos do grupo dos não beta-lactâmicos, é produzida por *Streptomyces erythreus*. Caracteriza-se por apresentar uma relativa ausência de toxicidade. Esta inibe a síntese protéica bacteriana, através da ligação da subunidade 50S ribossômica inativando o crescimento da cadeia peptídica dos microrganismos, portanto a eritromicina depende da concentração da droga utilizada, podendo possuir ação tanto bacteriostática quanto bactericida. É um antibiótico de largo espectro, contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, micoplasmas, clamídeas, treponemas e riquetsias (SANTOS et al.⁷⁰, 2002; YAGIELA et al.⁹⁴, 2000; ROSSI e ANDREAZZI⁶⁶, 2005).

A vancomicina é da classe dos glicopeptídeos e pertence ao grupo dos antibióticos não beta-lactâmicos, é um glicopeptídeo complexo solúvel elaborado através *Streptomyces orientalis*. Possui ação indicada ao tratamento de infecções causadas por microrganismos Gram-positivos sensíveis ao fármaco, possuindo ação bactericida exceto a *Enterococcus* spp., contra os quais sua ação é bacteriostática, possuindo pequeno espectro antibacteriano. Em pessoas com função renal normal, a meia vida sérica deste antibiótico é de seis a oito h. Age inibindo a síntese e o acoplamento dos polímeros de peptideoglicano presentes na parede celular das bactérias, exercendo sua atividade antibacteriana. Entretanto, sua ação sob o *Enterococcus* spp. envolve uma alteração enzimática no local de ligação da vancomicina na parede celular (SANTOS et al.⁷⁰, 2002; YAGIELA et al.⁹⁴, 2000; ROSSI e ANDREAZZI⁶⁶, 2005).

A amoxicilina é uma penicilina semi-sintética e está incluída no grupo dos antibióticos dos beta-lactâmicos, possui um amplo espectro de ação, entretanto, sensível às beta-lactamases produzidas por diversas bactérias, é pertencente a classe das aminopenicilinas. Normalmente é bactericida, pois tem ação de inibir a biossíntese da parede celular das bactérias sensíveis é ativa *in vitro*, contra a maioria das bactérias Gram-positivas, estafilococos, estreptococos e cocos Gram-positivos. Uma a duas h após a administração de uma dose deste fármaco, atinge a concentração sérica máxima de seis a oito microgramas por mililitro (SANTOS et al.⁷⁰, 2002; YAGIELA et al.⁹⁴, 2000; ROSSI e ANDREAZZI⁶⁶, 2005).

A ampicilina é uma penicilina semi-sintética, pertencente à classe das aminopenicilinas, de amplo espectro de ação, todavia sensível às beta-lactamases. Inibe a biossíntese da parede celular das bactérias sensíveis, produzindo em geral efeito bactericida. Uma vez absorvida, a ampicilina distribui-se pelos tecidos e líquidos orgânicos, sendo

encontrado níveis elevados no pulmão, fígado, rins, pele, tubo digestivo, bile, líquidos sinovial, peritonal e pleural. Sua concentração no cérebro, seios da face, músculos, coração, saliva, lágrimas e suor são menor que a do sangue, mas suficiente para ação terapêutica. Atravessa a barreira placentária originando concentrações terapêuticas no feto e líquido amniótico. Também atravessa a barreira hematoencefálica em pacientes com meningoencefalite (SANTOS et al.⁷⁰, 2002; YAGIELA et al.⁹⁴, 2000; ROSSI e ANDREAZZI⁶⁶, 2005).

A tetraciclina tem maior atividade em microrganismos Gram-negativos devido à capacidade de penetrar nas barreiras lipídicas e na parede celular que é mais complexa destes microrganismos, alcançando finalmente seu local de ação, que são as enzimas situadas externamente à membrana. Porém, são menos ativas contra cocos Gram-positivos, exceto que são duplamente mais potentes contra os *Enterococcus* spp. Este fármaco é sensível às beta-lactamases, produzidas por diversas bactérias, pois estas hidrolisam a ampicilina perdendo a sua atividade antibiótica (SANTOS et al.⁷⁰, 2002; YAGIELA et al.⁹⁴, 2000; ROSSI e ANDREAZZI⁶⁶, 2005).

Enterococcus spp, apresentam resistência natural ou intrínseca a cefalosporinas, e fluoroquinolonas e têm adquirido resistência à ampicilina e aos aminoglicosídeos gentamicina e estreptomicina. Além disso, apresentam resistência intermediária a clindamicina e aos aminoglicosídeos (BUTLER¹⁰, 2006; RICE⁶⁴, 2001). A aquisição de resistência frente à vancomicina em meados de 1990 foi um grande salto evolutivo para esse gênero (RICE⁶⁴, 2001, WERNER et al.⁹⁰, 2007). Enterococos Resistentes à Vancomicina (VRE) são patógenos oportunistas reconhecidos como causa importante de infecções hospitalares (CETINKAYA et al.¹¹, 2000, WERNER et al.⁹⁰, 2007).

A utilização indiscriminada e constante de diversos antibióticos na agricultura e pecuária pode promover seleção bacteriana, trazendo como consequência, a sobrevivência daquelas mais resistentes (ARAYA et al.⁵, 2005).

Jones et al.³⁹ (2004) relataram que no Canadá e Alemanha, *Enterococcus* spp. estão em quinto lugar como causadoras de infecções em UTIs, com incidência de 7,6% e 7,4% respectivamente. Canadá apresenta o décimo lugar com (2,1%) e oitavo lugar na Alemanha (4,3% de incidência).

Furtado et al.³¹ (2005), analisando a incidência de VRE em um hospital de São Paulo de 2000 até 2002, observaram uma incidência ascendente de VRE. Os autores observaram uma incidência de 9,5% em 2000; 14,7% em 2001 e 15,8% em 2002, salientando a preocupação no aumento de casos de infecções por VRE.

Schouten⁷² (1999) relatou que a prevalência de VRE na Europa ainda é baixa, porém encontrou-se um alto índice de resistência a elevados níveis de gentamicina e podem dessa forma apresentar um sério risco ao tratamento de pacientes com infecções invasivas.

Chai et al.¹² (2007), observaram a suscetibilidade de antibióticos e hidróxido de cálcio sobre biofilme de *E. faecalis*. Os autores concluíram que eritromicina, tetraciclina e hidróxido de cálcio foram 100% efetivos ao contrário de ampicilina e vancomicina.

Vachée et al.⁸⁵ (2008) analisaram a suscetibilidade aos antibióticos de amostras de bactérias beta-hemolíticas, *E. faecalis* e *E. faecium*, isolados de trabalhadores de Orneba, França. Os autores verificaram que a suscetibilidade aos beta-lactâmicos permaneceram

estáveis entre 2000 e 2004. A suscetibilidade das animopenicilinas permaneceu alta para *E. faecalis* (aproximadamente 98%). Considerando a proporção de *E. faecium* isolados, a suscetibilidade aos antibióticos foi considerada baixa (menor que 60%) em relação a *E. faecalis*.

Mihaila-Amrouche et al.⁵⁵ (2004) verificaram o impacto da susceptibilidade para antibióticos de estreptococos e enterococos isolados de pacientes com endocardite infecciosa no tratamento antibiótico. Foi verificada resistência intermediária para a eritromicina e clindamicina restrita somente a algumas espécies: *S. mitis*, *S. sanguinis*, *S. anginosus*, *S. dysgalactiae* sub sp. *equisimilis*, *S. gallalyticus* e *E. faecalis*. Todos os isolados apresentaram suscetibilidade para vancomicina e teicoplanina, e somente dois isolados de *E. faecalis* tem um alto nível de resistência para a gentamicina.

Saraiva et al.⁷¹ (1997) avaliaram a sensibilidade aos antimicrobianos de 87 amostras clínicas de VRE. Verificaram alto índice de resistência aos aminoglicosídeos: 82% para gentamicina e 85% para estreptomicina. Do total de amostras avaliadas, 82% foram sensíveis ao cloranfenicol, enquanto 98% das amostras apresentaram resistência à eritromicina e 69% à ciprofloxacina.

Quiñones et al.⁶² (2005) verificaram a prevalência e suscetibilidade antimicrobiana das amostras de *Enterococcus* ssp. em Cuba. Os autores observaram resistência à ciprofloxacina em 26,2% das amostras de *E. faecalis*, 30% para *E. faecium*, 100% para *E. casseliflavus* e 50% para *E. gallinarium*. Foi notada resistência ao cloranfenicol de 34,5% das amostras de *E. faecalis* e 10% de *E. faecium*. Os autores ainda verificaram 37% de resistência das amostras de *E. faecalis* e 30% de *E. faecium* frente à gentamicina.

Kaçmaz e Aksoy⁴¹ (2005) verificaram a resistência antimicrobiana de enterococos na Turquia, e através do método do disco de difusão foi detectado um alto nível de resistência dos isolados, sendo 22% das amostras para a gentamicina e 36% para a estreptomicina. Entretanto, a combinação da estreptomicina com a gentamicina alcançou percentual de 12% dos isolados resistentes. Os autores relataram que as amostras de *E. faecium* foram mais resistentes a essa combinação do que outras espécies.

Coleri et al.¹⁶ (2004) analisaram a resistência aos antibióticos de isolados clínicos de *Enterococcus* spp. Observou-se 8,7% dos isolados resistentes à getamicina, 17,4% para estreptomicina e 43,5% para penicilina. Altos níveis de resistência foram verificados para vancomicina (34,5%) e teicoplanina (60,9%).

Chai et al.¹² (2007) verificaram a susceptibilidade de *E. faecalis* do biofilme dental para antibióticos e hidróxido de cálcio, e os resultados revelaram que hidróxido de cálcio, eritromicina e oxitetraciclina foram totalmente eficientes, eliminando *E. faecalis* presente no biofilme depois de 1 h de exposição. Por outro lado, a ampicilina, a cotrimoxazol, a vancomicina e a vancomicina seguida de gentamicina foram incapazes de erradicar totalmente as bactérias presentes no biofilme.

Leener et al.⁴⁹ (2005) verificaram presença e mecanismo de resistência antimicrobiana de amostras de *Enterococcus* spp. isoladas de cães e gatos. Os autores verificaram que 55% das amostras testadas foram resistentes à tetraciclina e não foram encontradas amostras resistentes à vancomicina.

Araya et al.⁵ (2005) relataram que em aproximadamente 40% de todos os pacientes que recebem tratamento com antimicrobiano

ocorre aumento da resistência aos antimicrobianos empregados. Os autores salientaram a necessidade de pesquisas e utilização de fármacos mais novos e potentes.

Sedgley et al.⁷⁴ (2004) todas as amostras de *E. faecalis* isoladas de infecção endodôntica foram sensíveis a ampicilina, penicilina, gentamicina e vancomicina e 2 amostras apresentaram baixo nível de resistência a tetraciclina.

Silva et al.⁸⁰ (2005) verificaram a prevalência e suscetibilidade de *Enterococcus* spp. isolados da água de abastecimento no norte do Chile e verificaram ausência de amostras resistentes à vancomicina, sendo encontrada 19% das amostras com resistência intermediária. Observou-se uma resistência moderada de amostras de *Enterococcus* spp. à penicilina e ampicilina. Maior número de amostras de *E. faecium* apresentou resistência (44%) quando comparada a *E. faecalis* (17%).

Maschieto et al.⁵³ (2004) verificaram a resistência antimicrobiana de *Enterococcus* spp. isolados do trato intestinal de pacientes provenientes de um hospital universitário no Brasil. Os autores observaram 100% de resistência de *E. gallinarum* e *E. casseliflavus* frente à vancomicina. Um total de 9,4% das amostras de *E. faecalis*, 9,1% de *E. faecium* e 4,3% de *E. gallinarum* foram resistentes à penicilina. Ainda foi observado 56,2% de isolados de *E. faecalis* resistentes à tetraciclina, sendo este percentual de 42,4% para *E. faecium*, 30,4% para *E. gallinarum* e 20% para *Enterococcus casseliflavus*.

Saraiva et al.⁷¹ (1997) avaliaram 87 amostras clínicas de *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina, proveniente de 97 hospitais dos EUA. Foi observada aproximadamente 86% dos isolados resistentes

à ampicilina; 82% para gentamicina, 85% para estreptomicina, 82% para cloranfenicol, 92% para doxiciclina e 94% para trospectominina. A teicoplanina apresentou 29% de efetividade sobre as amostras testadas, mesmo pertencendo à mesma classe da vancomicina.

Coleri et al.¹⁶ (2004) verificaram a resistência padrão e plasmidial de amostras clínicas de *Enterococcus* spp. em hospital da Turquia. Dos 23 isolados, 20 foram identificadas como *E. faecalis*, 2 como *E. faecium* e 1 *E. gallinarum*. Para os testes de suscetibilidade, foram utilizados 24 antibióticos. Foi observada resistência múltipla aos antibióticos em 10 amostras clínicas testadas. Um total de 8,7% das amostras apresentaram alta resistência à gentamicina, 17,4% para estreptomicina, 43,5% para penicilina e 34,8% para vancomicina.

Em Odontologia, espécies de *Enterococcus* são associadas com quadros de doenças endodônticas e periapicais (FOUAD et al.²⁸, 2005; DUGGAN e SEDGLEY²⁰, 2007; FOSCHI et al.²⁷, 2005; FIGDOR et al.²⁶, 2003; JOHNSON et al.⁴⁰, 2006; APPELBE e SEDGLEY⁴, 2007; KAUFMAN et al.⁴², 2005; KAYAOGLU e ORSTAVIK⁴³, 2004; EVANS et al.²³, 2002; SEDGLEY et al.⁷³, 2005; SEDGLEY⁷⁸, 2007).

Gomes et al.³³ (2004) analisaram sistema de canais radiculares em dentes com necrose pulpar associados à falhas no tratamento endodôntico. Os autores verificaram que a taxa de insucesso deve-se ao predomínio de bactérias anaeróbias facultativas Gram-positivas, especialmente *E. faecalis*.

Zoletti et al.⁹⁶ (2006) realizaram análise microbiológica de canais radiculares de dentes com e sem lesão periapical através de cultivo convencional e reação em cadeia da polimerase (PCR). Os autores verificaram que *E. faecalis* estão freqüentemente presentes em infecções

endodônticas secundárias e lesões periapicais e sua presença é a maior causa do insucesso do tratamento endodôntico. Kaufman et al.⁴² (2005), também estudando a relação de *Enterococcus* spp. no tratamento endodôntico de dentes com e sem lesão periapical, concluíram que esses microrganismos estão relacionados com a falha do tratamento e não associados com o início da doença.

Fouad et al.²⁸ (2005) analisando 40 pacientes com lesões periapicais que estavam sob retratamento endodôntico, verificaram por meio da PCR a presença de *E. faecalis* em 22% dos pacientes.

Sedgley et al.⁷⁷ (2006), analisaram por PCR a presença de *E. faecalis* em vários sítios na boca incluindo sulco gengival e canais radiculares, verificando maior prevalência em ventre de língua e mucosa jugal de pacientes adultos atendidos na Faculdade de Odontologia da Universidade de Michigan. Os autores concluíram ainda que maior número de pacientes com gengivite ou periodontite apresentavam *E. faecalis* em relação a pacientes com periodonto saudável.

Em outro estudo, Sedgley et al.⁷⁴ (2004) analisaram a presença de *Enterococcus* spp. por métodos fenotípicos e genotípicos. *Enterococcus* spp. foram encontrados em 11% das amostras da cavidade bucal de 100 pacientes que estavam em tratamento endodôntico e 1% entre os 100 estudantes de odontologia analisados. Após identificação, observou-se 100% das amostras *E. faecalis*.

Chomicz et al.¹³ (2004) verificaram maior prevalência de *Enterococcus* spp. em pacientes portadores de diabetes *mellitus* insulino-dependentes (60%), quando comparados a pacientes controle (6,6%).

Duggan e Sedgley²⁰ (2007) verificaram a formação de

biofilme por *E. faecalis* de canais radiculares e cavidade bucal e amostras não-bucais. Foram analisadas 33 amostras de canais radiculares, 21 amostras da cavidade oral e 16 amostras não-orais. Não foi observada diferença estatística entre a formação de biofilme e a presença dos genes *asa*, *cylA*, *esp* e *gelE*.

Foschi et al.²⁷ (2005) constataram a presença de *E. faecalis* por PCR em periodontites apicais aguda, crônica e exacerbada. Dos casos estudados, 71% estavam associadas a infecções endodônticas primárias e 29% relacionadas a infecções endodônticas recorrentes.

Figdor et al.²⁶ (2003) demonstraram a capacidade de *E. faecalis* em manter-se viável nos canais radiculares, podendo sobreviver aos agentes antimicrobianos utilizados no tratamento endodôntico. Esses microrganismos são capazes de utilizar os nutrientes do soro humano no interior dos canais, potencializando a manutenção de infecções periapicais.

Johnson et al.⁴⁰ (2006) investigaram a coagregação *in vitro* entre amostras clínicas de *E. faecalis* e espécies indutoras de periodontites apicais em macacos: *Peptostreptococcus anaerobius*, *Prevotella oralis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Streptococcus anginosus*. Foi verificada a coagregação entre amostras clínicas de *E. faecalis* e *F. nucleatum*, sugerindo potencial papel desta combinação em infecções endodônticas.

Sedgley et al.⁷³ (2005) verificaram a capacidade de *E. faecalis* sobreviver por longo período de tempo em canais radiculares obturados. Foram utilizados 150 dentes de canais uniradiculares divididos em grupos com adição de gelatinase *E. faecalis* OG1-S e gelatinase defectiva *E. faecalis* OG1-X. Foi verificado que as amostras de *E. faecalis*

permaneceram viáveis por até 12 meses *ex vivo*. Os autores ainda verificaram que não houve diferença estatística na produção de gelatinase.

Vários estudos vêm analisando a ação antimicrobiana do hidróxido de cálcio (APPELBE e SEDGLEY⁴, 2007; KAUFMAN et al.⁴², 2005; KAYAOGLU e ORSTAVIK⁴³, 2004; EVANS et al.²³, 2002). Seu mecanismo de ação parece ocorrer através de um sistema de bomba de prótons, mantendo níveis ótimos do pH citoplasmático (KAYAOGLU e ORSTAVIK⁴³, 2004). Kayaoglu e Orstavik⁴³ (2004) verificaram ainda que um aumento no pH até 8,5, pode aumentar a adesão de *E. faecalis* ao colágeno *in vitro*, podendo este ser o fator de predominância desse microrganismos em infecções persistentes.

Appelbe e Sedgley⁴ (2007) analisaram os efeitos da exposição prolongada de amostras de *E. faecalis* a pH 7, 10, 11 e 12 a 25-37°C por 1 semana. A sobrevivência dos microrganismos no *baseline* e após 1 h em pH alcalino foi de 1% (pH 10), 0,001% (pH 11) e 0,00001% (pH 12).

3 PROPOSIÇÃO

Enterococcus spp. são considerados microrganismos oportunistas (MARRA et al.⁵², 2007) e sua presença na cavidade bucal pode ser um fator de risco para doenças sistêmicas (DAHLÈN¹⁸, 1993), assim o estudo desta prevalência em grupos com doenças debilitantes é de extrema importância. Na literatura, no entanto, não existem dados a respeito da prevalência de *Enterococcus* spp. na cavidade bucal de indivíduos controle.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a prevalência e suscetibilidade aos antibióticos de *Enterococcus* spp. isolados da cavidade bucal de indivíduos dos diferentes grupos etários.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos

Esta pesquisa seguiu as determinações das resoluções 196/96 e 251/97 do Conselho Nacional de Saúde que estabelece as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos, sendo que o projeto de pesquisa foi submetido e aprovado ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP sob o número 060/2006-PH/CEP (ANEXO A)

Os indivíduos ou responsáveis que concordaram em participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A) e posteriormente preenchido uma ficha clínica (APÊNDICE B).

4.2 Critérios de inclusão

Foram incluídos no presente estudo 240 indivíduos, divididos em 5 grupos de acordo com a faixa etária: 50 indivíduos entre 4 a 11 anos; 50 indivíduos entre 12 a 17 anos; 50 indivíduos entre 18 a 34 anos, 50 indivíduos entre 35 a 59 anos e 40 indivíduos acima de 60 anos. Os indivíduos foram selecionados dentre os pacientes em tratamento nas

clínicas da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP, Casa do Idoso de São José dos Campos-SP, Unidade Básica de Saúde de São José dos Campos - SP Centro II, Universidade da Terceira Idade – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP, asilo Lar Frederico Ozanan de Jacareí-SP.

4.3 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo indivíduos diabéticos, gestantes, fumantes, edêntulos totais, indivíduos sob tratamento com fármacos que interferem sobre a composição salivar (FEIO e SAPETA²⁵, 2005), pacientes usuários de prótese total, prótese parcial removível ou aparelhos ortodônticos. Foram também excluídos indivíduos que tenham sido submetidos à antibioticoterapia ou uso de antisépticos bucais nos últimos 45 dias.

4.4 Coleta das amostras

A coleta de material da cavidade bucal foi realizada por meio de 10 ml de solução fisiológica esterilizada (NaCl a 0,85%) tamponada com fosfato (PBS 0,1M e pH 7,4) contida em um recipiente universal estéril descartável. Os indivíduos realizaram bochecho com a solução durante um minuto, devolvendo em seguida a solução para o mesmo recipiente.

Os recipientes foram mantidos em uma bolsa térmica com

gelo até serem transportados para o laboratório de Microbiologia da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP, respeitando-se o período máximo de 3 h entre a coleta e o processamento das amostras.

4.5 Processamento das amostras

As amostras de enxágüe bucal foram centrifugadas por 10 minutos a 8.000xg e o sobrenadante foi descartado. O depósito foi ressuspenso em 2,5ml de PBS e misturado em agitador de tubos (Vortex) por 30 segundos, produzindo assim a suspensão de concentração final.

De cada amostra foi semeado 0,1ml em duplicata em placas de Petri contendo Enterococcosel Agar (BBL, França). As placas foram incubadas a 37^o C por um período de 24 h. A alíquota excedente de enxágüe bucal foi esterilizada e descartada.

Após o crescimento, as colônias foram examinadas quanto às características morfológicas (pequena, marrom, brilhante e com halo pigmentado) foram contadas obtendo-se o valor de unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/ml) de enxágüe bucal. (KONEMAN et al.⁴⁵, 2008) (FIGURA 1). Foram realizados esfregaços em lâminas e corados pelo método de Gram para cada colônia com morfologia diferente. Para obtenção de culturas puras foram realizados os seguintes procedimentos: as colônias sugestivas foram semeadas em *Tryptic Soy Broth* (TSB – Difco, Detroit, USA) e incubadas por 24 h a 37°C.



FIGURA 1 – Morfologia de colônias sugestivas de *Enterococcus* spp. em ágar Enterococcosel.

A seguir, uma alíquota de 0,1ml foi inoculada em 2ml de BHI-glicerol (20%), incubadas por 24 h a 37°C e as culturas foram mantidas em congelador a -20° C até a realização dos testes posteriores.

4.6 Identificação das amostras

As culturas puras foram semeadas em ágar Columbia acrescido de sangue a 10% (Difco, Detroit, USA) e incubadas por 24 h a 37°C, e em seguida identificadas utilizando o sistema API 20 *Strep* (Bio-Merieux, França), de acordo com as instruções do fabricante (FIGURA 2). Foi preparada uma suspensão em 3ml de água destilada esterilizada, padronizada na escala 0,5MacFarland (Bio-Merieux, França). A

suspensão então foi inoculada nas galerias do Kit de Identificação API 20 Strep. Para alguns testes foi adicionado à suspensão API GP Medium (Bio-Merieux, França) e posteriormente inoculadas nos respectivos tubos. Para as condições de anaerobiose necessárias em alguns testes, foi adicionado óleo de parafina na parte superior das respectivas cúpulas dos tubos. As galerias foram incubadas a 37°C e a leitura realizada em duas etapas após 4 e 24 h de incubação. A leitura dos testes foi realizada consultando o quadro de leitura fornecido no manual do kit. Após 4 h de incubação, os resultados foram anotados em formulário próprio do kit.

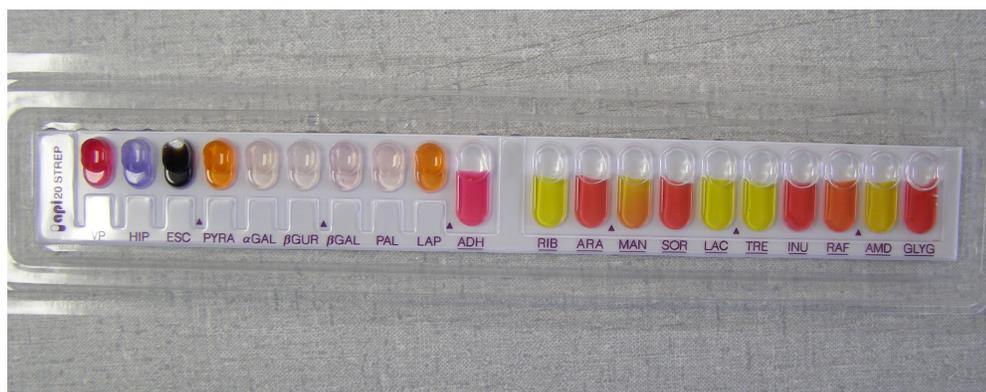


FIGURA 2 – Kit de identificação API 20 strep (Biomérieux, França)

Alguns testes necessitaram ser revelados por meio da adição de reagentes e a leitura dos resultados foi realizada após 10 minutos da adição do mesmo. Após a primeira leitura, as galerias foram retornadas a estufa a 37°C até completar 24 h de incubação. Após esse período foi realizada a leitura dos demais testes. Os resultados apresentados em código numérico foram inseridos no programa APIWEB[®] que codifica a espécie testada pelo programa de identificação fornecido pela empresa, sendo adotada como porcentagem aceitável de identificação valor acima de 75%.

4.7 Testes de suscetibilidade aos antibióticos

A concentração mínima inibitória (CIM) dos antimicrobianos foi determinada de acordo com metodologia CLSI¹⁵ (2003). Os antimicrobianos foram esterilizados por filtração (Membrana filtrante Millipore - 0,22 μ m) e adicionados ao meio Müller-Hinton (Difco, Detroit, USA). Foram preparadas séries de placas contendo concentrações de cada antimicrobiano, em diluições seqüenciais com concentrações entre 1 μ g/ml e 64 μ g/ml. As cepas bacterianas identificadas foram semeadas com o auxílio de replicador de Steers e incubadas a 37°C por 24h. A leitura foi feita pela observação de presença ou ausência de crescimento de colônias na superfície do ágar, determinando-se o valor da concentração inibitória mínima (CIM). Foi avaliada a sensibilidade dos isolados aos antimicrobianos amoxicilina, ampicilina, tetraciclina, vancomicina, ciprofloxacina, cloranfenicol, gentamicina e eritromicina (TABELA 1). Os resultados dos testes de suscetibilidade aos antimicrobianos foram expressos como intervalos de variação entre os valores mínimos e máximos de CIM para cada espécie e também como valores de CIM₅₀ e CIM₉₀, que representam respectivamente a inibição de 50% e 90% dos isolados em cada grupo.

4.8 Análise dos dados

Para análise de diferenças de unidades formadoras de colônias por mililitro entre os grupos etários, foi utilizado os testes ANOVA Kruskal-Wallis e Teste Dunn (5%).

Para comparação entre os gêneros masculinos e femininos, foi utilizado o teste de qui-quadrado. Entretanto foi utilizado os testes ANOVA Kruskal-Wallis e Teste Dunn (5%) para comparação entre as faixas etárias num mesmo gênero.

Para a análise da distribuição de *Enterococcus faecalis* e amostras não-enterococos por faixa etária foi utilizado análise de proporção de qui-quadrado.

Tabela 1 – Apresenta os normas interpretativas do teste da concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$) para os antibióticos testados.

	Sensível	Intermediário	Resistente
Cloranfenicol	≤ 8	16	≥ 32
Eritromicina	$\leq 0,5$	1-4	≥ 8
Amoxicilina	≤ 8	-	≥ 16
Ampicilina	≤ 8	-	≥ 16
Tetraciclina	≤ 4	8	≥ 16
Vancomicina	≤ 4	8 -16	≥ 32
ciprofloxacina*	-	-	-
Gentamicina*	-	-	-

* Não existe normas interpretativas para o antibiótico para a avaliação no CLSI¹⁵ (2003).

5 RESULTADOS

Considerando a população total analisada (n=240), foram observados que 16,6% dos indivíduos foram positivos para *Enterococcus* spp. na cavidade bucal com média de 121,73UFC/ml.

Analisando a população estratificada pela faixa etária, observou-se que 10% dos pacientes de 4-11 anos (média = 88UFC/ml) apresentaram *Enterococcus* spp. na cavidade bucal. Este valor foi de 4% no grupo de pacientes entre 12-17 anos (média = 1UFC/ml), 14% para o grupo de 18-34 anos (média= 3,5UFC/ml), 30% dos pacientes entre 35-59 anos (média = 216UFC/ml) e 25% no grupo acima de 60 anos (média = 224UFC/ml) (FIGURA 3).

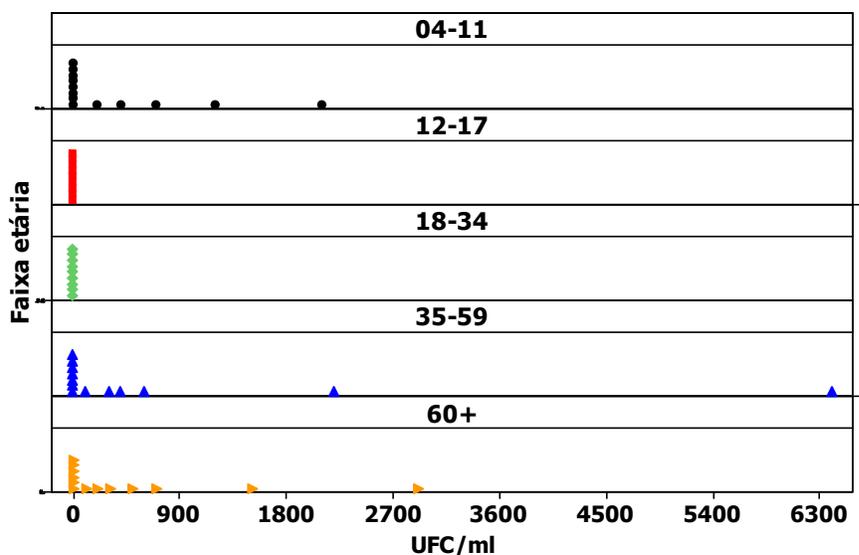


FIGURA 3 – Distribuição das contagens, em unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/ml), observado para cada faixa etária estudada.

A análise descritiva das contagens de unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/ml) de *Enterococcus* spp. para cada grupo está apresentada na Tabela 2.

Tabela 2 – Análise descritiva das contagens de *Enterococcus* spp., expressas em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/ml), observadas para cada faixa etária

	n	média	dp	mediana	mín	máx	coef. var (%)
04 -11 anos	50	88	344,7	0	0	2050	391,73
12-17 anos	50	1	4,949	0	0	25	494,87
18-34 anos	50	3,5	8,76	0	0	25	250,36
35-59 anos	50	216	954	0	0	6425	442,65
60+ anos	40	224	670	0	0	2875	298,81

n - número de pacientes; dp - desvio padrão; mín - mínimo; máx - máximo; coef. var. - coeficiente de variação

Os resultados individuais das contagens de *Enterococcus* spp. a partir dos enxágües bucais, expressos em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/ml), estão apresentados no Apêndice (APÊNDICE).

A comparação dos valores de UFC/ml entre os grupos demonstrou que houve diferença entre os grupos estudados ($p=0,0019$). O teste de Dunn indicou diferença entre o grupo de 12-17 anos em relação aos grupos 35-59 anos ($p=0,0004$) e acima de 60 anos ($p=0,004$).

Analisando a população estudada segundo o gênero, observa-se que 63,33% do grupo feminino ($n=152$) e 36,67% do grupo masculino ($n=88$) foram positivos para *Enterococcus* spp. na cavidade bucal. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre as medianas de UFC/ml observada para os gêneros masculino e feminino ($p=0,3645$).

Comparando-se as diferentes faixas etárias dentro do grupo feminino, observou-se diferença estatisticamente significativa entre os grupos de 12-17 anos e 35-59 anos ($p=0.0031$). Esta diferença não foi detectada entre os grupos etárias do gênero masculino ($p=0,2115$).

Os resultados da distribuição das espécies identificadas nos diferentes grupos etários estão expressos na Tabela 3. Foi observada associação entre espécies de *Enterococcus* spp. em 3 pacientes.

Tabela 3 – Distribuição de cepas de *Enterococcus* observada em cada faixa etária

Faixa etária (anos)	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. durans</i>	<i>E. avium</i>	Total
4 a 11	18	1	0	0	19
12 a 17	1	0	1	0	2
18 a 34	6	2	0	2	10
35 a 59	37	2	8	1	48
60+	30	12	0	2	44
Total	92	17	9	5	123

* sexo: feminino, 152 (63,33%); masculino, 88 (36,67%)

Observou-se maior prevalência de *E. faecalis* em todos os grupos etários estudados ($p=0.000$), seguido de *E. faecium*, *E. durans* e *E. avium*, como observado na FIGURA 4.

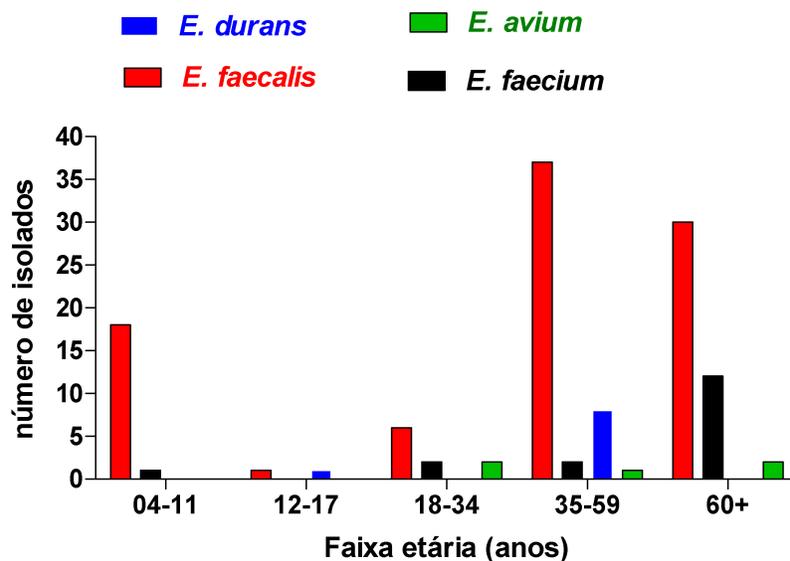


FIGURA 4 – Distribuição de identificação das amostras de *Enterococcus* spp. divididos entre as faixas etárias.

E. faecalis representou 74% de todas amostras identificadas. Porcentuais de 94,73% no grupo de pacientes de 4-11 anos, 50% de 12-17 anos, 60% de 18-34 anos, 77,08% de 35-59 anos e 68,18% acima de 60 anos das amostras de cada grupo foram identificadas como *E. faecalis*.

E. faecium representou 13,82% dos isolados, apresentando maior prevalência no grupo de pacientes acima de 60 anos (27,27%), seguido de 18-34 anos (20%), 4-11 anos (5,26%), 35-59 anos (4,16%) e 12-17 anos, no qual não foi encontrada a referida espécie.

Um total de 7,31% dos isolados clínicos obtidos foi identificado como *E. durans*. O grupo de pacientes entre 12-17 anos apresentou a maior prevalência dessa espécie (50%), seguido de 35-59 anos (16,66%). Os demais grupos não apresentaram esta espécie.

Observou-se menor prevalência de *E. avium* dentre os

isolados clínicos dos pacientes pesquisados, não tendo sido identificado nos grupos de pacientes entre 4-11 anos e 12-34 anos. Observamos prevalência desta espécie de 20% para o grupo de 18-34 anos, 2,27% acima de 60 anos e 2,08% de 35-59 anos.

Os valores de CIM dos isolados de *Enterococcus* spp. testados estão representados na Tabela 6.

A Tabela 4 apresenta os valores de CIM90 e CIM50 dos antibióticos: ciprofloxacina, cloranfenicol, gentamicina, eritromicina, amoxicilina, ampicilina, tetraciclina e vancomicina para o total das amostras de *Enterococcus* spp. avaliadas.

Tabela 4 – Valores de CIM90 e CIM50 dos antibióticos para os isolados de *Enterococcus* spp. avaliados (em µg/ml)

Antibiótico	CIM₉₀	CIM₅₀	Mínimo/Máximo	% Resistentes
ciprofloxacina	>64	16	1 a 64	39,4
cloranfenicol	32	16	1 a 64	2,75
eritromicina	>64	4	1 a 64	16,5
gentamicina	16	16	1 a 64	3,6
amoxicilina	32	2	1 a 64	9,17
ampicilina	16	4	1 a 64	3,6
tetraciclina	.64	16	1 a 64	15,5
vancomicina	8	2	1 a 64	14,6

A Tabela 5 apresenta os valores de CIM90, CIM50 e intervalo de CIM das amostras de *Enterococcus* spp. distribuídas por espécie frente aos antibióticos testados.

Tabela 5 – Valores de CIM90 e CIM50 ($\mu\text{g/ml}$) para cada espécie de *Enterococcus* avaliadas frente aos antibióticos testados

Antibióticos	Espécies			
	<i>E. faecalis</i>	<i>E. durans</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. avium</i>
amoxicilina				
CIM 90	4	8	> 64	16
CIM 50	2	2	2	2
Mínimo/máximo	1 - 64	1 - 8	1 - 64	1 - 16
ampicilina				
CIM 90	4	8	16	8
CIM 50	8	2	8	2
Mínimo/máximo	1 - 64	2 - 8	4 - 16	2 - 8
tetraciclina				
CIM 90	>64	64	> 64	> 64
CIM 50	16	4	4	32
Mínimo/máximo	1 - 64	2 - 64	1 - 64	1 - 64
vancomicina				
CIM 90	64	> 64	64	8
CIM 50	4	1	1	1
Mínimo/máximo	1 - 64	1 - 64	1 - 64	1 - 64
ciprofloxacina				
CIM 90	> 90	> 64	> 64	> 64
CIM 50	32	4	64	4
Mínimo/máximo	2 - 64	4 - 64	1 - 64	4 - 64
cloranfenicol				
CIM 90	32	64	32	8
CIM 50	16	16	16	1
Mínimo/máximo	1 - 64	2 - 64	2 - 64	1 - 64
eritromicina				
CIM 90	> 64	> 64	> 64	> 64
CIM 50	4	1	8	8
Mínimo/máximo	1 - 64	1 - 64	1 - 64	4 - 64
gentamicina				
CIM 90	16	16	32	8
CIM 50	16	8	16	4
Mínimo/máximo	1 - 64	1 - 16	1 - 64	4 - 8

Os percentuais dos isolados de cada espécie de *Enterococcus* classificados como sensíveis, intermediários ou resistentes estão representados nos gráficos abaixo. Não foram realizadas interpretações para os antimicrobianos ciprofloxacina e gentamicina por não apresentarem pontos de corte definidos pelo CLSI¹⁵ (2003) para esta metodologia.

A FIGURA 5 representa os percentuais dos isolados quanto a sua suscetibilidade pela classificação no CLSI¹⁵ (2003) para *E. faecalis*. Podemos observar que 75% das amostras de *E. faecalis* testadas foram sensíveis para vancomicina, 13% intermediárias e 12% resistentes. Para amoxicilina, 84% das amostras foram sensíveis e 16% apresentou resistência a este fármaco. Um total de 82% das amostras foram sensíveis e 18% resistentes à ampicilina. Para tetraciclina, observou-se que 33% das amostras foram sensíveis, 13% intermediárias e 54% resistentes. Um total de 12% das amostras foram sensíveis ao cloranfenicol, 68% apresentaram como intermediárias e 20% das cepas foram resistentes ao fármaco. Foi observado que 54% das amostras testadas de *E. faecalis* apresentaram nível intermediário e 46% resistentes à eritromicina. Ciprofloxacina e Gentamicina não foram testadas.

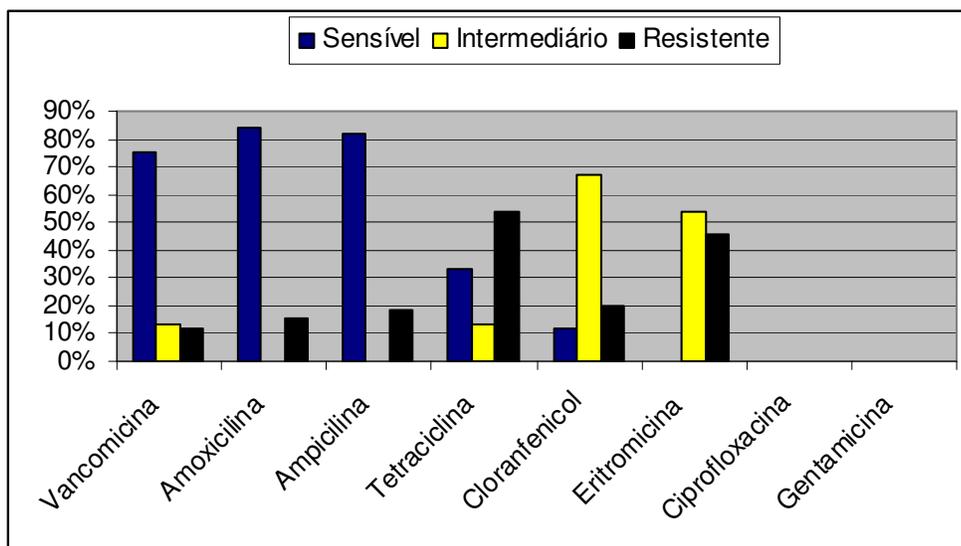


FIGURA 5 – Classificação em Sensível, Intermediário e Resistente de acordo com os pontos de corte do CLSI¹⁵ (2003) para *Enterococcus faecalis*.

A FIGURA 6 apresenta os resultados de suscetibilidade obtidos para *E. faecium*. Sessenta e nove por cento das amostras apresentaram sensíveis a vancomicina, 6% intermediário e 25% das

amostras apresentam resistência ao fármaco. Para o teste com amoxicilina, 94% e 6% das amostras foram respectivamente sensíveis e resistentes aos testes de suscetibilidade. Um total de 63% das amostras foram sensíveis e 37% foram resistentes à ampicilina e tetraciclina. Seis por cento das amostras foram sensíveis ao cloranfenicol, 75% intermediário e 10% resistentes. Para eritromicina, 44% dos isolados apresentaram suscetibilidade de nível intermediário e 56% resistentes a essa droga.

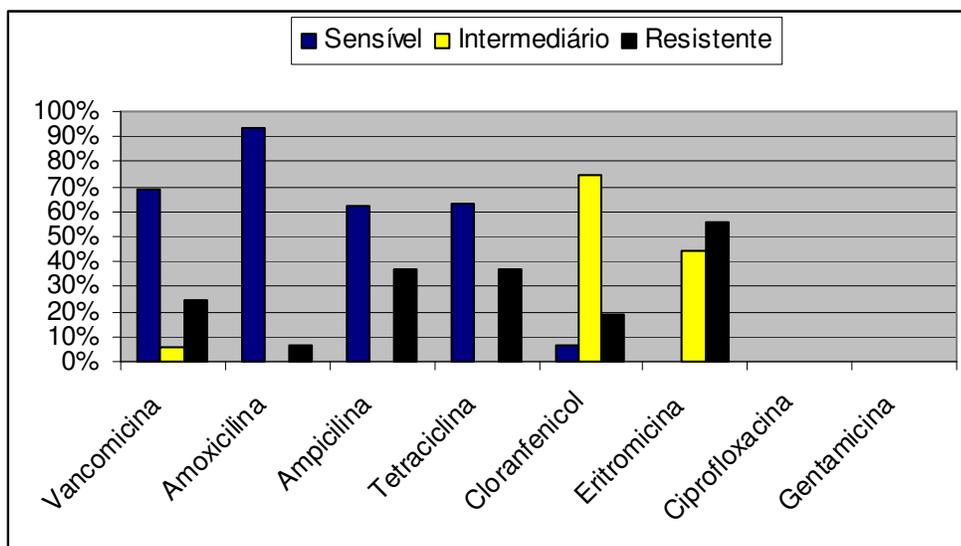


FIGURA 6 – Classificação em Sensível, Intermediário e Resistente de acordo com os pontos de corte do CLSI¹⁵ (2003) para *Enterococcus faecium*.

A FIGURA 7 apresenta os resultados obtidos para *E. avium*. Para o teste de suscetibilidade de *E. avium* frente à vancomicina, foi observado que 75% das amostras se apresentaram sensíveis a esse fármaco e 25% sensibilidade de nível intermediário. Setenta e cinco por cento das amostras foram sensíveis e 25% resistentes à amoxicilina. Todas as amostras (100%) foram resistentes à ampicilina. Para o teste frente à tetraciclina foi observado que 25% de *Enterococcus avium* foram sensíveis ao fármaco e 75% foram resistentes. Para as amostras de

Enterococcus avium frente ao cloranfenicol, foi observada que 50% das amostras foram sensíveis e os outros 50%, resistentes ao fármaco. Um total de 75% dos isolados foram resistentes e 25% de sensibilidade de nível intermediário à eritromicina.

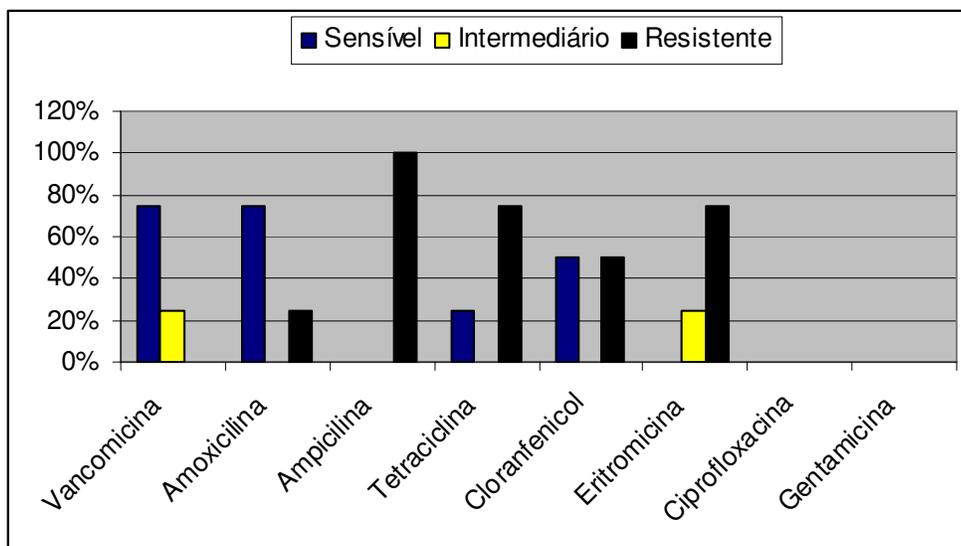


FIGURA 7 – Classificação em Sensível, Intermediário e Resistente de acordo com os pontos de corte do CLSI¹⁵ (2003) para *Enterococcus avium*.

A FIGURA 8 apresenta os resultados para *E. durans*. Os testes de suscetibilidade à vancomicina mostraram que 83% das amostras foram sensíveis e 17% resistentes a esse fármaco. Todas as amostras testadas foram sensíveis à amoxicilina e resistentes à ampicilina. Cinquenta por cento das amostras de *E. durans* foram sensíveis à tetraciclina e 50% resistentes. Podemos observar que 17% das amostras de *E. durans* foram sensíveis para cloranfenicol, 50% intermediário e 33% resistente ao fármaco testado. Oitenta e três por cento das amostras apresentaram sensibilidade intermediária à eritromicina e 17% apresentou resistência ao fármaco.

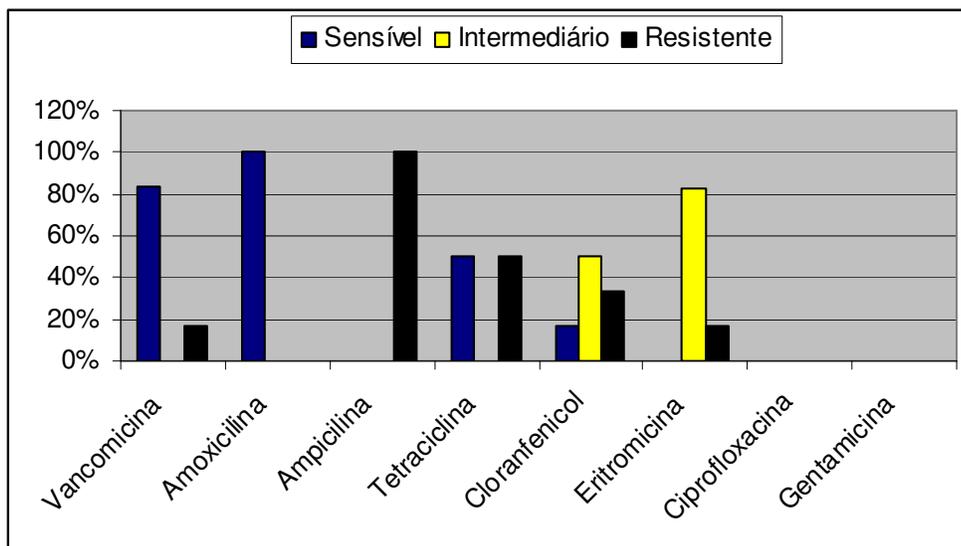


FIGURA 8 – Classificação em Sensível, Intermediário e Resistente de acordo com os pontos de corte do CLSI¹⁵ (2003) para *Enterococcus durans*.

6 DISCUSSÃO

A presença de microrganismos oportunistas na cavidade bucal pode ser um fator de risco para doenças sistêmicas (DAHLÈN¹⁸, 1993), particularmente em pacientes imunocomprometidos. Garcia-Garrote et al.³² (2000) e Butler¹⁰ (2006) relataram que esses microrganismos estão relacionados com sérias infecções do peritônio, podendo ainda causar septicemias, endocardites e meningites. Sakamoto et al.⁶⁸ (1999) relataram que linfonodos cervicais de pacientes com câncer bucal apresentaram infecção por *Enterococcus* spp..

Enterococcus spp. são considerados microrganismos oportunistas (MARRA et al.⁵², 2007). Possuem a capacidade de sobreviver em ambientes desfavoráveis à maioria de outros microrganismos, suportando altas temperaturas, exposição a alguns anti-sépticos e consegue sobreviver por longo período de tempo em superfícies inanimadas (BUTLER¹⁰, 2006). Contudo, poucos estudos analisaram a prevalência de *Enterococcus* spp. na cavidade bucal.

Sedgley et al.⁷⁷ (2006), estudando uma população de 21 pacientes sob tratamento odontológico na Faculdade de Odontologia da Universidade de Michigan, verificaram que maior número de pacientes com gengivite ou periodontite apresentavam *E. faecalis* em relação a pacientes com periodonto saudável. Em outro estudo, Sedgley et al.⁷³ (2005) verificaram que *E. faecalis* estava presente na cavidade bucal de 11% de pacientes sob tratamento endodôntico e em 1% dos estudantes de Odontologia sem história de tratamento endodôntico anterior. Chomicz et al.¹³ (2004) verificaram maior prevalência de *Enterococcus* spp. na

cavidade bucal de pacientes portadores de diabetes *mellitus* insulino-dependentes (n=15) (60%), quando comparados a pacientes controle (n=15) (6,6%).

Enterococos têm sido frequentemente associados com infecções nosocomiais e isto pode ser atribuído à sua característica de sobreviver em ambientes hostis (SEDGLEY et al.⁷³, 2005). Por outro lado, a resistência de espécies de *Enterococcus* a diversos antimicrobianos, em particular a vancomicina, tem sido citada na literatura como um problema crescente (RICE⁶⁴, 2001, COLERI et al.¹⁶, 2004; MASCHIETTO et al., 2004; FRANZETTI et al.³⁰, 2004; WERNER et al.⁹⁰, 2007).

Assim, o presente estudo foi delineado visando contribuir para o conhecimento da presença de *Enterococcus* spp. na cavidade bucal, analisando indivíduos pertencentes a diferentes faixas etárias. No planejamento do projeto, objetivou-se analisar indivíduos controle para condições bucais e sistêmicas, já que a literatura carece de informações que sirvam como base para estudos em pacientes com condições predisponentes para infecções oportunistas. Outrossim, objetivou-se analisar a suscetibilidade aos antimicrobianos propostos pelo CLSI¹⁵ (2003) dos isolados obtidos, com o intuito de verificar-se a possibilidade da cavidade bucal ser um reservatório de amostras resistentes aos antimicrobianos.

Vários estudos utilizaram métodos moleculares para a detecção específica de *E. faecalis* (ZOLETTI et al.⁹⁶, 2006; FOUAD et al.²⁸, 2005; FOSCHI et al.²⁷, 2005). Sedgley et al.⁷⁷ (2006) analisaram por PCR a presença de *E. faecalis* em vários sítios na boca incluindo sulco gengival e canais radiculares, verificando maior prevalência em ventre de língua e mucosa jugal de pacientes adultos. Porém, *E. faecium* tem sido citada como patógeno humano relacionado com infecções nosocomiais

tais como em casos de endocardite, bacteriemia e infecções do trato urinário (FRANZETTI et al.³⁰, 2004). Assim, a pesquisa de outras espécies não-*faecalis* de enterococos é de importância crescente.

Para que o objetivo do presente estudo fosse contemplado, em particular no estudo da suscetibilidade aos antimicrobianos e a presença de outras espécies de *Enterococcus*, adotou-se o método de cultura de enxágües bucais. A coleta de amostra bucal clínica foi realizada segundo preconizado por Samaranayake et al.⁶⁹ (1998). Estes autores sugerem o uso desta técnica para obtenção de um *screening* microbiológico da cavidade bucal, o que vem de encontro com o objetivo deste estudo.

Para o estabelecimento do protocolo a ser utilizado para o isolamento de amostras sugestivas de *Enterococcus* spp. foram testados os seguintes meios de cultura: ágar bile esculina (Himedia, Índia), ágar m *Enterococcus* (Difco, Detroit, USA) e ágar *Enterococcosel* (BD, França). Amostras de enxágüe bucal foram semeadas nos três meios de cultura simultaneamente para a verificação do crescimento.

O ágar bile esculina apresentou somente colônias brancas e pequenas, sendo que algumas destas colônias desenvolviam halo marrom em ágar *Enterococcosel*. O mesmo ocorreu com o ágar m *Enterococcus*, onde se desenvolvia somente colônias pequenas e idênticas. Assim, concluiu-se que estes não diferenciavam de forma satisfatória colônias sugestivas de enterococos a partir da amostra de enxágüe bucal.

Diversos testes bioquímicos, tais como reações de fermentação, hidrólise de pirrolidonil- β -naftilamida (PYR), motilidade, produção de pigmentos, são necessários para diferenciar as espécies de

Enterococcus (ANDRÉ et al.², 2005; KONEMAN et al.⁴⁵, 2008). Segundo Winston et al.⁹² (2004), os métodos tradicionais para identificar espécies de *Enterococcus* são dispendiosos em custo, tempo e esforços, assim, o sistema API 20 Strep foi selecionado para a identificação dos isolados por ser um método mais rápido, dispensando a padronização dos diversos testes necessários à identificação. Sedgley et al.⁷⁴ (2004) também utilizaram crescimento em ágar 6,5% NaCl a 42°C associado ao API 20 Strep para identificação dos isolados. Estudos anteriores (GARCIA-GARROTE et al.³², 2000; MIHAILA-AMROUCHE et al.⁵⁵, 2004; SADER et al.⁶⁷, 1995) relataram que o sistema API 20 Strep possui grande acurácia na identificação de *Enterococcus*.

O valor médio obtido para as contagens de *Enterococcus* spp. considerando a população total de indivíduos positivos para o microrganismo na cavidade bucal foi de 121,73UFC/ml. Este valor foi bastante inferior ao observado por Sedgley et al.⁷⁴ (2004) de 1×10 a 6×10^3 UFC/ml. Esta diferença pode estar associada às diferenças na composição da população positiva para o gênero (11 pacientes sob tratamento endodôntico e 1 estudante de Odontologia) e o meio de cultura utilizado (ágar bile esculina). Além disso, observa-se na metodologia do estudo que pacientes portadores de próteses não foram excluídos, o que também pode ter contribuído para a observação de contagens mais elevadas. A metodologia para coleta clínica foi a mesma utilizada em ambos os estudos (enxágüe bucal). Por outro lado, nossos dados concordam com este mesmo grupo (SEDGLEY et al.⁷³, 2005) em estudo posterior que relataram contagens de 30 a 240UFC/ml a partir de enxágües bucais obtidos de pacientes sob tratamento endodôntico.

A literatura relata que a maior parte das infecções por *Enterococcus* spp. origina-se da microbiota normal do intestino do paciente, embora possam também ser transferidos de paciente para

paciente ou adquiridos através do consumo de água ou alimentos contaminados (BLANCH et al.⁸, 2003; LINDEN e MILLER⁵⁰, 1999; ANDRÉ et al.², 2005; MIRANDA et al.⁵⁶, 2005; PETERSEN e DALSGAARD⁶¹, 2003). Araya et al.⁵ (2005) e Miranda et al.⁵⁶ (2005) relataram que cepas de *Enterococcus* spp. resistentes aos antimicrobianos, podem ser transmitidas através da alimentação, levando à ocorrência de doenças. O leite contém microrganismos de importância na Saúde Pública, destacando-se *E. faecalis* e *E. faecium*. Essas bactérias são resistentes ao calor e podem resistir a processos de pasteurização do leite (ARAYA et al.⁵, 2005). Porém, ainda não existem estudos conclusivos sobre a origem dos enterococos presentes na cavidade bucal. Nos resultados obtidos, observou-se que houve maior número de indivíduos positivos para *Enterococcus* spp. acima dos 35 anos, seguido por crianças de 4 a 11 anos. Baseando-se na hipótese de que enterococos são originários do consumo de água ou alimentos contaminados, podemos inferir que quanto maior a idade, maior a possibilidade de o indivíduo ter contato e ser colonizado por esses microrganismos. Na população infantil, pode-se sugerir contaminação por meio das mãos ou pelo maior consumo de leite por indivíduos desta faixa etária. A menor prevalência na faixa etária 13-17 e 18-34 anos é um resultado que merece maior investigação.

E. faecalis foi a espécie mais frequentemente isolada em todos os grupos estudados e este resultado está de acordo com Butler¹⁰ (2006) que relatou que *E. faecalis* e *E. faecium* são as espécies mais prevalentes e juntas correspondem mais de 80% dos isolados clínicos. Não existem resultados anteriores com indivíduos de diferentes faixas etárias para que seja possível comparação da prevalência das espécies por idade.

Poucos estudos avaliaram a suscetibilidade aos antimicrobianos de isolados bucais. Sedgley et al.⁷⁴ (2004) analisaram

isolados provenientes de dentes endodonticamente comprometidos e verificaram que os isolados foram sensíveis à ampicilina, penicilina, gentamicina e vancomicina. Apenas 2 isolados foram resistentes à tetraciclina. Em nosso estudo, observou-se porcentual mais elevado de amostras resistentes, sendo 12% para vancomicina, 16% para amoxicilina, 54% tetraciclina, 18% para ampicilina, 20% para cloranfenicol e 46% para eritromicina. Chai et al.¹² (2007) verificaram a susceptibilidade de *E. faecalis* do biofilme dental para antibióticos e hidróxido de cálcio, e os resultados revelaram que hidróxido de cálcio, eritromicina e oxitetraciclina foram totalmente eficientes, eliminando *E. faecalis* presente no biofilme depois de 1 h de exposição. Por outro lado, a ampicilina, a cotrimoxazol, a vancomicina e a vancomicina seguida de gentamicina foram incapazes de erradicar totalmente as bactérias presentes no biofilme. Nossos dados sugerem que a cavidade bucal pode ser um reservatório de enterococos resistentes a antibióticos, o que pode ter importante implicação clínica em pacientes imunocomprometidos.

Em Odontologia, espécies de *Enterococcus* são associadas com quadros de doenças endodônticas e periapicais (FOUAD et al.²⁸, 2005; DUGGAN e SEDGLEY²⁰, 2007; FOSCHI et al.²⁷, 2005; FIGDOR et al.²⁶, 2003; JOHNSON et al.⁴⁰, 2006; APPELBE e SEDGLEY⁴, 2007; KAUFMAN et al.⁴², 2005; KAYAOGLU e ORSTAVIK⁴³, 2004; EVANS et al.²³, 2002; SEDGLEY et al.⁷³, 2005; SEDGLEY⁷⁸, 2007). A associação de *Enterococcus* spp. com casos de insucesso da terapia endodôntica, assim como a resistência aos medicamentos utilizados nos procedimentos também são citados na literatura. Gomes et al.³³ (2004), analisaram sistema de canais radiculares em dentes com necrose pulpar associados à falhas no tratamento endodôntico. Os autores verificaram que a taxa de insucesso deve-se a predominância de bactérias anaeróbias facultativas Gram-positivas, especialmente *E. faecalis*. Estudos *in vitro* demonstram que esses microrganismos podem

permanecer viáveis no sistema de canais radiculares por 12 meses (SEDGLEY et al.⁷⁵, 2005). Fouad et al.²⁸ (2005) relataram a prevalência de 27% a 56% de *E. faecalis* em culturas de casos resistentes a terapias endodônticas. Zoletti et al.⁹⁶ (2006) verificaram que *E. faecalis* estão freqüentemente presentes em infecções endodônticas secundárias e lesões periapicais. *E. faecalis* apresentam resistência aos efeitos antimicrobianos do hidróxido de cálcio, medicamento freqüentemente empregado na terapia endodôntica (EVANS et al.²³, 2002; APPELBE e SEDGLEY⁴, 2007). Kayaoglu e Orstavik⁴³ (2004) sugeriram que o pequeno aumento de pH de até 8,5, que pode ser resultante do uso de medicação alcalina como o hidróxido de cálcio, aumenta a habilidade de adesão de *E. faecalis* ao colágeno *in vitro* e este pode ser o mecanismo crítico pelo qual este microrganismo pode persistir em infecções endodônticas. Assim, pretende-se em estudos futuros, avaliar também a suscetibilidade dos isolados a medicamentos empregados na terapia endodôntica.

7 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, concluiu-se que:

- a) 16,6% dos indivíduos estudados foram positivos para *Enterococcus* spp. na cavidade bucal;
- b) Maior número de indivíduos acima de 35 anos foram positivos para *Enterococcus* spp. na cavidade bucal;
- c) Não foi observada diferença entre a prevalência de *Enterococcus* spp. na cavidade bucal de indivíduos do gênero feminino e masculino;
- d) Do total de isolados de *Enterococcus* spp., 12% foram resistentes à vancomicina, 16% à amoxicilina, 54% à tetraciclina, 18% à ampicilina, 20% à cloranfenicol e 46% à eritromicina.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

1. Agência Folha. Risco de infecção hospitalar prejudica UTI em Pernambuco. Folha Online. 2007 Aug [acesso 2007 nov 07] Disponível em: <http://www1.folha.uol.com.br/folha/cotidiano/ult95u320100.shtml>
2. André P, Metzger C, Petey S, Muller D, Vidon DJM. Chemiluminescence of enterococci isolates from freshwater. FEMS Microbiol Lett. 2005; 245:123-9.
3. APECIH – Enterococo resistente aos glicopeptídeos. Local: Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar; 1999, p.1-2.
4. Appelbe OK, Sedgley CM. Effects of prolonged exposure to alkaline pH on *Enterococcus faecalis* survival and specific gene transcripts. Oral Microbiol Immunol 2007;22:169-74.
5. Araya M, Davidovich G, Chaves C, Arias ML. Identificación de *Enterococcus* sp. en muestras de leche cruda del Área Metropolitana de Costa Rica y evaluación del patrón de sensibilidad a antibióticos. Arch Latinoam Nutr 2005;2:161-6.

* Baseado em:
International Committee of Medical Journal Editors. Bibliographic Services Division. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals: simple references [homepage na Internet]. Bethesda: US Nacional Library; c2003 [disponibilidade em 2008 fev; citado em 05 jun.]. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.

6. Beachey EH, Stollerman GH, Johnson RH, Ofek I, Bisno AL. Human immune response to immunization with a structurally defined polypeptide fragment of streptococcal M protein. *J Exp Med.* 1979;150(4):862-77.
7. Bergmann OJ. Alterations in oral microflora and pathogenesis of acute oral infections during remission-induction therapy in patients with acute myeloid leukaemia. *Scand J Infect Dis.* 1991;23:355-66.
8. Blanch AR, Caplin JL, Iversen I, Kühn I, Manero A, Taylor HD, et al. Comparison of enterococcal populations related to urban and hospital wastewater in various climatic and geographic European regions. *J Appl Microbiol.* 2003;94:994-1002.
9. Bonten MJM, Hayden MK, Nathan C, Vanvoorhis J, Matushek M, Slaughter S et al. Epidemiology of colonization of patients and environment with vancomycin-resistant enterococci. *Lancet.* 1996, 348:1615-9.
10. Butler KM. Enterococcal infection in Children. *Semin Pediatr infec dis.* 2006;17:128-39.
11. Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin resistant enterococci. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13:686-707.
12. Chai WL, Hamimah H, Cheng SC, Sallam AA, Abdullah M. Susceptibility of *Enterococcus faecalis* biofilm to antibiotics and calcium hydroxide. *J Oral Sci.* 2007;49(2):161-6.
13. Chomicz L, Szubinska D, Piekarczyk J, Wojtowicz A, Piekarczyk B, Starosciak B et al. Occurrence of subclinical infections of the oral cavity in the insuline treated diabetics. *Wiad Parazytol.* 2004; 50(2):177-80.
14. Chow JW, Thal LA, Perri MB, Vazquez JA, Donabedian SM, Clewell DB, et al. Plasmid-associated hemolysin and aggregation substance production contributes to virulence in experimental enterococcal endocarditis. *Antiomicrob Agents Chemother.* 1993;37:2472-7.

15. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactéria de crescimento aeróbio. 6 ed. NCCLS documento M7-A6. Pennsylvania: NCCLS; 2003.
16. Coleri A, Cokmus C, Ozcan B, Akcelik M, Tukul C. Determination of antibiotic resistance and resistance plasmids of clinical *Enterococcus* species. *J Gen Appl Microbiol*. 2004;50:213-9.
17. Colodner R, Eliasberg T, Chazan B, Raz R. Clinical significance of bacteriuria with low colony counts of *Enterococcus* species. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2006;25:238-41.
18. Dahlèn G. Role of suspected periodontopathogens in microbiological monitoring of periodontitis. *Adv Dent Res*. 1993;7(2):163-74.
19. Dajani AS. Prevention of bacterial endocarditis: highlights of the latest recommendations by the American Heart Association. *Pediatr Infect Dis J*. 1998;17(9):824-5.
20. Duggan JM, Sedgley CM. Biofilm formation of oral and endodontic *Enterococcus faecalis*. *JOE*. 2007;33(7):815-8.
21. Eaton TJ, Gasson MJ. Molecular screening of *Enterococcus* virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates. *Appl Environ Microbiol*. 2001;67(4):1628-35.
22. Engelbert M, Mylonakis E, Ausubel FM, Calderwood SB, Gilmore MS. Contribution of gelatinase, serine protease, and *fsr* to the pathogenesis of *Enterococcus faecalis* endophthalmitis. *Infect Immun*. 2004;72(6):3628-33.
23. Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J*. 2002;35:221-8.

24. Facklam RR, Carvalho MGS, Teixeira LM. History, taxonomy, biochemical characteristics and antibiotics susceptibility testing of Enterococci. In: Gilmore, MS (Ed.) The enterococci: pathogenesis, molecular biology, and antibiotic resistance. Washington: AMS Press; 2002.
25. Feio M, Sapeta P. Xerostomia em cuidados paliativos. Acta Med Port. 2005;18:459-66.
26. Figdor D, Davies JK, Sundqvist G. Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. Oral Microbiol Immunol. 2003;18(4):234-9.
27. Foschi F, Cavrini F, Montebugnoli L, Stashenko P, Sambri V, Prati C. Detection of bacteria in endodontic samples by polymerase chain reaction assays and association with defined clinical signs in Italian patients. Oral Microbiol Immunol. 2005;20(5):289-95.
28. Fouad AF, Zerella J, Barry J, Spångberg LS. Molecular detection of *Enterococcus* species in root canals of therapy-resistant endodontic infections. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2005;99:122-8.
29. Fracalanza SA, Scheidegger EM, Santos PF, Leite PC, Teixeira LM. Antimicrobial resistance profiles of enterococci isolated from poultry meat and pasteurized milk in Rio de Janeiro, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2007;102(7):853-9.
30. Franzetti L, Pompei M, Scarpellini M, Galli A. Phenotypic and genotypic characterization of *Enterococcus* spp. of different origins. Cur Microbiol. 2004;49:255-60.
31. Furtado GH, Martins ST, Coutinho AP, Wey SB, Medeiros EA. Prevalence and factors associated with rectal vancomycin-resistant enterococci colonization in two intensive care units in São Paulo, Brazil. Braz J Infect Dis. 2005;9(1):64-9.

32. Garcia-Garrote F, Cercenado E, Bouza E. Evaluation of a new system VITEK 2, for identification and antimicrobial susceptibility testing Enterococci. *J Clin Microbiol.* 2000;38(6):2108-11.
33. Gomes BPFA, Pinheiro ET, Gadê-Neto CR, Souza ELR, Ferraz CCR, Zaia AA, et al. Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol.* 2004;19:71-6.
34. Graninger W, Ragette R. Nosocomial bacteremia due to *Enterococcus faecalis* without endocarditis. *Clin Infect Dis.* 1992;15:49-57.
35. Gullberg RM, Homann SR, Phair JP. Enterococcal bacteremia: analysis of 75 episodes. *Rev infect Dis.* 1989;11:74-85.
36. Huycke MM, Gilmore MS. In vivo survival of *Enterococcus faecalis* is enhanced by extracellular superoxide production. *Adv Exp Med Biol.* 1997;418:781-4.
37. Iversen A, Kuhn I, Rahman M, Franklin A, Burman KG, Olsson-Liljequist B, et al. Evidence for transmission between humans and the environment of a nosocomial strain of *Enterococcus faecium*. *Environ Microbiol.* 2004;6:55-9.
38. JC Online [Periódico on line]. Apevisa intensifica controle da infecção hospitalar. 2007 Aug [Acesso 2007 nov 14] Disponível em: http://jc.uol.com.br/2007/08/28/not_148109.php
39. Jones RN, Kugler KC, Pfaller MA, Winokur PL. Characteristics of pathogens causing urinary tract infections in hospitals in North America: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1997;35:55-63.
40. Johnson EM, Flannagan SEF, Sedgley CM. Coaggregation interactions between oral and endodontic *Enterococcus faecalis* and bacterial species isolated from persistent apical periodontitis. *JOE.* 2006;32(10):946-50.
41. Kaçmaz B, Aksoy A. Antimicrobial resistance of enterococci in Turkey. *Int J Antimicrob Agents.* 2005; 25:535-8.

42. Kaufman B, Spångberg L, Barry J, Fouad AF. *Enterococcus* spp. in endodontically treated teeth with and without periradicular lesions. J Endod. 2005;31(12):851-6.
43. Kayaoglu G, Orstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. Crit Rev Oral Biol Med. 2004; 15:308-20.
44. Kirschner C, Maquelin K, Pina P, Ngo Thi NA, Coe-Smith LP, Sockalingum GS, et al. Classification and identification of Enterococci: a comparative phenotypic, genotypic, and vibrational spectroscopic study. J Clin Microbiol. 2001;39(5):1763-70.
45. Koneman EW. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 5 ed. MEDSI, 2008. p.609.
46. Kreft B, Marre R, Schramm U, Wirth R. Aggregation substance of *Enterococcus faecalis* mediates adhesion to cultured renal tubular cells. Infect Immun. 1992;60(1):25-30.
47. Lavigne JP, Marchandin H, Czarniecki E, Kaye C, Sotto A. Bactériémies à *Enterococcus* spp.: étude prospective au CHU de Nîmes Enterococcal bacteremia at Nîmes university hospital. J Pathologic Biologic. 2005;53:539-45.
48. Leavis HL, Bonten MJM, Willems RJL. Identification of high-risk enterococcal clonal complexes: global dispersion and antibiotic resistance. Curr Opin Microbiol. 2006;9:1-7.
49. Leener E, Decostere A, Graef EM, Moyaert H, Haesbrouck F. Presence and mechanism of antimicrobial resistance among Enterococci from cats and dogs. Microbiol Drug Resist. 2005;11(4):395-403
50. Linden PK, Miller CB. Vancomycin-resistant enterococci: the clinical effect of a common nosocomial pathogen. Diagn Microbiol Infect Dis. 1999;33:113-20.

51. Lucas V, Roberts GJ. Odontogenic bacteremia following tooth cleaning procedures in children. *Pediatr Dent*. 2000;22(2):96-100
52. Marra A, Dib-Hajj F, Lamb L, Kaczmarek F, Shang W, Beckius G, et al. Enterococcal virulence determinants may be involved in resistance to clinical therapy. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2007;58: 59-65.
53. Maschieto A, Martinez R, Palazzo IC, Darini AL. Antimicrobial resistance of *Enterococcus* sp. isolated from the intestinal tract of patients from a university hospital in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004;99(7):763-7.
54. Mead GC. Streptococci in the intestinal flora of man and other non-ruminant animals. *Soc Appl Bacteriol Symp Ser*. 1978;7:245-61.
55. Mihaila-Amrouche L, Schlegel L, Bouvet. A. Impact of susceptibility to antibiotics streptococci e enterococci isolated from patients with infective endocarditis on antibiotic treatment. *Indian J Méd Res*. 2004;199(Suppl):80-3.
56. Miranda JM, Franco CM, Vásquez BI, Fente CA, Barros-Velázquez J, Cepeda A. Evaluation of Chromocult® enterococci agar for the isolation and selective enumeration of *Enterococcus* spp. in broilers. *Lett App Microbiol*. 2005;41:153-6.
57. Mundy LM, Sahm DF, Gilmore M. Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance. *Clin Microbiol Rev*. 2000;3:513-22.
58. Murray BE. The life and times of the *Enterococcus*. *Clin Microbiol Rev*. 1990;3(1):46-65.
59. Noble CJ. Carriage of group D streptococci in the human bowel. *J Clin Pathol*. 1978;31(12):1182-6.
60. Pallasch TJ. Antibiotic prophylaxis: problems in paradise. *Dent Clin North Am*. 2003 Oct;47(4):665-79.

61. Petersen A, Dalsgaard A. Species composition and antimicrobial resistance genes of *Enterococcus* spp, isolated from integrated and traditional fish farms in Thailand. *Environ Microbiol.* 2003;5(5):395-402.
62. Quiñones D, Goñi P, Rubio MC, Duran E, Gómez-Luis R. Enterococci spp. isolated from Cuba: species frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility profile. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005;51:63-7.
63. Ramos INC, Markus C, Maia RAS. Riscos da Endocardite Infecciosa nos Procedimentos Odontológicos. *BCI – Revista Brasileira de Cirurgia e Implantodontia.* 2001;8(29):35-9.
64. Rice LB. Emergence of vancomycin-resistant enterococci. *Emerg Infect Dis.* 2001;7:183-7.
65. Roe D, Karandikar B, Bonn-Savage N, Gibbins B, Rouillet JB. Antimicrobial surface functionalization of plastic catheters by silver nanoparticles. *J Antimicrob Chemother.* 2008 Apr;61(4):869-76.
66. Rossi F, Andreazzi DB. Resistência bacteriana: interpretando o antibiograma. São Paulo: Atheneu;2005. p.118.
67. Sader H, Biedenbach D, Jones RN. Evaluation of Vitek and API 20S for Species Identification of Enterococci. *Diag Microbiol Infect Dis.* 1995;22:315-9.
68. Sakamoto H, Naito H, Ohta Y, Tanakna R, Maeda N, Sasaki J et al. Isolation of bacteria from cervical lymph nodes in patients with oral cancer. *Arch Oral Biol.* 1999;44:789-93.
69. Samaranayake LP, Mc Farland TW, Lamey PJ, Ferguson MM. A comparison of oral rinse and imprint sampling techniques for the detection of yeasts, coliform and *Staphylococcus aureus* carriage in the oral cavity. *J Oral Pathol.* 1998;15:286-8.

70. Santos SSF, Loberto JCS, Martins, CAP, Jorge AOC. Prevalência e sensibilidade *in vitro* de Enterobacteriaceae e Pseudomonas isoladas da cavidade bucal e bolsa periodontal de pacientes com periodontite crônica. Pós-Grad Rev Odontol. 2002;5(2):74-83.
71. Saraiva IH, Jones RN, Erwin M, Sader H. Avaliação da sensibilidade a antimicrobianos de 87 amostras clínicas de enterococos resistentes à vancomicina. Rev Ass Med Brasil. 1997;43(3):217-22.
72. Schouten MA. Vancomycin resistant enterococci. Prevalence in Europe. Clin Microbiol Infec. 1999;8 (Supp.1):136.
73. Sedgley C, Lennan SL, Appelbe OK. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo. Int Endod J. 2005;38:735-42.
74. Sedgley C, Lennan SL, Clewell A. Prevalence, phenotype and genotype of oral enterococci. Oral Microbiol Immunol. 2004;19:95-101.
75. Sedgley C, Molander A, Flannagan SE, Nagel AC, Appelbe OK, Clewell DB, et al. Virulence, phenotype and genotype characteristics of endodontic Enterococcus spp. Oral Microbiol Immunol. 2005; 20:10-9.
76. Sedgley C, Nagel AC, Shelburne DB, Clewell DB, Appelbe O, Molander AC. Quantitative real-time PCR detection of oral *Enterococcus faecalis* in humans. Arch Oral Biol. 2005;50:575-83.
77. Sedgley C, Buck G, Appelbe O. Prevalence of *Enterococcus faecalis* at Multiple Oral Sites in Endodontics Patients Using Culture and PCR. JOE 2006;32(2):104-9.
78. Sedgley C. The influence of root canal sealer on extended intracanal survival of Enterococcus faecalis with and without gelatinase production ability in obtured root canals. JOE. 2007;33(5):561-6.
79. Shankar N, Baghdayan AS, Gilmore MS. Modulation of virulence within a pathogenicity island in vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*. Nature. 2002;417(6890):746-50.

80. Silva JA, Loyola OS, Galleguillos JO, Rodriguez YG, Colque-Navarro P, Möllby R, et al. Prevalência de Enterococos resistentes a antibióticos em águas servidas em el norte de Chile. Rev Méd Chile. 2005;133:1201-10.
81. Sonis ST, FazioRC, Fang L. Avaliação e tratamento do paciente com risco de endocardite bacteriana. Medicina Oral. São Paulo: Guanabara Koogan; 1985. p.89-109.
82. Strabelli TVM, Cais DP, Zeigler R, Siciliano R, Rodrigues C, Carrara D et al. Clustering of *Enterococcus faecalis* infections in a cardiology hospital neonatal intensive care unit. BJID. 2006;10(2):113-6.
83. Tsuda Y, Shigematsu K, Kobayashi M, Herndon DN, Suzuki F. Role of polymorphonuclear neutrophils on infectious complications stemming from *Enterococcus faecalis* oral infection in thermally injured mice. J Immunol. 2008;180(6):4133-8.
84. Tyrrell GJ, Turnbull L, Teixeira LM, Lefevre J, Carvalho MGS, Facklam RR, et al. *E. gilvus* sp. nov. and *E. pallens* sp. nov. isolated from Human Clinical Specimens. Journal of Clinical Microbiology. 2002; 40(4):1140-5.
85. Vachée A, Varon E, Jouy E, Meunier D. Sensibilité aux antibiotique chez les streotocoques (hors pneumocoque) et les entérocoques: donées Onerba. Pathol Biol (Paris). 2008.
86. van den Braak N, Ott A, van Belkum A, Kluytmans JA, Koeleman JG, Spanjaard L et al. Prevalence and determinants of fecal colonization with vancomycin-resistant *Enterococcus* in hospitalized patients in The Netherlands. Infect Control Hosp Epidemiol. 2000 Aug;21(8):520-4.
87. Vanek NN, Simon SI, Jacques-Palaz K, Mariscalco MM, Dunny GM, Rakita RM. *Enterococcus faecalis* aggregation substance promotes opsonin-independent binding to human neutrophils via a complement receptor type 3-mediated mechanism. FEMS Immunol Med Microbiol. 1999;26(1):49-60.

88. Vergis EN, Shankar N, Chow JW, Hayden MK, Snyderman DR, Zervos MJ, et al. Association between the presence of enterococcal virulence factors gelatinase, hemolysin, and enterococcal surface protein and mortality among patients with bacteremia due to *Enterococcus faecalis*. Clin Infect Dis. 2002;35(5):570-5.
89. Wahl MJ, Pallasch TJ. Dentistry and Endocarditis. Curr Infect Dis Rep. 2005;7(4):251-6.
90. Werner G, Klare I, Fleige C, Witte W. Increasing rates of vancomycin resistance among *Enterococcus faecium* isolated from German hospitals between 2004 and 2006 are due to wide clonal dissemination of vancomycin-resistant enterococci and horizontal spread of vanA clusters. Int J Med Microbiol. 2008; 298(5-6):515-27, Epub 2007 Oct 30.
91. Wilson W, Taubert KA, Gewitz M, Lockhart PB, Baddour LM, Levison M et al. Prevention of infective endocarditis: guidelines from the American Heart Association: a guideline from the American Heart Association Rheumatic Fever, Endocarditis and Kawasaki Disease Committee, Council on Cardiovascular Disease in the Young, and the Council on Clinical Cardiology, Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group. J Am Dent Assoc. 2008 Jan;139 Suppl:3S-24S.
92. Winston LG, Pang S, Haller BL, Wong M, Chambers III HF, Perdreau-Remington F. API 20 Strep identification system may incorrectly speciate enterococci with low level resistance to vancomycin. Diagn Microbiol Infect Dis. 2004 48(4):287-8.
93. Witte W, Cuny C, Klare I, Nübel U, Strommenger B, Werner G. Emergence and spread of antibiotic-resistant Gram-positive bacterial pathogens. Int J Med Microbiol. 2008 Mar;298(5-6):365-77, Epub 2008 Mar.

94. Yagiela JA. Agentes Antimicrobianos na Prevenção e Tratamento das Infecções. Farmacologia e Terapêutica para Dentistas. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998. p.603.
95. Yagiela JA, Neidle EA, Dowd FJ. Farmacologia e terapêutica para dentistas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,2000.
96. Zoletti GO, Siqueira Jr JF, Santos KRN. Identification of *Enterococcus faecalis* in root-filled teeth with or without periradicular lesions by culture-dependen and independent approaches. JOE. 2006;32(6):722-8.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Termo de consentimento livre e esclarecido

Eu, Edson Yukio Komiyama, cirurgião dentista, CROSP 87808, sob a orientação da Profa. Dra. Cristiane Yumi Koga Ito, portador do CPF 283.802.698-45, RG 30.238.709-2; estabelecido na Rua Elisa Costa Santos 208; apto 21 CEP 12 245-380, na cidade de São José dos Campos, cujo telefone de contato (12) 3947 9033, vamos desenvolver uma pesquisa cujo título é “Prevalência e susceptibilidade aos antimicrobianos de *Enterococcus* spp. na cavidade bucal humana”.

O objetivo deste estudo será avaliar a presença de um microrganismo chamado *Enterococcus* spp. na boca de pessoas em diversas faixas etárias e verificar se estes microrganismos são sensíveis aos antibióticos. A coleta do material da boca será feita bochechando solução fisiológica durante 1 minuto e depois deste período este material deve ser depositado no coletor que estamos fornecendo. A solução fisiológica é esterilizada e não traz nenhum risco à sua saúde.

O Sr (a) tem a garantia de acesso, em qualquer etapa do estudo, sobre qualquer esclarecimento de eventuais dúvidas e sobre o andamento do trabalho. Se tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP, situada na Av. Eng. Francisco José Longo, 777, CEP 12 245-000, em São José dos Campos, Fone: 3947 9033. Informo que será garantida a liberdade de retirada do consentimento a qualquer momento e assim deixar de participar do estudo. Também não haverá custo nem pagamento pela colaboração.

Termo de consentimento livre e esclarecido

Acredito ter sido esclarecido a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Prevalência e susceptibilidade aos antibióticos de *Enterococcus* spp. isolados da cavidade bucal humana” e concordo em participar sabendo quais os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes, e que a minha participação não implicará em nenhuma despesa. Concordo em participar voluntariamente deste estudo e com a publicação anônima dos dados gerados por ele. Poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidade, prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido.

Data: ____/____/____

RG: _____

Nome do paciente: _____

Endereço completo _____

Assinatura do participante
ou responsável

Assinatura do Pesquisador

APÊNDICE B – Ficha clínica

Ficha:

FICHA CLÍNICA

Nome: _____

Idade: _____ Sexo: _____

Data: _____

ANAMNESE- HISTÓRIA MÉDICA

01. Está tomando algum remédio? () Sim () Não Qual? _____

02. Tomou antibiótico nos últimos 45 dias? () Sim () Não

03. Utilizou algum antiséptico bucal nos últimos 45 dias? () Sim () Não

04. Está grávida? () Sim () Não

05. É diabético? () Sim () Não

06. Fumante? () Sim () Não

07. Dependente químico? () Sim () Não

08. Etilista? () Sim () Não

09. Há alguma outra informação importante sobre sua saúde que não foi perguntado e que deseje comentar? _____

EXAME CLÍNICO

01. Usuário de PT/PPR/Aparelho ortodôntico? () Sim () Não

02. Usuário de Prótese Fixa, Coroa etc? () Sim () Não

03. Edentulo Total? () Sim () Não

04. Lesões de candidose bucal? () Sim () Não

APÊNDICE C

QUADRO 1 – Resultados individuais das contagens de *Enterococcus* spp. a partir dos enxágües bucais, expressos em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/ml), faixa etária, gênero e identificação das amostras isoladas.

Amostra	UFC/mL	Faixa etária	Gênero	Identificação das amostras
AF01	0	04-11	feminino	
AF02	0	04-11	feminino	
AF03	0	04-11	feminino	
AF04	0	04-11	feminino	
AF05	0	04-11	feminino	
AF06	0	04-11	feminino	
AF07	0	04-11	feminino	
AF08	2050	04-11	feminino	<i>E. faecalis</i>
AF09	0	04-11	feminino	
AF10	0	04-11	feminino	
AF11	0	04-11	feminino	
AF12	0	04-11	feminino	
AF13	0	04-11	feminino	
AF14	0	04-11	feminino	
AF15	0	04-11	feminino	
AF16	0	04-11	feminino	
AF17	0	04-11	feminino	
AF18	350	04-11	feminino	
AF19	0	04-11	feminino	<i>E. faecalis; E. faecium</i>
AF20	0	04-11	feminino	
AF21	150	04-11	feminino	<i>E. faecalis</i>
AF22	0	04-11	feminino	
AF23	0	04-11	feminino	
AF24	0	04-11	feminino	
AF25	0	04-11	feminino	
AM01	650	04-11	masculino	<i>E. faecalis</i>
AM02	0	04-11	masculino	
AM03	0	04-11	masculino	
AM04	0	04-11	masculino	
AM05	1200	04-11	masculino	<i>E. faecalis</i>

QUADRO 1 – Resultados individuais das contagens de *Enterococcus* spp. a partir dos enxágües bucais, expressos em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/ml), faixa etária, gênero e identificação das amostras isoladas. (continuação)

Amostra	UFC/mL	Faixa etária	Gênero	Identificação das amostras
AM06	0	04-11	masculino	
AM07	0	04-11	masculino	
AM08	0	04-11	masculino	
AM09	0	04-11	masculino	
AM10	0	04-11	masculino	
AM11	0	04-11	masculino	
AM12	0	04-11	masculino	
AM13	0	04-11	masculino	
AM14	0	04-11	masculino	
AM15	0	04-11	masculino	
AM16	0	04-11	masculino	
AM17	0	04-11	masculino	
AM18	0	04-11	masculino	
AM19	0	04-11	masculino	
AM20	0	04-11	masculino	
AM21	0	04-11	masculino	
AM22	0	04-11	masculino	
AM23	0	04-11	masculino	
AM24	0	04-11	masculino	
AM25	0	04-11	masculino	
BF01	0	12-17	feminino	
BF02	0	12-17	feminino	
BF03	0	12-17	feminino	
BF04	0	12-17	feminino	
BF05	0	12-17	feminino	
BF06	0	12-17	feminino	
BF07	0	12-17	feminino	
BF08	0	12-17	feminino	
BF09	0	12-17	feminino	
BF10	25	12-17	feminino	<i>E. faecalis</i>
BF11	0	12-17	feminino	

QUADRO 1 – Resultados individuais das contagens de *Enterococcus* spp. a partir dos enxágües bucais, expressos em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/ml), faixa etária, gênero e identificação das amostras isoladas. (continuação)

Amostra	UFC/mL	Faixa etária	Gênero	Identificação das amostras
BF13	0	12-17	feminino	
BF14	0	12-17	feminino	
BF15	0	12-17	feminino	
BF16	0	12-17	feminino	
BF17	0	12-17	feminino	
BF18	0	12-17	feminino	
BF19	0	12-17	feminino	
BF20	0	12-17	feminino	
BF21	0	12-17	feminino	
BF22	0	12-17	feminino	
BF23	0	12-17	feminino	
BF24	0	12-17	feminino	
BF25	0	12-17	feminino	
BM01	0	12-17	masculino	
BM02	0	12-17	masculino	
BM03	0	12-17	masculino	
BM04	0	12-17	masculino	
BM05	0	12-17	masculino	
BM06	0	12-17	masculino	
BM07	0	12-17	masculino	
BM08	0	12-17	masculino	
BM09	0	12-17	masculino	
BM10	0	12-17	masculino	
BM11	0	12-17	masculino	
BM12	0	12-17	masculino	
BM13	25	12-17	masculino	
BM14	0	12-17	masculino	
BM15	0	12-17	masculino	
BM16	0	12-17	masculino	
BM17	0	12-17	masculino	
BM18	0	12-17	masculino	

QUADRO 1 – Resultados individuais das contagens de *Enterococcus* spp. a partir dos enxágües bucais, expressos em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/ml), faixa etária, gênero e identificação das amostras isoladas. (continuação)

Amostra	UFC/mL	Faixa etária	Gênero	Identificação das amostras
BM20	0	12-17	masculino	
BM21	0	12-17	masculino	
BM22	0	12-17	masculino	
BM23	0	12-17	masculino	
BM24	0	12-17	masculino	
BM25	0	12-17	masculino	
CF01	0	18-34	feminino	
CF02	0	18-34	feminino	
CF03	0	18-34	feminino	
CF04	0	18-34	feminino	
CF05	25	18-34	feminino	
CF06	0	18-34	feminino	
CF07	0	18-34	feminino	
CF08	0	18-34	feminino	
CF09	0	18-34	feminino	
CF10	0	18-34	feminino	
CF11	0	18-34	feminino	
CF12	0	18-34	feminino	
CF13	25	18-34	feminino	<i>E. avium</i>
CF14	0	18-34	feminino	
CF15	0	18-34	feminino	
CF16	0	18-34	feminino	
CF17	0	18-34	feminino	
CF18	0	18-34	feminino	
CF19	25	18-34	feminino	
CF20	0	18-34	feminino	
CF21	0	18-34	feminino	
CF22	0	18-34	feminino	
CF23	0	18-34	feminino	
CF24	25	18-34	feminino	
CF25	0	18-34	feminino	

QUADRO 1 – Resultados individuais das contagens de *Enterococcus* spp. a partir dos enxágües bucais, expressos em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/ml), faixa etária, gênero e identificação das amostras isoladas. (continuação)

Amostra	UFC/mL	Faixa etária	Gênero	Identificação das amostras
CF27	0	18-34	feminino	
CF28	0	18-34	feminino	
CF29	0	18-34	feminino	
CF30	0	18-34	feminino	
CF31	25	18-34	feminino	<i>E. faecalis</i>
CF32	0	18-34	feminino	
CF33	25	18-34	feminino	<i>E. faecium</i>
CF34	0	18-34	feminino	
CF35	0	18-34	feminino	
CF36	0	18-34	feminino	
CF37	0	18-34	feminino	
CF38	0	18-34	feminino	
CF39	0	18-34	feminino	
CF40	25	18-34	feminino	<i>E. faecalis</i>
CF41	0	18-34	feminino	
CF42	0	18-34	feminino	
CF43	0	18-34	feminino	
CF44	0	18-34	feminino	
CM01	0	18-34	masculino	
CM02	0	18-34	masculino	
CM03	0	18-34	masculino	
CM04	0	18-34	masculino	
CM05	0	18-34	masculino	
CM06	0	18-34	masculino	
DF01	0	35-59	feminino	
DF02	0	35-59	feminino	
DF03	0	35-59	feminino	
DF04	25	35-59	feminino	<i>E. faecium</i>
DF10	0	35-59	feminino	
DF11	0	35-59	feminino	
DF12	50	35-59	feminino	<i>E. faecalis</i>

QUADRO 1 – Resultados individuais das contagens de *Enterococcus* spp. a partir dos enxágües bucais, expressos em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/ml), faixa etária, gênero e identificação das amostras isoladas. (continuação)

Amostra	UFC/mL	Faixa etária	Gênero	Identificação das amostras
DF13	25	35-59	feminino	<i>E. faecalis</i>
DF14	6425	35-59	feminino	<i>E. faecalis</i>
DF15	0	35-59	feminino	
DF16	50	35-59	feminino	<i>E. faecalis</i> ; <i>E. durans</i>
DF17	0	35-59	feminino	
DF18	0	35-59	feminino	
DF19	0	35-59	feminino	
DF20	0	35-59	feminino	
DF21	325	35-59	feminino	<i>E. faecalis</i>
DF22	0	35-59	feminino	
DF23	0	35-59	feminino	
DF24	0	35-59	feminino	
DF25	0	35-59	feminino	
DF26	2200	35-59	feminino	<i>E. faecalis</i> ; <i>E. faecium</i> ; <i>E. durans</i>
DF27	0	35-59	feminino	
DF28	0	35-59	feminino	
DF29	0	35-59	feminino	
DF30	0	35-59	feminino	
DF31	25	35-59	feminino	<i>E. faecalis</i>
DF32	25	35-59	feminino	<i>E. faecalis</i>
DF33	0	35-59	feminino	
DF34	50	35-59	feminino	<i>E. faecalis</i>
DF35	0	35-59	feminino	
DF36	0	35-59	feminino	
DF37	25	35-59	feminino	<i>E. faecalis</i>
DF38	300	35-59	feminino	<i>E. faecalis</i>
DF39	0	35-59	feminino	
DF40	0	35-59	feminino	
DM01	0	35-59	masculino	
DM02	600	35-59	masculino	<i>E. faecalis</i>
DM03	400	35-59	masculino	<i>E. durans</i>

QUADRO 1 – Resultados individuais das contagens de *Enterococcus* spp. a partir dos enxágües bucais, expressos em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/ml), faixa etária, gênero e identificação das amostras isoladas. (continuação)

Amostra	UFC/mL	Faixa etária	Gênero	Identificação das amostras
DM04	0	35-59	masculino	
DM05	0	35-59	masculino	
DM06	0	35-59	masculino	
DM07	0	35-59	masculino	
DM08	0	35-59	masculino	
DM09	0	35-59	masculino	
DM10	250	35-59	masculino	<i>E. faecalis</i>
DM11	0	35-59	masculino	
DM12	0	35-59	masculino	
DM13	0	35-59	masculino	
DM14	0	35-59	masculino	
DM15	0	35-59	masculino	
EF01	725	60+	feminino	<i>E. faecalis</i>
EF02	0	60+	feminino	
EF03	0	60+	feminino	
EF04	0	60+	feminino	
EF05	0	60+	feminino	
EF06	0	60+	feminino	
EF07	450	60+	feminino	<i>E. faecalis</i>
EF08	0	60+	feminino	
EF09	1475	60+	feminino	<i>E. faecium</i>
EF10	0	60+	feminino	
EF11	0	60+	feminino	
EF12	0	60+	feminino	
EF13	25	60+	feminino	
EF14	2875	60+	feminino	
EF15	0	60+	feminino	
EF16	75	60+	feminino	
EF17	0	60+	feminino	
EF18	0	60+	feminino	
EF19	0	60+	feminino	

QUADRO 1 – Resultados individuais das contagens de *Enterococcus* spp. a partir dos enxágües bucais, expressos em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/ml), faixa etária, gênero e identificação das amostras isoladas. (conclusão)

Amostra	UFC/mL	Faixa etária	Gênero	Identificação das amostras
EF20	0	60+	feminino	
EF21	0	60+	feminino	
EF22	0	60+	feminino	
EF23	0	60+	feminino	
EM01	2875	60+	feminino	<i>E. faecalis</i>
EM02	25	60+	feminino	<i>E. faecalis</i>
EM03	0	60+	feminino	
EM04	0	60+	feminino	
EM05	0	60+	feminino	
EM06	0	60+	feminino	
EM07	0	60+	feminino	
EM08	250	60+	feminino	<i>E. faecalis</i>
EM09	200	60+	feminino	<i>E. faecalis</i>
EM10	0	60+	feminino	
EM11	0	60+	feminino	
EM12	0	60+	feminino	
EM13	0	60+	feminino	
EM14	0	60+	feminino	
EM15	0	60+	feminino	
EM16	0	60+	feminino	
EM17	0	60+	feminino	

APENDICE D - Tabela 6 – Valores da concentração inibitória mínima (CIM) de cada isolado de *Enterococcus* spp. frente aos antibióticos testados

AMOSTRA	ESPÉCIE	CIPRO	CLOR	GENTA	ERITRO	VANCO	AMOXI	AMP	TETRA
AF08a	<i>E. faecalis</i>	[64]	[16]	[16]	[4]	[8]	[2]	[2]	[8]
AF08b	<i>E. faecalis</i>	>64]	[16]	[16]	[8]	[8]	[2]	[2]	>64]
AF08c	<i>E. faecalis</i>	>64]	[16]	[16]	[4]	<1]	[2]	[16]	[4]
AF08d	<i>E. faecalis</i>	[4]	[8]	[8]	[4]	[4]	[4]	[2]	<1]
AF08e	<i>E. faecalis</i>	[4]	[16]	[8]	[16]	[4]	[4]	[2]	>64]
AF18b	<i>E. faecalis</i>	[32]	[32]	[16]	[4]	[4]	[2]	[2]	[64]
AF18c	<i>E. faecium</i>	[4]	[32]	[16]	[4]	[8]	[2]	[4]	[64]
AF18d	<i>E. faecalis</i>	[64]	[16]	[16]	[4]	[4]	[2]	[4]	[32]
AF21c	<i>E. faecalis</i>	>64]	[16]	[2]	<1]	<1]	[64]	>64]	[4]
AM01a	<i>E. faecalis</i>	>64]	[16]	>64]	[8]	<1]	[16]	[32]	[8]
AM01b	<i>E. faecalis</i>	>64]	[16]	[8]	[4]	<1]	>64]	>64]	[64]
AM01c	<i>E. faecalis</i>	[4]	[32]	[8]	[16]	[4]	>64]	>64]	[4]
AM01e	<i>E. faecalis</i>	[4]	[16]	[16]	[16]	[4]	[64]	[64]	[2]
AM05a	<i>E. faecalis</i>	>64]	[32]	[16]	[4]	<1]	<1]	[8]	[64]
AM05c	<i>E. faecalis</i>	>64]	[16]	>64]	[2]	<1]	[8]	[4]	[16]
AM05d	<i>E. faecalis</i>	>64]	[16]	[64]	[2]	<1]	>64]	[8]	[32]
AM05e	<i>E. faecalis</i>	>64]	[16]	[4]	[2]	<1]	[8]	<1]	[16]
BF10a	<i>E. faecalis</i>	>64]	[16]	[32]	[4]	<1]	[4]	[4]	[8]
CF05d	<i>E. avium</i>	[4]	[64]	[8]	[8]	<1]	[16]	[8]	[32]
CF13a	<i>E. avium</i>	[4]	[8]	[2]	[2]	[8]	<1]	[2]	[16]
CF19a	<i>E. faecalis</i>	>64]	[16]	[16]	[64]	<1]	<1]	[16]	[64]
CF24a	<i>E. faecalis</i>	[2]	[16]	[8]	>64]	[8]	[8]	[4]	>64]
CF24d	<i>E. faecium</i>	[4]	[16]	[16]	>64]	<1]	[2]	[4]	<1]
CF31c	<i>E. faecalis</i>	[4]	[8]	<1]	[16]	<1]	<1]	[2]	[4]
CF33a	<i>E. faecium</i>	[2]	[8]	[8]	[16]	[4]	[8]	[8]	>64]
CF40a	<i>E. faecalis</i>	[2]	[4]	[8]	[16]	<1]	[4]	[4]	>64]
CF40b	<i>E. faecalis</i>	[4]	[16]	[16]	>64]	[2]	[2]	[2]	>64]
DF04a	<i>E. faecium</i>	<1]	[2]	[4]	<1]	>64]	[2]	[8]	[4]
DF12a	<i>E. faecalis</i>	>64]	[16]	[8]	[8]	<1]	[4]	[8]	[64]
DF12c	<i>E. faecalis</i>	[4]	[16]	[8]	[4]	[2]	[4]	[2]	[2]
DF12e	<i>E. faecalis</i>	[32]	[64]	[16]	>64]	[8]	[2]	[2]	>64]

Tabela 6 – Valores da concentração inibitória mínima (CIM) de cada isolado de *Enterococcus* spp. frente aos antibióticos testados. (continuação)

AMOSTRA	ESPÉCIE	CIPRO	CLOR	GENTA	ERITRO	VANCO	AMOXI	AMP	TETRA
DF13a	<i>E. faecalis</i>	[2]	[2]	<1	<1	<1	[4]	[8]	[2]
DF14b	<i>E. faecalis</i>	>64	[16]	[16]	[4]	<1	<1	[8]	[64]
DF14d	<i>E. faecalis</i>	>64	<1	<1	>64	<1	>64	[8]	[32]
DF14e	<i>E. faecalis</i>	>64	[16]	[64]	[2]	<1	>64	[8]	[4]
DF16b	<i>E. faecalis</i>	[2]	[2]	[8]	<1	<1	<1	[4]	<1
DF21a	<i>E. faecalis</i>	[64]	[8]	[64]	<1	<1	[4]	<1	[8]
DF21b	<i>E. faecalis</i>	>64	[16]	[16]	[4]	<1	[2]	[4]	[64]
DF21c	<i>E. faecalis</i>	[64]	[32]	[16]	[4]	[4]	[2]	[2]	>64
DF21d	<i>E. faecalis</i>	>64	[16]	[64]	[8]	<1	>64	[8]	[32]
DF21e	<i>E. faecalis</i>	>64	[16]	[64]	[8]	<1	>64	[8]	[4]
DF26a	<i>E. durans</i>	[8]	[16]	[8]	[4]	<1	[4]	[2]	[64]
DF26b	<i>E. faecalis</i>	[8]	[8]	[8]	[2]	<1	[4]	[8]	[64]
DF26c	<i>E. durans</i>	[4]	[64]	[16]	>64	[2]	[2]	[2]	[16]
DF26d	<i>E. faecium</i>	>64	[16]	[64]	[2]	<1	>64	[8]	[4]
DF26e	<i>E. faecalis</i>	[32]	[16]	[8]	<1	<1	<1	[4]	[4]
DF32a	<i>E. faecalis</i>	[4]	[8]	[8]	[32]	[4]	[2]	[2]	[8]
DF34a	<i>E. faecalis</i>	[32]	[64]	[16]	>64	[8]	[2]	[4]	>64
DF34b	<i>E. faecalis</i>	[4]	>64	[16]	>64	[4]	[2]	[4]	[64]
DF37a	<i>E. faecalis</i>	[8]	[16]	[16]	>64	[4]	[4]	[2]	[64]
DF37b	<i>E. faecalis</i>	[4]	[16]	[16]	>64	[8]	[4]	[4]	[2]
DF38a	<i>E. faecalis</i>	[32]	[16]	[16]	[4]	[8]	[2]	[4]	[4]
DF38b	<i>E. faecalis</i>	[64]	[16]	[16]	[4]	<1	<1	[16]	[32]
DF38e	<i>E. faecalis</i>	[4]	[16]	[8]	[4]	[4]	[4]	[2]	<1
DM02a	<i>E. faecalis</i>	[4]	[32]	[16]	[8]	[4]	[4]	[2]	<1
DM02c	<i>E. faecalis</i>	[64]	[32]	[16]	[8]	[4]	[4]	[8]	[64]
DM02e	<i>E. faecalis</i>	[4]	[16]	[16]	[4]	[4]	[4]	[4]	[2]
DM03a	<i>E. durans</i>	[4]	[2]	<1	<1	<1	<1	[2]	[2]
DM03b	<i>E. durans</i>	>64	[16]	<1	<1	<1	[2]	[2]	[4]
DM03d	<i>E. durans</i>	>64	[32]	[16]	<1	<1	[4]	<1	[16]
DM03e	<i>E. durans</i>	[4]	[16]	[8]	[4]	<1	[8]	[4]	[2]
DM10a	<i>E. faecalis</i>	>64	[16]	[16]	[4]	<1	[4]	[16]	[32]
DM10c	<i>E. faecalis</i>	>64	[16]	>64	[2]	<1	[16]	[8]	>64
DM10d	<i>E. faecalis</i>	[2]	[16]	[8]	[4]	[4]	[4]	[4]	[64]

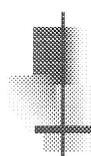
Tabela 6 – Valores da concentração inibitória mínima (CIM) de cada isolado de *Enterococcus* spp. frente aos antibióticos testados. (continuação)

AMOSTRA	ESPÉCIE	CIPRO	CLOR	GENTA	ERITRO	VANCO	AMOXI	AMP	TETRA
DM10e	<i>E. faecalis</i>	[64]	[32]	[16]	[8]	[8]	[2]	[8]	[64]
EF01a	<i>E. faecalis</i>	>64]	[32]	[16]	[4]	[4]	[2]	[2]	[4]
EF01b	<i>E. faecalis</i>	[8]	[16]	[16]	[4]	[2]	[2]	[2]	[8]
EF01c	<i>E. faecalis</i>	[8]	[16]	[16]	[8]	[4]	<1]	[2]	[2]
EF07a	<i>E. faecalis</i>	[32]	[16]	[16]	>64]	[4]	[2]	[2]	[64]
EF07b	<i>E. faecalis</i>	[64]	[16]	[16]	[8]	<1]	<1]	[16]	[64]
EF07c	<i>E. faecalis</i>	>64]	[16]	[16]	[4]	<1]	<1]	[4]	[64]
EF07d	<i>E. faecalis</i>	>64]	[16]	[16]	[2]	<1]	[4]	[8]	[64]
EF07e	<i>E. faecalis</i>	[4]	[16]	[8]	[4]	[4]	[4]	[4]	[64]
EF09a	<i>E. faecium</i>	>64]	[16]	[16]	[16]	<1]	[2]	[16]	[2]
EF09b	<i>E. faecium</i>	>64]	[16]	[16]	[4]	<1]	[2]	[16]	[4]
EF09c	<i>E. faecium</i>	[4]	[32]	[64]	[2]	<1]	<1]	[2]	[4]
EF09d	<i>E. faecium</i>	>64]	[16]	[32]	[8]	<1]	>64]	[8]	[16]
EF09e	<i>E. faecium</i>	>64]	>64]	[16]	[32]	<1]	[4]	[8]	>64]
EF13a	<i>E. faecalis</i>	[8]	[16]	[16]	[2]	<1]	<1]	[8]	[8]
EF13b	<i>E. faecium</i>	[8]	[16]	[8]	[4]	<1]	<1]	[16]	[4]
EF14a	<i>E. faecium</i>	>64]	[16]	[16]	[32]	<1]	<1]	[16]	[2]
EF14b	<i>E. faecium</i>	>64]	[16]	[8]	[32]	<1]	<1]	[16]	[4]
EF14c	<i>E. faecium</i>	>64]	[16]	[8]	[8]	<1]	[4]	[16]	[32]
EF14d	<i>E. faecium</i>	[4]	[2]	[16]	[4]	<1]	[2]	[4]	[16]
EF14e	<i>E. faecalis</i>	>64]	[16]	[8]	[2]	<1]	<1]	[16]	[64]
EF16a	<i>E. faecalis</i>	[4]	[8]	[8]	[32]	<1]	[4]	[4]	<1]
EF16d	<i>E. faecium</i>	[8]	[16]	[8]	[8]	<1]	<1]	[8]	<1]
EM01a	<i>E. faecalis</i>	[32]	[32]	[8]	[4]	[4]	[2]	[2]	>64]
EM01b	<i>E. faecalis</i>	[64]	[32]	[8]	>64]	[8]	[2]	[2]	>64]
EM01c	<i>E. faecalis</i>	[32]	[16]	[8]	[4]	[8]	[2]	[4]	>64]
EM01d	<i>E. faecalis</i>	[64]	[32]	[8]	>64]	[8]	[2]	[4]	>64]
EM01e	<i>E. faecalis</i>	[4]	[16]	[8]	[4]	[8]	<1]	[2]	[64]
EM02a	<i>E. faecalis</i>	[4]	[16]	[8]	>64]	[2]	[4]	[2]	[8]
EM02b	<i>E. faecalis</i>	[2]	[2]	[8]	[4]	[2]	[2]	<1]	<1]
EM08a	<i>E. faecalis</i>	[32]	[16]	[16]	>64]	[4]	[2]	[4]	[2]
EM08b	<i>E. faecalis</i>	[32]	[16]	[16]	>64]	[4]	[4]	[4]	[64]
EM08c	<i>E. faecalis</i>	>64]	[16]	[16]	[4]	<1]	<1]	[4]	[2]

Tabela 6 – Valores da concentração inibitória mínima (CIM) de cada isolado de *Enterococcus* spp. frente aos antibióticos testados. (conclusão)

AMOSTRA	ESPÉCIE	CIPRO	CLOR	GENTA	ERITRO	VANCO	AMOXI	AMP	TETRA
EM08d	<i>E. faecalis</i>	[8]	[16]	[16]	[16]	[2]	[8]	[2]	[16]
EM08e	<i>E. faecalis</i>	[>64]	[16]	[16]	[4]	[4]	[2]	[8]	[8]
EM09a	<i>E. faecalis</i>	[>64]	[16]	[16]	[>64]	[<1]	[64]	[>64]	[8]
EM09b	<i>E. faecalis</i>	[16]	[32]	[64]	[<1]	[<1]	[8]	[<1]	[16]
EM09c	<i>E. faecalis</i>	[>64]	[32]	[64]	[8]	[<1]	[>64]	[8]	[4]
EM09d	<i>E. faecalis</i>	[4]	[16]	[8]	[4]	[4]	[4]	[2]	[2]
EM09e	<i>E. faecalis</i>	[>64]	[64]	[16]	[4]	[<1]	[2]	[16]	[64]
EM10b	<i>E. avium</i>	[>64]	[>64]	[4]	[8]	[<1]	[2]	[2]	[<1]
EM10e	<i>E. avium</i>	[8]	[8]	[8]	[>64]	[<1]	[2]	[2]	[>64]

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em pesquisa envolvendo seres humanos



**Comitê de Ética em Pesquisa
Envolvendo Seres Humanos**

São José dos Campos, 30 de maio de 2008

Ofício nº 032/08-CEP

Prezado(a) Sr.(a)	CRISTIANE YUMI KOGA ITO
Projeto	Prevalência e susceptibilidade aos antimicrobianos de <i>Enterococcus spp.</i> na cavidade bucal humana
PARECER	
<p>Por solicitação do Pesquisador, foi alterado o título do Projeto acima mencionado, passando a denominar-se "Prevalência e susceptibilidade aos antimicrobianos de <i>Enterococcus spp.</i> isolados da cavidade bucal humana". Convalidando dessa forma o Protocolo nº 060/2006-PH/CEP de 19/09/2006.</p>	

Atenciosamente,

Profa. Dra. **SUELY CARVALHO MUTTI NARESSI**

Coordenadora

Komiyama EY. Prevalência e suscetibilidade aos antibióticos de *Enterococcus* spp. isolados da cavidade bucal humana [dissertação] São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos: Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

*The aim of this study was to evaluate the prevalence and antimicrobial susceptibility of Enterococcus spp. isolated from the oral cavity of individuals (n=240) with different ages (4 to 11, 12 to 17, 18 to 34, 35 to 59 and 60+ years). Patients with diabetes mellitus, pregnant women, smokers, edentulous, individuals under treatment with medications acting of salivary composition and flow, dentures and orthodontic devices users, and individuals under antibiotic or antiseptic use for the last 45 days were excluded. Samples were collected by oral rinses and the isolation was performed by using Enterococcosel agar. The isolates were identified by API 20 Strep system and the evaluation of antimicrobial susceptibility were performed by CLSI (2003) agar dilution methodology. Considering the total population (n=240), 16.6% of the individuals were positive to Enterococcus spp. in the oral cavity with mean value of 121.73cfu/ml. Higher number of patients over 35 years were positive. Differences of enterococci counts among the studied groups were observed ($p=0.0019$). Dunn's test indicated differences between the group of 12 to 17 years in relation to the groups 35-59 years ($p=0.0004$) and over 60 years ($p=0.004$). No statistically significant difference between the median values of cfu/ml of male and female genders was observed ($p=0.3645$). *E. faecalis* was prevalent in all the age groups ($p=0.000$). From the total of isolates 12% were resistant to vancomycin, 16% to amoxicillin, 54% to tetracycline, 18% to ampicillin, 20% to chloramphenicol and 46% to erythromycin.*

Keywords: *Enterococcus*, prevalence, mouth

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](#)