

Enterococcus spp. em espécimes clínicos de pacientes atendidos em unidades de terapia intensiva

Enterococcus spp. in clinical specimens from patients in intensive care units

Enterococcus spp. en muestras clínicas de pacientes en unidades de cuidados intensivos

Elerson **Gaetti-Jardim Júnior**¹
Lívia Buzati **Meca**¹
Luiza Tavares **Moreira**¹
Fábio **Bombarda**²
Christiane Marie **Schweitzer**³
Ana Cláudia **Okamoto**¹

¹Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica. Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP- Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Brasil

²Santa Casa de Misericórdia de Araçatuba, Brasil

³Departamento de Matemática. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, UNESP- Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Brasil

Resumo

A relação entre a ocorrência de enterococos na microbiota bucal e infecções graves em pacientes internados em unidades de terapia intensiva (UTI) vem sendo estabelecida. Esse estudo avaliou a presença de *Enterococcus faecalis* e outras espécies desse gênero na boca de pacientes mantidos em UTI, correlacionando-a com condições bucais e sistêmicas. Foram obtidos dados referentes às condições de saúde e socioeconômicas, uso de medicamentos, história médica e familiar de pacientes mantidos por mais de 72 horas em UTI, com diagnóstico de infecção grave ou que desenvolveram essa condição após entrada na referida unidade. Cinquenta pacientes forneceram amostras clínicas intrabucais e extrabucais para análise (biofilme supra e subgingival, saliva e mucosas bucais, seguida da obtenção de amostras de secreções respiratórias para os pacientes com pneumonia e, sangue e urina para os quadros septicêmicos). A presença dos microrganismos alvos foi realizada pela reação em cadeia da polimerase (PCR) e por cultura empregando-se meios seletivos. Os testes de Qui-Quadrado e de Mann-Whitney foram utilizados na análise estatística, e o nível de significância foi de 5%. As condições clínicas intrabucais dos pacientes se mostraram precárias. *E. faecalis* foi o microrganismo significativamente mais frequente, seguido de *E. faecium*. O uso de antimicrobianos com amplo espectro de ação mostrou-se associado à presença desses microrganismos oportunistas. Essas bactérias foram mais frequentes nos pacientes com periodontite ou gengivite. Os resultados mostraram que os enterococos associados aos processos infecciosos graves podem se originar da microbiota residente dos pacientes e que sua prevalência não é elevada em indivíduos saudáveis.

Descritores: Infecção Hospitalar; *Enterococcus*; Periodontite; Biofilmes; Reação em Cadeia da Polimerase.

Abstract

The relationship between the occurrence of enterococci in the oral microbiota and serious infections in patients hospitalized in intensive care units (ICU) has been established. This study evaluated the presence of *Enterococcus faecalis* and other species of this genus in the mouths of patients on ICU, correlating it with oral and systemic conditions. Data on health and socioeconomic, medication use, medical and family history of patients maintained for 72 hours in the ICU, diagnosed with severe infection or who have developed this condition after the entry to the unit were obtained. Fifty patients provided intraoral and extraoral clinical samples for analysis (above and subgingival biofilm, saliva and buccal mucosa, followed by obtaining samples of respiratory secretions for patients with pneumonia, and blood and urine for sepsis). The presence of target microorganisms was performed by polymerase chain reaction (PCR) and culture using selective media. The chi-square and Mann-Whitney tests were used for statistical analysis, and the significance level was 5%. The intraoral clinical conditions of the patients showed poor. *E. faecalis* was significantly more frequent microorganism, followed by *E. faecium*. The use of broadspectrum antimicrobial action was associated with the presence of these opportunistic microorganisms. These bacteria were more frequent in patients with periodontitis or gingivitis. The results showed that enterococci associated with serious infectious processes may originate from resident microbiota of patients and its prevalence is not elevated in healthy individuals.

Descriptors: Cross Infection; *Enterococcus*; Periodontitis; Biofilms; Polymerase Chain Reaction.

Resumen

La relación entre la presencia de enterococos en las infecciones graves y la microbiota bucal en pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos (UCI) ha sido establecida. En este estudio se evaluó la presencia de *Enterococcus faecalis* y otras especies de este género en la boca de los pacientes en la UCI, en correlación con las condiciones orales y sistémicas. Los datos sobre la salud y socioeconómico, uso de medicamentos, antecedentes médicos y familiares de pacientes mantenidos durante 72 horas en la UCI, con diagnóstico de infección severa o que han desarrollado esta enfermedad después se obtuvieron ingreso a la unidad. Cinquenta pacientes proporcionaron las muestras clínicas intraorales y extraorales para el análisis (biofilm supragingival y subgingival, la saliva y mucosa bucal, seguido de la obtención de muestras de secreciones respiratorias de los pacientes con neumonía, y la sangre y la orina de los marcos sépticas). La presencia de microorganismos diana se realizó mediante la reacción en cadena de polimerasa (PCR) y cultivo usando medios selectivos. Las pruebas de chi-cuadrado y U de Mann-Whitney se utilizaron para el análisis estadístico, y el nivel de significación fue del 5%. Las condiciones clínicas intraorales de los pacientes mostraron pobres. *E. faecalis* fue significativamente microorganismo más frecuente, seguido de *E. faecium*. El uso de amplio espectro de acción antimicrobiana se asoció con la presencia de estos microorganismos oportunistas. Estas bacterias fueron más frecuentes en los pacientes con periodontitis y gingivitis. Los resultados mostraron que los enterococos asociada con procesos infecciosos graves puede originarse a partir de la microbiota residente de los pacientes y su prevalencia no es elevada en individuos sanos.

Descriptores: Infección Hospitalaria; Periodontitis; Biofilmes; Reacción en Cadena de la Polimerasa.

INTRODUÇÃO

A microbiota associada às infecções oportunistas e quadros septicêmicos em pacientes atendidos em unidades de terapia intensiva (UTI) é bastante complexa e a cavidade bucal pode, nesses pacientes, se converter em importante reservatório de microrganismos oportunistas, em particular os membros do gênero *Enterococcus* e outros microrganismos entéricos^{1, 2}, que apresentam rápida disseminação e resistência a diversos agentes antimicrobianos amplamente utilizados na área médica e odontológica.^{3, 4}

A boca pode se converter em reservatório de microrganismos de relevância médica^{4, 5, 6}, como os membros do gênero *Enterococcus*, que também pode estar associado à deterioração das condições de saúde dos tecidos periodontais e colaborar para a refratariedade do tratamento de muitas infecções bucais. Além desse aspecto, a composição e a estrutura dos biofilmes reduzem significativamente a sua sensibilidade a ação de drogas antimicrobianas e antissépticos, além de favorecer a disseminação de agentes infecciosos para sistemas fisiológicos distantes da boca, como sistema nervoso central, vísceras e sistema cardiovascular^{7, 8, 9}, o que adquire relevância sobremaneira em pacientes com maior susceptibilidade a infecções.

Nesses pacientes e em condições favoráveis, como internações prolongadas, idosos, usuários de dispositivos protéticos intrabucais, indivíduos com imunocomprometimento ou submetidos a traumas^{1, 5}, tais patógenos oportunistas podem criar infecções graves. Para reduzir a ocorrência dessas infecções em pacientes institucionalizados ou internados em tratamento de outras condições clínicas, diversos procedimentos vêm sendo advogados, como o controle mecânico e químico do biofilme, necessitando, para tanto, de preparo da equipe de saúde para a realização desses procedimentos.⁹

Em função da participação de membros do gênero *Enterococcus* no biofilme bucal e seu papel em

infecções respiratórias e quadros septicêmicos, em pacientes hospitalizados, o presente estudo objetivou correlacionar as condições bucais dos pacientes atendidos em unidade de terapia intensiva com a ocorrência de infecções respiratórias ou quadros septicêmicos ligados a esses patógenos, bem como avaliar a ocorrência desses cocos nas amostras de espécimes clínicos de mucosa bucal (mucosas lisas e dorso de língua), biofilme supragengival, biofilme subgengival e saliva, secreções respiratórias e sangue e urina.

MATERIAL E MÉTODO

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP (00065/2010).

• Pacientes com Infecções Graves e/ou Quadros septicêmicos

Esse estudo tomou como base a epidemiologia de infecções respiratórias e quadros septicêmicos, bem como o total de pacientes que desenvolveram essas condições estando internados em uma unidade de terapia intensiva de referência regional. Dos pacientes atendidos entre 2010 e 2012, 50 indivíduos apresentaram quadros infecciosos graves e seus familiares permitiram as coletas de espécimes clínicos de processos infecciosos e de boca, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, além de responderem aos questionamentos relativos à avaliação das condições socioeconômicas do paciente.

Dados dos pacientes internados foram registrados por meio de formulários padronizados, constando informações referentes à identificação, idade, condições de saúde, consumo de tabaco e bebidas alcoólicas, uso de drogas ilícitas, renda e história social. As informações médicas foram obtidas dos prontuários médicos dos pacientes. Os dados relativos às contagens de linfócitos T CD4+, T CD8+, relação CD4+/CD8+, colesterol, triglicérides, índice de

massa corporal, avaliação quantitativa e qualitativa do leucograma e contagem plaquetária também foram obtidos durante a internação dos pacientes e inseridos nos modelos de estudos em avaliação.

Os pacientes foram observados e acompanhados e os dados referentes ao tempo de internação, histórico médico, uso de medicações, resultados do tratamento instituído e amostras clínicas de secreção respiratória, saliva, biofilme bucal, sangue e urina (esses dois últimos para os pacientes que desenvolveram infecções generalizadas) foram coletadas e submetidas à avaliação microbiológica por meio de cultura e detecção molecular (DNA) dos integrantes do gênero *Enterococcus*. Dos pacientes estudados, 23 apresentavam sepse, 15 mostravam-se portadores de pneumonia, 4 apresentavam traumatismo craniofacial e 8 estavam sob tratamento em função de dengue hemorrágica.

• Exame clínico bucal e coleta dos espécimes clínicos

Os exames clínicos periodontais foram realizados por um único examinador, utilizando-se os critérios do Periodontal Screening and Recording (PSR). O diagnóstico da cárie foi realizado baseado nos critérios recomendados pela OMS para determinar o índice CPOD.

As coletas dos espécimes clínicos foram realizadas após 72 horas de internação dos pacientes na UTI e após uma semana, quando necessário. As coletas de biofilme supragengival e saliva foram realizadas imediatamente antes do exame clínico das condições dentárias dos pacientes. Para a coleta de saliva utilizavam-se os dispositivos Salivettes. As amostras do biofilme supragengival eram removidas com auxílio de curetas esterilizadas. Os espécimes do biofilme subgengival foram obtidos com o uso de cones de papel absorvente esterilizados, após a remoção do biofilme supragengival. As amostras oriundas das mucosas bucais eram coletadas por meio de zaragatoas gentilmente friccionadas contra o dorso da língua, assoalho de boca, véstibulo bucal e mucosa jugal. A seguir, todos os espécimes clínicos foram transferidos

para criotubos contendo água ultrapura, e armazenados a 196°C, até a extração do DNA bacteriano.

Para os pacientes com secreções respiratórias, o aspirado brônquico e demais secreções envolvidas eram coletadas assepticamente e transferidas para tubos contendo água ultrapura. Para os pacientes apresentando quadros septicêmicos, amostras de sangue periférico (3mL) eram coletadas e mantidas em anticoagulante até o processamento laboratorial. Nesses quadros de sepse e quando os pacientes apresentavam envolvimento do sistema urinário na infecção, amostras de urina eram retiradas assepticamente das bolsas coletoras e enviadas para o laboratório.

Todas as amostras foram mantidas em nitrogênio líquido até o processamento laboratorial para a extração do DNA microbiano e detecção dos principais microrganismos alvo pela reação em cadeia da polimerase (PCR).

• Isolamento e identificação dos enterococos.

Os espécimes clínicos eram processados dentro do intervalo de 4 horas de sua coleta. As amostras foram submetidas a pré-enriquecimento em água peptonada e caldo EVA (Difco Laboratories, Rochester, NY, USA) a 37°C, por 3 dias. Das amostras de água peptonada e caldo EVA com evidências de crescimento microbiano, alíquotas de 0,1 mL foram inoculadas em ágar Eosina Azul de Metileno, ágar MacConkey, ágar verde brilhante e caldo bile esculina. As placas foram incubadas em condições de aerobiose a 37°C, por 48 h.¹ Todas as colônias sugestivas de pertencerem ao gênero *Enterococcus* foram submetidas a subcultivos para obtenção de cultura pura e, a seguir, identificadas em nível de espécie ou gênero usando o kit API 20E (Bio-Mérieux) para identificação dos isolados.¹⁰

• Detecção dos microrganismos alvo por PCR

O DNA das amostras clínicas nos criotubos com água ultrapura era extraído por meio do “kit” QIamp DNA Mini Kit (QIagen, Hilden, Alemanha), segundo as especificações do fabricante, e o DNA obtido foi

mantido a -80°C , até as reações de amplificação. As concentrações de DNA bacteriano foram determinadas em espectrofotômetro ($A_{260\text{ nm}}$).

A presença de membros do gênero *Enterococcus* (*Enterococcus* spp.) e as espécies *E. faecalis* e *E. faecium* foi avaliada por meio de amplificação do DNA microbiano pela reação em cadeia da polimerase (PCR), empregando-se condições de amplificação e iniciadores específicos¹⁰, em termociclador Perkin Elmer (GeneAmp PCR System 2400 e 9700).

A amplificação do DNA foi realizada em volumes de 25 μl , contendo 2,5 μl de 10 X tampão PCR, 1,25 μl de MgCl_2 (50 mM), 2,0 μl de dNTP (10 mM), 0,25 μl de *Taq* DNA polimerase (0,5 U), 1,0 μl de cada iniciador (0,4 μM), 7 μl de água ultrapura esterilizada e 10 μl de DNA (ng). A amplificação foi realizada em aparelho de PCR programado para: 1 ciclo de 94°C (5 min.); de 36 ciclos de 94°C (1 min.), temperatura de anelamento específica para cada par de iniciadores, 72°C (1 min.) e 1 ciclo de 72°C (5 min.), para a extensão final da cadeia de DNA em amplificação. Os produtos da amplificação pelo PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1%, corados com brometo de etídio (0,5 $\mu\text{g/ml}$) e fotografados sobre transiluminador de luz UV, com câmara Kodak (Eletrophoresis Documentation and Analyses System 120). Como padrão de peso molecular utilizou-se o marcador 1Kb DNA ladder (Gibco, SP).

• Análise estatística

O teste de Qui-Quadrado foi utilizado para avaliar a significância das associações entre três ou mais elementos. As comparações dicotômicas foram avaliadas pelo teste de Mann-Whitney. A análise foi realizada no Departamento de Matemática da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira-UNESP. O nível de significância adotado foi de 5%.

RESULTADOS

Os resultados obtidos por meio de PCR e cultura foram semelhantes e estão apresentados nas tabelas 1 e 2, respectivamente.

As correlações existentes entre as variáveis idade, dados hemograma, dados do leucograma mostraram relação entre idade e o número médio de leucócitos ($p= 0,03$), não foram observadas associações entre os demais fatores analisados.

As condições clínicas intrabucais se mostraram bastante precárias. A presença de grande quantidade de biofilme bucal e sangramento gengival foram muito prevalentes em todos os pacientes, que se mostram totalmente dependente de auxílio externo. Sete pacientes eram portadores de próteses totais, enquanto 29 apresentavam sinais clínicos de gengivite e 14 eram portadores de periodontite. Dados relativos ao uso de antimicrobianos e do hemograma não diferiram significativamente, não tendo correlação com nenhuma variável, com exceção do diagnóstico que motivou a indicação desses fármacos. O uso de antimicrobianos com amplo espectro de ação mostrou-se associado à presença desses cocos Gram-positivos oportunistas (teste de Qui-quadrado, $p<0,05$), enquanto a contaminação do biofilme supragengival mostrou-se ligada à presença de inflamação dos tecidos bucais (teste de Qui-quadrado, $p<0,05$).

Dentre os microrganismos alvos detectados ou cultivados, *E. faecalis* foi significativamente mais frequente ($p<0,01$), seguido de *E. faecium*. Dentre as correlações entre esses agentes e os dados médicos dos pacientes, também observou-se significância entre valores menores de triglicérides e a presença de *E. faecium* no biofilme supragengival.

Os dados referentes à contaminação salivar e das mucosas mostraram que a ocorrência de *E. faecalis* (teste Qui-quadrado, $p = 0,02$) foi mais frequente nos indivíduos que albergavam essa espécie no biofilme, implicando esse habitat como fonte de contaminação.

A despeito da presença desse agente na boca dos pacientes, e, em alguns espécimes clínicos extrabucais, os dados da cultura não permitem considera-lo como o agente etiológico desses processos, colocando esses cocos como contaminantes oportunistas dos espécimes clínicos.

Tabela 1 – Ocorrência de enterococos em amostras clínicas de pacientes mantidos em unidades de terapia intensiva. Dados obtidos por PCR

Espécimes clínicos	Microrganismo N (%)			
	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>Enterococcus</i> spp.	Total
Biofilme supragengival¹	10 (23,3)	1 (2,3)	14 (32,6)	14 (32,6)
Biofilme subgengival¹	7 (16,3)	0 (0,0)	9 (20,3)	9 (20,3)
Sangue²	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Saliva³	6 (12,0)	1 (2,0)	16 (32,0)	16 (32,0)
Mucosa³	3 (6,0)	0 (0,0)	7 (14,0)	7 (14,0)
Urina²	1 (4,3)	1 (4,3)	2 (8,7)	2 (8,7)
Secreção respiratória⁴	1 (6,7)	0 (0,0)	2 (13,3)	2 (13,3)

¹N= 43; ²N= 23 ; ³N= 50; ⁴N= 15⁵Pela detecção molecular por PCR, os dados referentes à *Enterococcus* spp. são equivalentes à somatória de amostras positivas para o gênero.

Tabela 2 – Resultados dos testes de cultura para detecção de enterococos em amostras clínicas de pacientes mantidos em unidades de terapia intensiva.

Espécimes clínicos	Microrganismo N (%)				
	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. durans</i>	<i>Enterococcus</i> spp.	Total
Biofilme supragengival¹	10 (23,3)	0 (0,0)	1 (2,3)	4 (9,3)	11 (25,6)
Biofilme subgengival¹	5 (11,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	7 (16,3)	9 (20,3)
Sangue²	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Saliva³	6 (12,0)	1 (2,0)	1 (2,0)	12 (24,0)	13 (26,0)
Mucosa³	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (4,0)	5 (10,0)	7 (14,0)
Urina²	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (8,7)	2 (8,7)
Secreção respiratória⁴	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (20,0)	2 (20,0)

¹N= 43; ²N= 23 ; ³N= 50; ⁴N= 15

DISCUSSÃO

As espécies do gênero *Enterococcus* são constituintes do trato gastrointestinal, da mucosa genital e da cavidade bucal, embora *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* estejam intimamente associados em doenças oportunistas, incluindo infecções urinárias e endocardite.^{11, 12}

Os dados de colonização aqui apresentados estão de acordo com Kayaoglu et al.¹¹ (2004) que relatam que a espécie *E. faecalis* está implicada em mais de 90% dos processos sépticos com participação de enterococos, cabendo os 10% restantes a *E. faecium*, que também apresenta-se resistente ou tolerante à

grande maioria das drogas antimicrobianas utilizadas em medicina e odontologia, principalmente em pacientes hospitalizados. Esses microrganismos frequentemente se instalam no biofilme e podem participar da etiologia das enfermidades infecciosas bucais.^{13, 14}

Frequentemente *Enterococcus* spp. e outros microrganismos oportunistas e superinfectantes, em especial bactérias entéricas, como os enterococos, leveduras e estafilococos, vêm sendo identificados na boca e ligados às infecções oportunistas.¹⁵ E a ocorrência de quadros sépticos oportunistas é particularmente relevante para pacientes mantidos em unidade de terapia intensiva (UTI), já que a UTI configura um ambiente onde pacientes de alto risco, como os politraumatizados, indivíduos oncológicos, entre outros, são atendidos.¹⁶ A fim de minimizar os riscos de infecções, o tratamento de rotina nessas unidades tem suas próprias características e peculiaridades, tornando, assim, imprescindível a caracterização dos microrganismos presentes na boca desses indivíduos.^{16,17}

Essas infecções hospitalares, principalmente as enfermidades respiratórias, mostram-se refratárias ao tratamento com antimicrobianos, em função de uma microbiota resistente às drogas, tanto microrganismos da microbiota residente, quanto exógenos^{18, 19}, que podem se alojar no biofilme.²⁰ E algumas evidências suportam que quanto maior o tempo de internação hospitalar, maior o risco de aquisição desses microrganismos resistentes à maioria dos antimicrobianos utilizados, uma vez que o uso de antimicrobianos é capaz de criar condições extremamente favoráveis para a seleção e disseminação desses microrganismos.²¹

Alguns autores relatam que a mucosa bucal e o biofilme dental são grandes reservatórios de microrganismos associados com infecções nosocomiais graves^{20, 22}, sendo que microrganismos bucais têm sido associados a vários quadros infecciosos sistêmicos, como doenças cardiovasculares^{7, 23}, infecções

pulmonares²⁴, pneumonias hospitalares em unidades de terapia intensiva^{25, 26}.

Nesse sentido, os enterococos, em particular *E. faecalis*, vem sendo detectados com frequência na boca, tanto em saliva, quanto biofilme^{14, 27, 28, 29}, podendo ter sua ocorrência afetada pelas condições de saúde periodontal dos pacientes.³⁰ Esses cocos também se mostram profundamente tolerantes a condições ambientais desfavoráveis e, por conseguinte, vêm sendo implicados em infecções de tratamento refratário, principalmente em Endodontia.²⁹ A presença de patógenos oportunistas como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *E. faecalis* em pacientes com periodontite ou sadios vem ganhando importância³⁰, embora a frequência de detecção desses patógenos tenha se mostrado superior aos resultados apresentados nas tabelas 1 e 2. Entretanto, quando os dados são analisados segundo a condição clínica periodontal, observa-se que a frequência de *E. faecalis* se mostra semelhante ao estudo de Colombo et al.³⁰ (2013).

Embora a maior prevalência seja em pacientes com periodontite, como também observado na presente avaliação, *E. faecalis* aparentemente não é capaz de invadir de forma significativa o interior das células epiteliais das bolsas periodontais, o que impede que suas populações se tornem proeminentes nesses ambientes, mantendo os níveis de contaminação relativamente pequenos, como sugerido por Colombo et al.³⁰ (2013).

A relação positiva que os enterococos mostraram com o uso prévio de antimicrobianos ilustra o quanto esses agentes podem potencializar a colonização dos pacientes pela supressão de parte da microbiota residente podendo a partir daí se alastrar para os demais pacientes, caso medidas preventivas não sejam adotadas¹⁵, em função da grande tolerância a condições ambientais desfavoráveis que esses microrganismos apresentam.^{31, 32}

A despeito da prevalência de enterococos na boca dos pacientes estudados, a ocorrência desses

microrganismos nas infecções e quadros sépticos observados não foi elevada, possivelmente pelas medidas de controle de infecção e do biofilme adotadas pela equipe de saúde envolvida nos atendimentos. Essas medidas visam minimizar a transmissão entre os pacientes de linhagens multirresistentes à drogas antimicrobianas. A participação modesta desses microrganismos em infecções envolvendo a corrente circulatória necessita ser reavaliada nas condições das populações brasileiras, embora a mortalidade, nesses casos, seja elevada.¹⁹

No presente estudo, não se observou uma presença maciça de enterococos no biofilme bucal e outros espécimes, mesmo após uma semana de internação dos pacientes, como previamente relatado por nosso grupo de pesquisa⁴, possivelmente em função dos cuidados de controle de infecção e de higiene bucal que passaram a ser implementados.

CONCLUSÃO

A despeito da presença de amostras positivas para o gênero *Enterococcus* na boca de pacientes mantidos em unidades de terapia intensiva, não se pode afirmar com segurança que a ocorrência bucal desses patógenos oportunistas foi um fator condicionante das infecções respiratórias ou quadros de sepse, que raramente contaram com a presença desses cocos Gram-positivos. Observou-se também que existe correlação entre a presença desses microrganismos na boca e a utilização de antimicrobianos de amplo espectro de ação.

Verificou-se que os pacientes com quadros sépticos graves apresentavam maior ocorrência desses cocos no biofilme e mucosas bucais, sugerindo que as condições sistêmicas sejam condicionantes do processo de colonização desses microrganismos na cavidade bucal.

REFERÊNCIAS

1. Gaetti-Jardim JrE, Nakano V, Wahasugi TC, Cabral FC, Gamba R, Avila-Campos MJ. Occurrence of yeasts, enterococci and other enteric bacteria in subgingival biofilm of HIV-positive patients with chronic gingivitis and necrotizing periodontitis. Braz J Microbiol. 2008; 39: 257-261.
2. Gaetti-Jardim JrE, Avila-Campos MJ, Ciesielski FIN, Sousa FRN. Occurrence of yeasts, pseudomonads and enteric bacteria in the oral cavity of patients undergoing head and neck radiotherapy. Braz J Microbiol. 2011; 42: 1047-1055.
3. Bousbia S, Papazian L, Saux P, Forel JM, Auffray J-P, Martin C et al. Repertoire of intensive care unit pneumonia microbiota. PLoS ONE. 2012; 7: e32486. doi:10.1371/journal.pone.0032486
4. Gaetti-Jardim JrE, Okamoto AC, Melo ME, Schweitzer CM. Opportunistic microorganisms in patients with head and neck trauma. Arch Health Invest. 2013; 2: 16-23.
5. Zuanazzi D, Souto R, Mattos MB, Zuanazzi MR, Tura BR, Sansone C, Colombo AP. Prevalence of potential bacterial respiratory pathogens in the oral cavity of hospitalized individuals. Arch Oral Biol. 2010; 55: 21-28.
6. Bizzarro S, Loos BG, Laine ML, Crielaard W, Zaura E. Subgingival microbiome in smokers and non-smokers in periodontitis: an exploratory study using traditional targeted techniques and a next-generation sequencing. J Clin Periodontol. 2013; 40: 483-492.
7. Gaetti-Jardim JrE, Marcelino SL, Feitosa AC, Romito GA, Avila-Campos MJ. Quantitative detection of periodontopathic bacteria in atherosclerotic plaques from coronary arteries. J Med Microbiol. 2009; 58: 1568-1575.
8. Marcelino SL, Gaetti-Jardim JrE, Nakano V, Canônico LA, Nunes FD, Lotufo RF, Pustiglioni FE, Romito GA, Avila-Campos MJ. Presence of periodontopathic bacteria in coronary arteries from patients with chronic periodontitis. Anaerobe. 2010; 16: 629-632.
9. Özçaka Ö, Basoglu ÖK, Buduneli N, Tasbakan MS, Bacakoglu F, Kinane DF. Chlorhexidine decreases the risk of ventilator-associated pneumonia in intensive care unit patients: a randomized clinical trial. J Periodont Res. 2012; 47: 584-592.
10. Gaetti-Jardim JrE, Landucci LF, Oliveira KL, Costa I, Ranieri RV, Okamoto AC, Schweitzer CM. Microbiota associated with infections of the jaws. Int J Dent. 2012; 2012: 1-8.

11. Kayaoglu G, Orstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. Crit Rev Oral Biol Med. 2004; 15: 308-20.
12. Gonçalves LS, Souto R, Colombo APV. Detection of *Helicobacter pylori*, *Enterococcus faecalis* and *Pseudomonas aeruginosa* in the subgingival biofilm of HIV-infected subjects undergoing HAART with chronic periodontitis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2009; 28:1335-1342.
13. Paradella TC, Koga-Ito C, Jorge AOC. *Enterococcus faecalis*: considerações clínicas e microbiológicas. Revista de Odontologia da UNESP. 2007; 36: 163-68.
14. Souto R, Colombo APV. Prevalence of *Enterococcus faecalis* in subgingival biofilm and saliva of subjects with chronic periodontal infection. Arch Oral Biol. 2008; 53: 155-160
15. Derde LP, Dautzenberg MJ, Bonten MJ. Chlorhexidine body washing to control antimicrobial-resistant bacteria in intensive care units: a systematic review. Int. Care Med. 2012; 38: 931-939.
16. Munro CL, Grap MJ, Jones DJ, McClish DK, Sessler CN. Chlorhexidine, toothbrushing, and preventing ventilator-associated pneumonia in critically ill adults. Amer J Crit Care. 2009; 18: 428-437.
17. Munro CL, Grap MJ. Oral health and care in the intensive care unit: state of the science. Amer J Crit. Care. 2004; 13: 25-3.
18. Menezes EA, Sá KM, Cunha FA, Ângelo MRF, Oliveira IRN, Salviano MNC. Frequência e percentual de suscetibilidade de bactérias isoladas em pacientes atendidos na unidade de terapia intensiva do Hospital Geral de Fortaleza. J Bras Patol Med Lab. 2007; 4: 149-155.
19. Marra AR, Camargo LFA, Pignatari ACC, Sukiennik T, Behar PRP, Medeiros EAS. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian hospitals: analysis of 2,563 cases from a prospective nationwide surveillance study. J Clin Microbiol. 2011; 49: 1866-1871.
20. Panchabhai TS, Dangayach NS, Krishnan A, Kothari VM, Karnad DR. Oropharyngeal cleansing with 0.2% chlorhexidine for prevention of nosocomial pneumonia in critically ill patients. Chest. 2009; 135: 1150-1156.
21. Russell SL, Boylan RJ, Kaslick RS, Scannapieco FA, Katz RV. Respiratory pathogen colonization of the dental plaque of institutionalized elders. Spec Care Dent. 1999; 19: 128-134.
22. Dufour D, Leung V, Lévesque CM. Bacterial biofilm: structure, function, and antimicrobial resistance. Endod Topics. 2012; 22: 2-16.
23. Scannapieco FA, Genco RJ. Association of periodontal infections with atherosclerotic and pulmonary diseases. J Periodont Res. 1999; 34: 340-345.
24. Scannapieco FA, Papandonatos GD, Dunford RG. Associations between oral conditions and respiratory disease in a national sample survey population. Ann. Periodontol. 1998; 3: 251-256.
25. Scannapieco FA. Role of oral bacteria in respiratory infection. J Periodontol. 1999; 70: 793-802.
26. Scannapieco FA, Ho AW. Potential associations between chronic respiratory disease and periodontal disease: analysis of National Health and Nutrition Examination Survey III. J Periodontol. 2001; 72: 50-56.
27. Rams TE, Feik D, Young V, Hammond BF, Slots J. Enterococci in human periodontitis. Oral Microbiol Immunol. 1992; 7: 249-252.
28. Sedgley CM, Lennan SL, Clewell DB. Prevalence, phenotype and genotype of oral enterococci. Oral Microbiol Immunol. 2004; 19:95-101.
29. Wang QQ, Zhang C-F, Chu C-H, Zhu X-F. Prevalence of *Enterococcus faecalis* in saliva and filled root canals of teeth associated with apical periodontitis. International Journal of Oral Science. 2012; 4: 19-23.
30. Colombo AV, Barbosa GM, Higashi D, Di Micheli G, Rodrigues PH, Simionato MRL. Quantitative detection of *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* and *Pseudomonas aeruginosa* in human oral epithelial cells from subjects with periodontitis and periodontal health. J Med Microbiol. 2013; 62: 1592-1600.
31. Kampf G, Kramer A. Epidemiologic background of hand hygiene and evaluation of the most important agents for scrubs and rubs. Clin Microbiol Rev 2004; 17: 863-93.

32. Ho PL, Chow KH, Lai EL, Lau EH, Cheng VC. Extended-spectrum-beta-lactamase-positive *Escherichia coli* mainly adds to, rather than replaces, extended-spectrum-beta-lactamase-negative *E. coli* in causing bacteraemia in Hong Kong, 2000e10. J Antimicrob Chemother 2012;67:778-80.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

Ana Claudia Okamoto
Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica
Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP
aokamoto@foa.unesp.br

Submetido em 01/04/2014

Aceito em 20/04/2014