

## FATORES ENZIMÁTICOS DE AGRESSÃO PRODUZIDOS POR BACTÉRIAS AERÓBICAS DA CAVIDADE BUCAL

Mario Tsunezi SHIMIZU\*  
Neide Querido ALMEIDA\*

---

**RESUMO:** Verificou-se a produção de hialuronidase, condroitin sulfatase, lecitinase e gelatinase em diferentes amostras bacterianas, isoladas da cavidade bucal. Hialuronidase foi produzida por 20 das 30 amostras de *S. aureus*, 18 das 21 amostras de *S. pyogenes* e todas as 4 amostras de *A. viscosus*. Nenhuma amostra produziu condroitin sulfatase e gelatinase; todas as 30 amostras de *S. aureus* e todas as amostras de *A. viscosus* produziram lecitinase.

**UNITERMOS:** Enzimas histolíticas; bactérias da cavidade bucal; hialuronidase; condroitin sulfatase; lecitinase; gelatinase.

---

## INTRODUÇÃO

A microbiota procariótica da placa dentária tem sido responsabilizada como importante fator na iniciação e progressão de lesões inflamatórias periodontais, sendo que o potencial patogênico pode ser devido à capacidade desses microrganismos de elaborar toxinas, enzimas e/ou outros metabólitos<sup>16,24</sup>.

Entre as diversas enzimas produzidas pela microbiota bucal temos hialuronidase, condroitin sulfatase, lecitinase<sup>4</sup> e gelatinase. A hialuronidase e condroitin sulfatase são capazes de despolimerizar o ácido hialurônico e condroitin sulfato, importantes constituintes da substância fundamental do tecido conjuntivo e epitélio gengival<sup>5,15,30</sup>. A lecitinase é capaz de hidrolisar a lecitina, um importante constituinte das membranas celulares e causa lise de células teciduais, eritrócitos e leucócitos<sup>19</sup>, enquanto a gelatinase mede a atividade proteolítica de determinados microrganismos<sup>7</sup>.

Os estudos clássicos sobre produção de hialuronidase foram realizados por CRAWLEY<sup>6</sup> e PIKE<sup>21</sup>, os quais verificaram que *Streptococcus* beta-hemolíticos produziram essa enzima. Posteriormente, outros trabalhos foram realizados, demonstrando que microrganismos como o *Propionibacterium acnes*<sup>17</sup>, *Streptococcus*

---

\* Departamento de Patologia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 12200 – São José dos Campos – SP.

*faecalis*<sup>23</sup>, *Clostridium perfringens*<sup>3,33</sup>, *P. avidum*<sup>12,13,22</sup> e *Bacillus*<sup>8</sup>, também produzem hialuronidase.

Com relação às bactérias da cavidade bucal, a literatura mostra que hialuronidase é produzida por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mitis*, *S. salivarius*<sup>18,25,32</sup>, *Treponema*, *Fusobacterium*, *Vibrio*, *Bacteroides*<sup>17</sup>, *Peptostreptococcus*<sup>29</sup>, *S. milleri*<sup>7</sup> e *Veillonella*<sup>30</sup>.

Condroitin sulfatase tem sido descrita em *S. milleri*<sup>7</sup>, *Fusobacterium*, *Bacteroides* e *Veillonella*<sup>30</sup>.

Quanto à produção de lecitinase e gelatinase, são poucos os trabalhos encontrados na literatura. Lecitinase é produzida por *S. aureus*<sup>10,20</sup>; gelatinase tem sido verificada em *S. milleri* e *S. faecalis*<sup>7</sup>.

O objetivo deste trabalho é verificar a produção daquelas enzimas, por diferentes cepas de bactérias aeróbicas isoladas na cavidade bucal.

## MATERIAL E MÉTODOS

1. Microrganismos testados – *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. pyogenes*, *Actinomyces viscosus*, *Rothia dentocariosa*, *S. aureus* e *Lactobacillus sp.*

2. Pesquisa das enzimas – para a pesquisa de hialuronidase e condroitin sulfatase, empregou-se o método descrito por SMITH & WILLETT<sup>26</sup>; para a pesquisa de lecitinase a técnica descrita por PAIVA & ITO<sup>20</sup> e para a pesquisa de gelatinase, utilizou-se o método descrito por HOFFFLER<sup>12</sup>.

3. Meios de cultura – no caso de *Lactobacillus sp* utilizou-se como meio base, o meio de Rogosa (Difco), para as demais espécies, o meio de BHI (Difco).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho, verificou-se que hialuronidase é produzida por *S. aureus* e *A. viscosus*. Trabalhos realizados por outros autores mostram que *S. pyogenes*<sup>2,26</sup> e *S. aureus*<sup>18,26</sup> são produtores de hialuronidase. Com relação ao *A. viscosus*, raros são os trabalhos que possam ser comparados com os nossos. UZEDA<sup>32</sup> analisou 37 amostras desse microorganismo e não encontrou nenhuma amostra produtora dessa enzima.

Nenhuma das amostras de *S. mutans* e *S. sanguis* produziu hialuronidase e concordam com os obtidos por KJELLMAN *et alii*<sup>14</sup> e UZEDA<sup>32</sup>. *S. salivarius* também não produziu essa enzima. Esses resultados estão de acordo com os de ROSAN & WILLIAMS<sup>23</sup> e KJELLMAN *et alii*<sup>14</sup>, que também não encontraram atividade enzimática. Entretanto, discordam dos obtidos por SCHULTZ-HÁUDT & SCHERP<sup>25</sup>, que encontraram 43% de amostras produtoras de hialuronidase.

**TABELA 1 – Pesquisa de hialuronidase, condroitin sulfatase, lecitinase e gelatinase em diferentes amostras bacterianas**

| Microrganismo          | Hialuronidase | Condroitin sulfatase | Lecitinase | Gelatinase |
|------------------------|---------------|----------------------|------------|------------|
| <i>S. aureus</i>       | 30*/20**      | 30/0                 | 30/30      | 30/0       |
| <i>S. pyogenes</i>     | 21/18         | 21/0                 | 21/0       | 21/0       |
| <i>A. viscosus</i>     | 4/4           | 4/0                  | 4/4        | 4/0        |
| <i>S. salivarius</i>   | 38/0          | 38/0                 | 38/0       | 38/0       |
| <i>S. mutans</i>       | 20/0          | 20/0                 | 20/0       | 20/0       |
| <i>S. sanguis</i>      | 15/0          | 15/0                 | 15/0       | 15/0       |
| <i>Lactobacillus</i>   | 32/0          | 32/0                 | 32/0       | 32/0       |
| <i>R. dentocariosa</i> | 10/0          | 10/0                 | 10/0       | 10/0       |

\*/\*\* = nº de amostras testadas / nº de amostras positivas.

*R. dentocariosa* e *Lactobacillus sp* também não apresentaram atividade enzimática. Os resultados obtidos com *R. dentocariosa* confirmam os obtidos por UZEDA<sup>32</sup> e LEDERMAN *et alii*<sup>15</sup>; em relação às amostras de *Lactobacillus sp*, não encontramos qualquer dado na literatura que pudesse ser comparado.

Nenhuma das amostras bacterianas testadas desdobrou o sulfato de condroitin. Estudos realizados por alguns autores mostram que *S. mutans*, *S. sanguis*, *A. viscosus*, *R. dentocariosa*<sup>15,32</sup>, *S. aureus*<sup>15,26</sup>, *S. pyogenes*<sup>26</sup> não produzem condroitin sulfatase.

Lecitinase foi produzida por todas as amostras de *S. aureus*<sup>30</sup> e *A. viscosus*<sup>4</sup> testadas. Essa enzima tem sido descrita apenas em *S. aureus*<sup>10,20</sup> e *Clostridium perfringens*<sup>3,33</sup>.

A atividade proteolítica é freqüentemente referida em termos de atividade gelatinolítica<sup>7</sup> e, as amostras com essa atividade, são conhecidas por amostras gelatinolíticas<sup>27</sup>. No presente trabalho, nenhuma das amostras apresentou essa atividade. Essa enzima tem sido descrita em espécies de *Bacillus*<sup>8</sup>, *P. acnes*, *S. milleri* e *S. faecalis*<sup>7</sup>.

Segundo TAKEUCHI *et alii*<sup>28</sup>, a destruição de tecidos é uma característica primária na iniciação de gengivites, podendo, posteriormente, levar à doença periodonta. Esse mecanismo destrutivo não está bem claro, mas determinadas enzimas, especialmente hialuronidase e condroitin sulfatase, têm sido sugeridas por vários autores como possíveis mediadores<sup>1,9,27,31</sup>.

Essas enzimas, quando localizadas na superfície do epitélio gengival ou tecido conectivo subepitelial, hidrolisam as substâncias intercelulares do epitélio, penetram na camada profunda do tecido gengival e iniciam a reação inflamatória<sup>28</sup>.

A participação dessas enzimas na iniciação da doença periodontal é ainda controversa e novos estudos são necessários.

Trabalhos realizados em nossos laboratórios (dados não publicados) mostram que material de sulco gengival colhido de pacientes com periodontite apresenta maior número de microrganismos produtores de hialuronidase do que indivíduos com gengivite ou gengiva normal. Com relação à condroitin sulfatase e lecitinase, temos observado que o número de microrganismos produtores dessas enzimas é praticamente o mesmo nos três tipos de pacientes. Esses resultados contrariam os obtidos por HERSHON<sup>11</sup>, que observou uma pequena diferença entre material de sulco normal e com doença periodontal, com relação a atividade enzimática sobre o ácido hialurônico. Com relação ao sulfato de condroitin, esse autor verificou que material de sulco com doença periodontal apresentava um aumento marcante quando comparado com o material de sulco normal. De acordo com MAHLER & LISANTI<sup>18</sup>, pacientes com periodontite apresentam maior teor de hialuronidase na saliva do que pacientes com gengiva normal.

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pela FAPESP – Processo 85/3590-1 e CPE/RUNESP – Processo 4628/85.

---

SHIMIZU, M. T. & ALMEIDA, N. Q. – Production of histolytic enzymes by aerobic oral bacteria. *Rev. Odont. UNESP*, São Paulo, **18**: 199-204, 1989.

*ABSTRACT: The production of hyaluronidase, chondroitin sulfatase, lecithinase and gelatinase was investigated in various bacterial strains isolated from the oral cavity. Hyaluronidase was found to be produced by 20 of the 30 strains of the S. aureus, 18 from the 21 strain of the S. pyogenes and all the 4 strains of the A. viscosus. None of the strain searched produced chondroitin sulfatase and gelatinase. All the 30 strains of the S. aureus and all the strains of the A. viscosus produced lecithinase.*

*KEY-WORDS: Histolytic enzymes; aerobic oral bacteria; hyaluronidase; chondroitin sulfatase; lecithinase; gelatinase.*

---

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AISENBERG, M. S. & AISENBERG, A. D. – Hyaluronidase in periodontal disease. *Oral Surg.*, 4: 317-20, 1951.
2. BENCHETRIT, L. C.; AVELINO, C. C. & OLIVEIRA, C. M. – Serotypes and extra cellular hyaluronidase of group A Streptococci. *Rev. Microbiol.*, 15: 35-8, 1984.
3. BRAUDE, A. I. – *Microbiology*. Philadelphia, W. B. Saunders, 1982. 845p.
4. BURNETT, G. W.; SCHERP, H. W. & SCHUSTER, G. S. – *Microbiologia Oral & Doenças Infecciosas*. 3. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1978. 765p.
5. CIMASONI, G. & HELD, A. J. – Intracellular mucopolysaccharides in human gingival epithelium. *Arch. oral Biol.*, 9: 751-2, 1964.
6. CRAWLEY, N. – Hyaluronidase production by hemolytic streptococci of human origin. *J. Pathol. Bact.*, 56: 27-35, 1944.
7. DAHLÉN, G.; WIKSTROM, M. & MOLLER, A. – Production of histolytic enzymes by a combination of oral bacteria with know pathogenicity. *J. dent. Res.*, 62: 1041-4, 1983.
8. EVANS, D. G. & WARDLAW, A. C. – Gelatinase and collagenase production by certain species of *Bacillus*. *J. Gen. Microbiol.*, 8: 481-7, 1953.
9. GAFFER, A.; COLEMAN, E. J. & MARCUSEN, H. W. – Penetration of dental plaque components intra gingiva: sequential topical treatments with hyaluronidase and streptococcal polysaccharides in rats. *J. Periodontol.*, 52: 197-205, 1981.
10. GILLESPIE, W. A. & ALDER, V. G. – Production of opacity in egg-yolk by coagulase-positive staphylococci. *J. Path. Bact.*, 64: 187, 1952.
11. HERSHON, L. E. – Elaboration of hyaluronidase and chondroitin sulfatase by microorganisms inhabiting the gingival sulcus: evaluation of a screening method for periodontal disease. *J. Periodontol.*, 42: 34-6, 1971.
12. HOEFFLER, U. – Enzymatic and hemolytic properties of *Propionibacterium acnes* and related bacteria. *J. clin. Microbiol.* 6: 555-8, 1977.
13. HOFFLER, U. – Production of hyaluronidase by propionibacteria from different origins. *Zbl. Bakt. Hyg.*, I. Abt. Orig. A, 245: 123-9, 1979.
14. KJELLMAN, O.; LINDER, L. & FROSTELL, G. – Effect in vitro of pH and low glucose concentrations on the growth and hyaluronidase activity of a strain of *Streptococcus mitis*. *Odont. Revy*, 22: 27-36, 1971.
15. LEDERMAN, H. M.; HAYASCHI, J. A. & BAHN, A. N. – Chondroitin sulfatase in oral. *J. dent. Res.*, 51: 206, 1972.
16. LEUNG, S. W. – The relation of calculus, plaque and food impaction to periodontal disease. *J. dent. Res.*, 41: 306-11, 1962.
17. MAC DONALD, J. B.; GIBBONS, R. J. & SOCRANSKY, S. S. – Bacterial mechanisms in periodontal disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 85: 467, 1960.
18. MAHLER, I. R. & LISANTI, V. F. – Hyaluronidase production microorganisms from human saliva. *Oral Surg.*, 5: 1235-40, 1952.
19. NOLTE, W. A. – *Oral microbiology with basic microbiology and immunology*. 4. ed. London, C. V. Mosby Co., 1982. 795p.
20. PAIVA, G. M. & ITO, I. I. – Eficiência da prova da lecitinase com 100 amostras relativamente às provas de coagulase fermentação do manitol e DNase, na diferenciação entre "*Staphylococcus aureus*" e "*S. epidermidis*". *Rev. bras. Anál. clin.*, 4: 13, 1972.

21. PIKE, R. – The production of hyaluronic acid and hyaluronidase some strains of group A streptococci. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 52: 1070-3, 1950.
22. PUHVEL, S. M. & REISNER, R. M. – The production of hyaluronidase (Hyaluronate lyase) by *Corynebacterium acnes*. *J. Invest. Dermatol.*, 58: 66-70, 1972.
23. ROSAN, B. & WILLIAMS, N. B. – Hyaluronidase production by oral enterococci. *Arch. oral Biol.*, 9: 291-8, 1964.
24. ROSAN, B. & WILLIAMS, N. B. – Hyaluronidase production by oral enterococci. *Arch. oral Biol.*, 9: 291-8, 1964.
25. SCHERP, H. W. – Discussion of bacterial factors in periodontal disease. *J. dent. Res.*, 41: 327-30, 1962.
26. SCHULTZ-HAUDT, S. D. & SCHERP, R. W. – Production of hyaluronidase and beta-glucorindase by viridans streptococci isolated from gingival creavices. *J. dent. Res.*, 34: 924-9, 1955.
27. SMITH, R. F. & WILLETT, N. P. – Rapid plate method for screening hyaluronidase and chondroitin sulfatase – producing microorganisms. *Appl. Microbiol.*, 16: 1434-6, 1968.
28. STEFEN, E. K. & HENTGES, D. I. – Hydrolytic enzymes of anaerobic bacteria isolated from human infections. *J. clin. Microbiol.*, 14: 153-6, 1981.
29. TAKEUCHI, H.; HORI, Y., KANEHISA, J.; TANI, A.; TAKAI, R. & SAGAWA, H. – Bacterial chondroitinase ABC and hyaluronidase in human dental plaque and inflamed gingiva. *J. Osaka dent. Univ.*, 16: 183-7, 1982.
30. TAM, Y. C. & CHAN, E. C. S. – Phase variation of hyaluronidase producing peptostreptococci associated with periodontal disease. *J. dent. Res.*, 62: 1009-12, 1983.
31. TAM, Y. C.; HARVEY, R. F. & CHAN, E. C. S. – Chondroitin sulfatase producing and hyaluronidase producing oral bacteria associated with periodontal disease. *J. Canad. Dent. Ass.*, 115-20, 1982.
32. THILANDER, H. – The effect of leococytic enzymes activity on the structure of the gingival pocket epithelium in man. *Acta. odont. Scand.*, 21: 431-51, 1963.
33. UZEDA, M. – *Mucopolissarises (Hialuronidase e Condrosulfatase) em componentes da microbiota do sulco gengival humano*. Rio de Janeiro, Instituto de Microbiologia, 1973. 88p. (Tese de Mestrado)
34. WILLIS, A. T. – The lipolytic activity of some clostridia. *J. Path. Bact.*, 80: 79, 1960.

Recebido para publicação em 29.08.1988