

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Regina Márcia Serpa Pinheiro

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS MICROBIANOS E
SALIVARES NA DOENÇA PERIODONTAL ASSOCIADA
AO DIAGNÓSTICO DE DIABETES MELLITUS TIPO II**

Taubaté – SP
2010

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Regina Márcia Serpa Pinheiro

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS MICROBIANOS E
SALIVARES NA DOENÇA PERIODONTAL ASSOCIADA
AO DIAGNÓSTICO DE DIABETES MELLITUS TIPO II**

Dissertação apresentada para obtenção do Título de Mestre pelo Programa de Pós-graduação em Odontologia do Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté.

Área de concentração: Periodontia

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Cortelli

Taubaté – SP
2010

Dedico este trabalho...

À DEUS:

Por ter me dado a graça de viver cada momento, que somados formam a minha vida e por me dar a vontade, a força e os meios para a superação dos obstáculos e não desistir diante das barreiras.

À Domingos Serpa Sobrinho e Nair Caciquinho Serpa, meus pais, pelo incentivo que sempre me deram aos estudos, pelo amor, dedicação e pela vida.

À Valmiro José Pinheiro, esposo, pela paciência, incentivo e compreensão nos momentos de ausência.

À Gustavo Serpa Pinheiro e Leandro Serpa Pinheiro, meus filhos, que estiveram ao meu lado durante todo o curso, pelo carinho, e apoio.

AGRADECIMENTOS

Desejo expressar meu agradecimento a todos que, de uma forma ou de outra, contribuíram para a conclusão de minha pesquisa e especialmente...

À Faculdade São Lucas e a Universidade de Taubaté, instituições onde tive a oportunidade de dar um importante passo rumo ao crescimento científico e profissional.

Ao Professor Dr. José Roberto Cortelli, meu orientador, a quem tanto admiro por sua competência e profissionalismo, pela orientação, colaboração, atenção, apoio, estímulo e confiança em mim depositada ao longo deste período.

À Bióloga Juliana Guimarães dos Santos do Laboratório de Biologia Molecular da UNITAU e ao Professor Dr. Gilson Cesar Nobre Franco, pela essencial ajuda durante a realização da fase laboratorial do trabalho, realizando o processamento das amostras.

Ao Professor Dr. Davi Romeiro Aquino, pelo auxílio na análise estatística deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Odontologia da UNITAU, pelos ensinamentos transmitidos e por estarem sempre dispostos a nos atender.

Aos funcionários do Centro Odontológico, do Laboratório de Análises Clínicas e do Laboratório de Microbiologia da Faculdade São Lucas que de alguma forma contribuíram para os meus trabalhos durante este período, por todo auxílio que nos foi prestado.

Aos colegas do mestrado, pelo apoio mútuo e incentivo constante, especialmente a amiga Iracema, por todos os momentos que passamos juntas, de alegria e tristeza, pela convivência e amizade sincera, que tenho certeza é para toda a vida.

À Bibliotecária Regina Márcia Cuba, pela revisão que tornou meu trabalho adequado às normas.

Aos pacientes e aos voluntários que contribuíram de forma significativa para o meu aprendizado e para a execução deste trabalho.

Agradeço a todos de coração.

“A alegria está na luta, na tentativa, no sofrimento envolvido.

Não na vitória propriamente dita”.

Mahatma Gandhi

Pinheiro RMS. Avaliação de parâmetros microbianos e salivares na doença periodontal associada ao diagnóstico de diabetes mellitus tipo II [Dissertação de mestrado]. Taubaté: Universidade de Taubaté, Departamento de Odontologia, 2010, 70p.

RESUMO

A fundamentação do presente estudo foi o de validar alguns fatores biológicos importantes na associação doença periodontal e diabetes em estudo do tipo transversal. **Objetivo:** Foi comparar o perfil microbiano e salivar de indivíduos diabéticos (GT) em relação a não diabéticos (GC) equilibrados sob características clínicas periodontais. **Método:** Foram incluídos 29 indivíduos diabéticos e 32 não-diabéticos, de ambos os gêneros, alocados em Porto Velho/RO e submetidos a exames laboratoriais como glicemia de jejum e hemoglobina glicada. Foi realizada ainda avaliação clínica bucal incluindo mensurações de profundidade de bolsa (PS), perda de inserção clínica (PIC), índice de placa (IP) e gengival (IG) para estabelecimento do diagnóstico periodontal. Exames microbianos foram realizados para avaliar a presença de *Agregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, e *Campylobacter rectus* por Reação em cadeia da polimerase (PCR). Os exames salivares avaliaram pH, fluxo salivar, capacidade tampão e concentração de glicose na saliva. **Resultados:** Os valores médios e desvio-padrão dos parâmetros clínicos de PS, PIC, IP e IG foram respectivamente: GT (2,41±0,64); (2,76±1,66); (0,46±0,24); (0,28±0,15) e GC (2,55±0,71); (2,38±1,72); (0,40±0,24); (0,34±0,20). Na análise microbiológica, os patógenos mais prevalentes em ambos os grupos foram *P. gingivalis* e *T. forsythia* (GT: 86,2%; GC: 90,6%) e (GT: 93,1%; GC: 96,8%). Peso, Índice de massa corporal (IMC) e análise salivar, apresentaram-se iguais em ambos os grupos. As taxas glicêmicas dos indivíduos diabéticos foram superiores ($p < 0,05$) as dos indivíduos não diabéticos. **Conclusão:** Após avaliação dos resultados concluímos que os fatores microbianos e salivares não diferiram entre os grupos examinados, logo estes fatores não foram importantes na caracterização de diabéticos e não diabéticos neste modelo de estudo. A condução de estudos longitudinais poderá elucidar a validade destes fatores biológicos na relação doença periodontal e diabetes.

Palavras-chave: Diabetes mellitus; Periodontite; Saliva.

Pinheiro RMS. Evaluation of microbial and salivary parameters in disease periodontal associated with diagnosis of type II diabetes mellitus [Dissertação de mestrado]. Taubaté: Universidade de Taubaté, Departamento de Odontologia, 2010, 70p.

ABSTRACT

The present cross-sectional study aimed to validate different biological factors relate to periodontal and diabetes diseases. **Objective:** Our study compared microbiological and salivary parameters of diabetics and non diabetics subjects matched by periodontal profile. **Method:** A total of 29 diabetic and 32 non diabetic subjects were included in this survey. The study population, allocated in Porto Velho-RO, Brazil, was submitted to clinical periodontal examinations, such as: Periodontal pocket depth (PPD), Clinical attachment loss (CAL), Plaque index (PI) and Gingival index (GI) as well as salivary, fasting blood glucose and glycated hemoglobin tests. Additionally, the presence of *Agregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* and *Campylobacter rectus* was performed by Polimerase Chain Reaction. **Results:** We observed the following clinical results: at the TG, mean values of PPD, CAL, PI and GI were respectively (2.41±0.64); (2.76±1.66); (0.46±0.24); (0.28±0.15) while at the CG were (2.55±0.71); (2.38±1.72); (0.40±0.24); (0.34±0.20). According to microbiological data we observed that the most prevalent pathogens in both groups were *P. gingivalis* (TG: 86.2%; CG:90,6%) and *T. forsythia* (TG: 93,1%; CG: 96,8%). Took in consideration parameters such as: Weight, body mass index and saliva we also verified no statistically significant differences between groups, on the other hand, the mean rates of glucose in diabetic patients were higher (p<0.05) than non diabetic subjects. **Conclusion:** The results of this study showed that salivary and microbial factors did not differ between groups, so these factors were not represent an important tool to characterize differences between diabetic and non diabetic patients. Then, we also recommend a different approaches, such as, longitudinal studies to validate these biological factors in the relationship of periodontal disease and diabetes.

Keywords: Diabetes mellitus; Periodontitis; Saliva.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Distribuição da população estudada	33
Tabela 2-	Distribuição dos valores médios de PS, PIC, IP, IG de acordo com a condição sistêmica dos indivíduos	33
Tabela 3-	Distribuição dos valores médios do peso, IMC e glicemia de acordo com a condição sistêmica dos indivíduos	37
Tabela 4-	Distribuição dos valores médios do fluxo salivar, pH, capacidade tampão e GLISAL de acordo com a condição sistêmica dos indivíduos	38

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Descrição dos <i>primers</i> que serão utilizados no presente estudo	28
Figura 2-	Gel de agarose com <i>primer</i> específico para <i>A. Actinomycetemcomitans</i>	34
Figura 3-	Gel de agarose com <i>primer</i> específico para <i>C. rectus</i>	35
Figura 4-	Prevalência (%) dos patógenos periodontal nos indivíduos do grupo teste	36
Figura 5-	Prevalência (%) dos patógenos periodontal nos indivíduos do grupo controle	36
Figura 6-	Prevalência (%) dos patógenos periodontal de acordo com a condição sistêmica dos indivíduos	37

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1 DIABETES MELLITUS – EPIDEMIOLOGIA	14
2.2 CLASSIFICAÇÃO DO DIABETES MELLITUS	15
2.3 EPIDEMIOLOGIA – DOENÇA PERIODONTAL	16
2.4 MICROBIOLOGIA DAS DOENÇAS PERIODONTAIS	16
2.5 AVALIAÇÃO SALIVAR	19
3 PROPOSIÇÃO	21
4 MÉTODO	22
4.1 ASPECTOS ÉTICOS	22
4.2 SELEÇÃO DA AMOSTRA	22
4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO DOS PARTICIPANTES	23
4.4 EXAMES LABORATORIAIS E CLÍNICOS	23
4.4.1 Diagnóstico de Diabetes	24
4.5 ÍNDICES PERIODONTAIS	26
4.5.1 Sítios e método de obtenção das amostras bacterianas	26
4.5.2 Extração do DNA - Cones de papel	27
4.5.3 Amplificação do DNA extraído das amostras por PCR	27
4.5.4 Verificação da PCR através de eletroforese	28
4.5.5 Coleta salivar	29
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	30
5 RESULTADOS	32
6 DISCUSSÃO	39
7 CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS	52
ANEXOS	62

1 INTRODUÇÃO

O Diabetes Mellitus (DM) é caracterizado como uma alteração patológica de origem endócrina, provocada por uma desordem no metabolismo dos carboidratos, lipídios e proteínas, ocasionando uma resposta secretória defeituosa ou deficiente de insulina (Melgaço, 2002; Ship, 2003; American Diabetes Association, 2005; Lamster et al., 2008). Esta é causada pela baixa produção de insulina pelas células beta das ilhotas de Langerhans no pâncreas ou falta de resposta dos tecidos periféricos ao mesmo ocasionando um alto nível de glicose no sangue e excreção desta na urina (Lopes et al., 2001; Melgaço, 2002; Mealey & Ocampo, 2007).

Diabetes Mellitus tipo II (DM2) é considerado uma doença crônica e frequente, cuja prevalência aumentou rapidamente em todo o mundo nas últimas décadas, atingindo proporções epidêmicas em vários países, especialmente nos países em desenvolvimento, de acordo com a World Health Organization (WHO, 2003), há uma epidemia em curso. Em 1985, havia trinta milhões de pacientes no mundo; em 2000, foram notificados casos de 171 milhões, um número que pode aumentar para 366 milhões em 2030 (Wild et al., 2004).

Com frequência, tem ocorrido uma associação do diabetes à inflamação gengival em resposta ao biofilme dental (Gusberti et al., 1983; De Pommereau et al., 1992). Além das complicações crônicas, como nefropatia, neuropatia e retinopatia, o diabetes mellitus também está relacionado a complicações bucais. A doença periodontal é a complicação bucal mais importante, sendo considerada a sexta complicação clássica do diabetes (Løe, 1993; Orso & Pangnoncelli, 2002; Sousa et al., 2003; Kawamura, 2005). Essas doenças apresentam uma associação

bidirecional na qual o diabetes favorece o desenvolvimento da doença periodontal e esta, quando não tratada, piora o controle metabólico do diabetes (Wehba et al., 2004). Além de seu efeito deletério sobre a saúde bucal e controle glicêmico, vários estudos têm demonstrado associação da doença periodontal com doença coronariana, outra importante causa de morbidade e mortalidade em diabéticos (Beck et al., 2000).

A associação entre doença periodontal e diabetes mellitus, vem sendo estudada há mais de três décadas e, existem atualmente evidências científicas suficientes à hipótese desta relação. Ambas apresentam prevalência relativamente alta na população geral (1% a 6% de diabetes e 14% de periodontite), são multifatoriais e tem características de cronicidade (Soskolne & Klinger, 2001). Estima-se que 3 a 4% dos pacientes adultos que se submetem a tratamento odontológico são diabéticos, e uma parte significativa deles desconhece ter a doença (Sousa et al., 2003).

Diante do exposto, o presente estudo do tipo transversal avaliou se bactérias sub gengivais e componentes salivares podem ser fatores importantes na caracterização de indivíduos diabéticos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DIABETES MELLITUS – EPIDEMIOLOGIA

Diabetes mellitus é doença crônica extremamente presente, afetando atualmente aproximadamente 171 milhões de indivíduos em todo o mundo e com projeção de alcançar 366 milhões de pessoas no ano de 2030, pulando a prevalência de 2,8% em 2000 para 4,4% (Wild et al., 2004). Números da Organização Mundial da Saúde (OMS) estimam que, em todo o globo, 987.000 mortes no ano de 2002 ocorreram por conta do diabetes, representando 1,7% da mortalidade geral (WHO, 2003).

Dados em publicações recentes, utilizando outro modelo de relação entre incidência, prevalência e mortalidade específica da doença, indicaram que o excesso de mortalidade global atribuível ao diabetes no ano de 2000 foi estimado em 2,9 milhões de mortes, equivalente a 5,2% da mortalidade geral, sendo 2,3% nos países pobres e mais de 8% em países desenvolvidos, tais como os Estados Unidos e Canadá (Roglic et al., 2005).

Além das complicações crônicas, como nefropatia, neuropatia e retinopatia, o diabetes mellitus também pode levar a várias manifestações bucais, das quais a doença periodontal é a mais prevalente Kawamura (2005).

A suspeita de associação entre algumas patologias sistêmicas e patologias da cavidade oral é antiga, sendo encontrada, desde há vários anos, na literatura. Com

efeito, egípcios, hebraicos, gregos e romanos acentuavam já a importância da saúde da boca no bem-estar geral dos indivíduos. O conceito de infecção focal, com origem em 1900, estimulou a investigação no sentido de aprofundar o conhecimento sobre o papel real das afecções da cavidade bucal, em especial a doença periodontal, na saúde geral dos indivíduos (Almeida et al., 2006).

2.2 CLASSIFICAÇÃO DO DIABETES MELLITUS

O DM é classificado em DM tipo 1, onde o organismo do paciente não produz insulina, manifestando-se na infância ou adolescência tendo caráter auto-imune; DM tipo 2, a forma mais comum de DM, associada a obesidade, onde o indivíduo não mais produz insulina, ou esta, produzida por seu organismo, não consegue ser utilizada pelas células. A longo prazo, o distúrbio metabólico provoca alterações anatômicas e funcionais na saúde geral dos portadores de DM, inclusive na cavidade bucal, predispondo ao aparecimento da DP de caráter inflamatório e infeccioso. Além disso, a descompensação hiperglicêmica prolongada compromete a imunidade celular do indivíduo diabético, propiciando ainda mais a instalação da doença periodontal (American Diabetes Association, 2005).

A relação entre DM e DP no entanto, é mais complexa do que simplesmente a interseção de duas doenças comuns. O aparecimento da doença periodontal pode sinalizar o início de diabetes. Além disso, o diabetes, aumenta o risco e acelera a progressão da doença periodontal que dificulta o controle glicêmico, em última análise, criando um ciclo vicioso que pode piorar ambas as doenças (Mealey &

Oates, 2006).

2.3 EPIDEMIOLOGIA - DOENÇA PERIODONTAL

As doenças que afetam os dentes são tão antigas quanto o próprio homem, entretanto levantamentos epidemiológicos das condições de saúde bucal só tiveram início há algumas décadas. A partir do estudo experimental em humanos sobre a gengivite, realizado por (Løe et al., 1965; Løe, 1981), pode-se observar que o acúmulo de biofilme dental acarretava o desenvolvimento de inflamação gengival (gengivite) e que a sua remoção propiciava a resolução destas lesões.

Nos últimos anos tem sido dada atenção especial à relação da doença periodontal com possíveis fatores de risco, como fumo e condições sistêmicas específicas como diabetes, problemas cardiovasculares, parto prematuro (Williams & Offenbacher, 2000).

Gjerme (2000) afirma que o grau de destruição periodontal aumenta da faixa etária de trinta a sessenta anos, quando estabiliza, e aponta que a associação entre idade e doença periodontal pode se dar devido ao registro acumulativo da doença periodontal (perda de inserção e de tecido ósseo) ou a fatores biológicos ou ambientais.

2.4 MICROBIOLOGIA DAS DOENÇAS PERIODONTAIS

Fatores e indicadores de risco para as doenças periodontais compreendem, entre outras, a presença de periodonto-patógenos como *Agregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, qualidade no controle do biofilme dental, tabagismo, aumento da idade, gênero masculino, influências genéticas, presença de níveis elevados de cálculo dental (Pihlstrom, 2001).

A cavidade bucal humana é naturalmente habitada por inúmeros microrganismos. As bactérias possuem características que permitem sua colonização não só nas superfícies dentárias como também no tecido gengival, na mucosa jugal, na língua e na saliva (Mager et al., 2003).

A colonização bacteriana na cavidade bucal representa uma das mais complexas organizações de desenvolvimento do biofilme em toda a natureza (Socransky & Haffajee, 1992). Atualmente, estima-se que cerca de seiscentas espécies bacterianas diferentes colonizem os tecidos bucais, embora a grande maioria viva em harmonia com o hospedeiro (Kazor et al., 2003).

Estudos longitudinais realizados em diferentes países têm associado à presença de algumas espécies bacterianas em indivíduos periodontalmente saudáveis, com gengivites e periodontites (All et al., 1997; Papapanou et al., 1997; Cortelli et al., 2002). Alguns estudos descreveram ainda que, apesar da incerteza referente às combinações de microrganismos requeridas para induzir a doença periodontal, certas espécies tem sido reconhecidas como patógenos periodontais devido a sua frequente presença em sítios com doença (Genco et al., 1986; Tanner, 1991).

O que genericamente denomina-se doença periodontal na verdade, representa diferentes entidades clínicas que acometem os tecidos periodontais de

proteção e suporte do dente destacando-se respectivamente as gengivites e as periodontites associadas ao biofilme dentário (AAP, 1999). Além da diversidade da doença periodontal, a sua gravidade pode variar amplamente na população, assim, a identificação precoce dos indivíduos de risco para as diferentes patologias periodontais representa uma importante medida de saúde pública.

A. actinomycetemcomitans é um bastonete Gram-negativo, imóvel, capnofílico, catalase negativa, principalmente isolado de periodontites, podendo ser encontrado em lesões de endocardite e diferentes infecções focais (Slots, 1997).

Kesić et al. (2009) afirmam que o *A. actinomycetemcomitans*, encontrado no biofilme dental e bolsa periodontal, é considerado um dos mais importantes periodontopatógenos, na etiologia das diferentes formas de doenças periodontais, pois produz vários fatores de virulência, entre eles o que é considerado mais importante, a leucotoxina que tem o potencial de modular a resposta do hospedeiro e contribuir para a destruição do tecido ósseo.

P. gingivalis é um bastonete pleomórfico curto Gram-negativo, anaeróbio, não-esporulado, não-fermentador de carboidratos. *P. gingivalis* é isolado frequentemente de amostras bacterianas subgengivais de indivíduos com diversas formas de doença periodontal. Chaves et al. (2000) associaram na terapia de manutenção, a presença subgengival de *P. gingivalis* com a progressão de perda óssea alveolar em indivíduos portadores de periodontite crônica.

P. intermedia é um bastonete Gram-negativo, anaeróbio, não esporulado, fermentador de glicose, lactose, maltose e sacarose. Slots et al. (1986) observaram *P. intermedia* em 58,6% dos sítios com atividade de doença periodontal e, em 36,2% dos sítios não-ativos, tendo correlacionado ainda esse microrganismo com periodontite e gengivite. Em estudo realizado por Ashimoto et al. (1996), a

prevalência de *P. intermedia* observada foi de 58% em indivíduos com periodontite avançada, 12% em adultos com gengivite e 18% em crianças diagnosticadas com gengivite. Foram observadas associações positivas entre *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *C. rectus* e *T. forshythia*, indicando a ocorrência de uma relação simbiótica entre esses microrganismos no interior de bolsas periodontais.

T. forshythia é um microrganismo fusiforme, Gram-negativo, anaeróbio estrito, não formador de esporos, imóvel, não fermentador de carboidratos. Este microrganismo tem sido associado as periodontites crônica e agressiva (Sakamoto et al., 2002).

C. rectus é um microrganismo anaeróbio, Gram-negativo, com mobilidade, cujas células apresentam-se com extremidades arredondadas ou achatadas, possuindo morfologias curvas, retas ou helicoidais. *C. rectus* ocorre em números aumentados em indivíduos com periodontite crônica e, associado com *F. nucleatum* foram os microrganismos mais prevalentes em sítios com doença periodontal quando comparados a controles (Tempo, 1997).

2.5 AVALIAÇÃO SALIVAR

Sabe-se que a saliva participa de importantes funções no processo digestivo, na mastigação e paladar, auxilia na deglutição e na fala além de preservar e proteger os tecidos moles e mineralizados da cavidade oral (Mandel, 1989; Chávez et al., 2000). A saliva total é uma mistura complexa de fluidos oriundos das glândulas salivares maiores, parótida, submandibular e sublingual, com uma modesta

contribuição da glândulas menores e do fluido gengival (fluido crevicular), microrganismos da cavidade bucal e restos celulares (Kaufman & Lamster, 2002).

A medida do fluxo salivar é básica para o entendimento do processo de secreção e para avaliação das condições e doenças orais e sistêmicas que levam a hiperfunção salivar Sreebny (2000).

A saliva representa um meio auxiliar de diagnóstico cada vez mais útil. Sialometria e sialoquímica são usados para diagnosticar doenças sistêmicas, monitorar a saúde geral, e como um indicador de risco para doenças, criando uma estreita relação entre saúde sistêmica e bucal (Almeida et al., 2008).

A utilização da saliva como meio de diagnóstico de doença periodontal tem sido cada vez mais pesquisada (Kaufman & Lamster, 2000).

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo do tipo transversal foi avaliar se o perfil microbiano e salivar de indivíduos diagnosticados com diabetes diferia de indivíduos não diabéticos com as mesmas características periodontais, validando se a exposição a diabetes representaria um fator de risco adicional a doença periodontal.

4 MÉTODO

4.1 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi conduzido com os preceitos determinados pela resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde, publicada em 10 de outubro de 1996. O protocolo de pesquisa foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da São Lucas e aprovado sob o no. 411/09 (Anexo A).

Cada voluntário recebeu um termo de informação e consentimento elaborado de acordo com as normas do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da São Lucas e somente após a anuência do voluntário, por meio da assinatura do termo, este foi considerado participante da pesquisa.

4.2 SELEÇÃO DA AMOSTRA

Esta pesquisa foi realizada no Ambulatório Santa Marcelina, e Policlínica Oswaldo Cruz, em Porto Velho/RO, em indivíduos que buscavam voluntariamente tratamento clínico para diabetes. Após examinar 127 indivíduos, para o desenvolvimento do estudo foram selecionados 29 indivíduos diabéticos tipo II (Grupo teste) e 32 de indivíduos não-diabéticos (Grupo controle) ambos com diagnóstico de doença periodontal.

4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO DOS PARTICIPANTES

Foram considerados aptos a participar do estudo, os indivíduos com as seguintes características:

- a) acima de 25 anos de idade;
- b) grupo teste - indivíduos com diagnóstico médico de diabetes tipo II;
- c) grupo controle - indivíduos sistemicamente saudáveis;
- d) não ter feito uso de antibioticoterapia e de tratamento periodontal nos seis meses antecedentes ao início do estudo;
- e) ausência de gravidez;
- f) disponibilidade para a realização dos exames, no dia e horário agendado.

Foram excluídos do estudo os seguintes indivíduos:

- a) pacientes com problemas renais ou sob tratamento de diálise;
- b) indivíduos portadores de doenças sistêmicas, exceto diabetes para o grupo teste;
- c) usuários de medicamentos que pudessem alterar o fluxo salivar (antidepressivos, ansiolíticos, anti-histamínicos, diuréticos entre outros).

Todos os participantes receberam orientação sobre higiene bucal e aqueles que necessitavam de tratamento odontológico foram encaminhados para a clínica da Faculdade São Lucas (FSL).

4.4 EXAMES LABORATORIAIS E CLÍNICOS

Os pacientes atendidos no Ambulatório Santa Marcelina e Policlínica Oswaldo Cruz, de ambos os grupos foram submetidos a exames médicos e odontológicos, laboratoriais e exame das condições periodontais.

Todos os indivíduos alocados no estudo foram submetidos aos seguintes procedimentos:

- a) entrevista para obtenção dos dados de anamnese detalhada, dados pessoais e história médica para avaliar a saúde geral e bucal do indivíduo;
- b) exame médico - IMC (antropometria), pressão arterial, exame físico;
- c) exame laboratorial (controle glicêmico da doença) com confirmação do médico responsável;
- d) exame das condições de saúde bucal (inspeção clínica visual com auxílio de espelho bucal plano e espátula de madeira);
- e) mensuração da profundidade de bolsa e perda de inserção clínica, índices de placa e gengival.

4.4.1 Diagnóstico de Diabetes

O médico endocrinologista estabeleceu o diagnóstico de diabetes tipo II. Para evitar um diagnóstico falso negativo, bem como uma condição transitória de açúcar elevado no sangue, os resultados fornecidos pelos exames específicos

glicose (listados abaixo), foram considerados em conjunto com a presença ou ausência de sintomas e história clínica.

4.4.1.1 Teste de Glicemia

Nível da glicemia de jejum: As amostras de sangue foram coletadas baseadas nas orientações do laboratório de análise clínica, para determinar o nível de glicemia após o jejum noturno (não comer nada após a meia-noite). Os resultados foram classificados como proposto pela American Diabetes Association (2005):

- i) níveis de glicemia até 99mg / dl = normal;
- ii) níveis de glicemia entre 100-125mg / dl = pré-diabetes;
- iii) níveis de glicemia > 125mg / dl em pelo menos duas ocasiões = diabetes;
- iv) hemoglobina glicada (A1C teste): <6 = normal; <7 = diabetes sob controle; > 8 = elevada.

4.4.1.2 Índice de Massa Corporal – IMC

O excesso de peso foi diagnosticado a partir do índice de massa corporal (IMC), que foi calculado dividindo-se o peso (kg) pela altura ao quadrado (m^2) - (IMC= Peso / altura x altura). Utilizamos o IMC $\geq 25Kg/m^2$ para definição de

sobrepeso, $\geq 30\text{Kg/m}^2$ para definição de obesidade, conforme recomendado pela WHO (2003).

4.5 ÍNDICES PERIODONTAIS

A condição clínica periodontal dos indivíduos incluídos no estudo foi estabelecida por um examinador previamente treinado e calibrado, por meio de índices periodontais. Foram utilizados os Índices de Placa (IP) e Sangramento Gengival (IG) utilizando-se sonda periodontal milimetrada (Neumar 26-0) proposto por Ainamo & Bay (1975). Utilizou-se ainda mensurações de profundidade de sondagem (PS) e do nível clínico de inserção (NCI), também com sonda periodontal milimetrada (Neumar 26-0) conforme critério estabelecido pela AAP (1999).

4.5.1 Sítios e método de obtenção das amostras bacterianas

As amostras bacterianas foram obtidas de acordo com as características da população, a saber:

Foram realizadas coletas bacterianas intra-sulculares, com cone de papel autoclavado n° 30 (Dentsply), dos sítios mesio-vestibulares dos cinco dentes que apresentavam as maiores medidas de profundidade de sondagem, preferencialmente dentes não contíguos em hemi-arcos opostos.

Quando da coleta intra-sulcular cada dente previamente selecionado foi isolado com roletes de gaze esterilizada e a placa bacteriana supra gengival removida com algodão esterilizado. O cone de papel foi inserido na porção mais apical do sulco gengival / bolsa periodontal e aí mantido por sessenta segundos (Avila-Campos & Velásquez-Meléndez, 2002). A partir de então, os cinco cones de papel de cada indivíduo foram colocados em um único microtubo (Bio-Rad) contendo 1,5mL de tampão TE e mantidos a -20°C até o seu processamento.

4.5.2 Extração do DNA – Cones de papel

Os microtubos após descongelados foram homogeneizados em agitador mecânico (Vortex[®], Phoenix, AP56), a amostra foi dividida em duas sendo uma das metades centrifugada por dez minutos (4690 X *g*). Após remoção do sobrenadante, 200µL de matriz comercial de extração e purificação de DNA (Instagene, Bio-Rad[®]) foram adicionados ao *pellet* formado. Após homogeneização por dez segundos, o material foi mantido em banho-maria por trinta minutos a 56°C. O material foi novamente homogeneizado por trinta segundos e mantido por mais oito minutos em banho-maria a 100°C. A conclusão do processo de extração e purificação deu-se pela homogeneização por trinta segundos e centrifugação por três minutos.

4.5.3 Amplificação do DNA extraído das amostras por PCR

A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada em termociclador tipo Mastercycler Gradient (Eppendorf®) de acordo com o descrito por Cortelli et al. (2008).

Com a finalidade de verificar o sucesso do processo de extração de DNA, todas as amostras envolvidas no presente estudo foram processadas inicialmente utilizando *primer* universal (Cortelli et al., 2008). As amostras negativas foram novamente submetidas ao processo de extração e posteriormente amplificação. A partir do DNA extraído de todas as amostras, a presença de *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *C. rectus* foi avaliada empregando primers específicos (Figura 1).

Bactéria	Primer	PE
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	5'AAACCCATCTCTGAGTTCTTCTTC3' 5'ATGCCAACTTGACGTTAAAT3'	550Pb
<i>P. intermedia</i>	5'TTTGTTGGGGAGTAAAGCGGG3' 5'TCAACATCTCTGTATCCTGCGT3'	575Pb
<i>P. gingivalis</i>	5'AGGCAGCTTGCCATACTGCGG3' 5'ACTGTTAGCAACTACCGATGT3'	404Pb
<i>T. forsythia</i>	5'GCGTATGTAACCTGCCCGCA3' 5'TGCTTCAGTGTCAGTTATACCT3'	641Pb
<i>C. rectus</i>	5'TTTCGGAGCGTAAACTCCTTTTC3' 5'TTTCTGCAAGCAGACACTCTT3'	598Pb

Figura 1 – Descrição dos *primers* que foram utilizados no presente estudo
Fonte: Cortelli et al. (2008) PE – Produto esperado; Pb – Pares de base

4.5.4 Verificação da PCR através de eletroforese

Para a análise dos produtos amplificados pela PCR foi empregada eletroforese conduzida a $110\text{V}/\text{cm}^2$ em solução tamponada (TBE) por uma hora utilizando-se gel de agarose a 1,5% corados com Syber Saffe. A visualização foi realizada em câmara de irradiação ultravioleta (UV). Marcador de peso molecular (Ladder 100 – Invitrogen[®]), bem como, controles positivos e negativos foram empregados em todos os géis, os quais foram fotografados e comparados com os produtos amplificados a partir de cepas padrão, cedidas pelo Instituto Fio Cruz, RJ.

4.5.5 Coleta salivar

Para a análise salivar, utilizou-se coletores esterilizados para a coleta da saliva e para a medida do fluxo salivar, proveta estéril de 50mL.

Os indivíduos foram instruídos a não comer e/ou fumar duas horas antes da coleta da saliva. As amostras de saliva foram obtidas através do método de coleta de saliva estimulada, realizada no período matutino. O paciente foi instruído a sentar-se numa posição confortável, com a cabeça levemente inclinada e a mastigar um pequeno pedaço de manguito de borracha (2cm), de forma a estimular a salivação e que estava preso a um pedaço de fio dental de 30cm, para impedir que o

indivíduo deglutisse acidentalmente o manguito. O primeiro minuto de coleta foi desprezado, e a partir de então toda a saliva produzida durante cinco minutos foi depositada em proveta estéril (Navazesh & Kumar, 2008).

Com base no volume total da saliva, mensurou-se o fluxo salivar em mL/min. De acordo com Ericsson & Hardwick (1978), o fluxo de saliva estimulada considerado normal seria de 1-3mL/min. e muito baixo para um valor menor que 0,7 mL/min.

A mensuração do pH salivar foi através do pHmetro EVLAB EV: 03 (Londrina/PR), calibrado com as soluções-padrão pH 4 e 7. A ponta do aparelho foi introduzida nos tubos contendo a saliva coletada e um sensor presente no próprio aparelho, forneceu o valor do pH salivar da referida amostra.

Para mensuração da capacidade tampão, utilizou-se 1mL da saliva total, misturado a 3mL de HCl 0,005 N. A solução foi agitada por um período de vinte segundos, em seguida o frasco foi aberto por cinco minutos eliminando o gás carbônico produzido na mistura. Imediatamente após mensurou-se o pH da solução. Se o pH final fosse menor que 4,5 a capacidade tampão da saliva estimulada seria considerada baixa; intermediária quando entre 4,6 - 5,5; boa quando superior a 5,5 (Frostell, 1980).

A concentração da glicose na saliva foi determinada enzimaticamente pelo método glicose Oxidase (Labtest, Brasil).

As amostras coletadas foram transportadas para análise, utilizando-se métodos de conservação (isopor e gelo) evitando-se alterações que comprometessem os resultados finais.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Após a tabulação dos dados clínicos e microbiológicos, os mesmos foram submetidos à análise estatística específica. Para tanto, foram utilizados os Softwares SPSS 13.0 e Bioestat 5.0. Em todas as situações analíticas foi adotado nível de significância estatística de 95% ($\alpha=0,05$).

Para cada agrupamento analítico de interesse, a característica de distribuição amostral foi testada e o teste estatístico selecionado.

Para as diversas situações analíticas estabelecidas, foram utilizados os testes estatísticos *t* de Student, Mann Whitney e Qui-quadrado.

5 RESULTADOS

O presente estudo examinou um total de 127 indivíduos, oriundos do Ambulatório Santa Marcelina e Policlínica Oswaldo Cruz, ambos localizados em Porto Velho/RO. Após avaliação dos critérios de inclusão/exclusão, foram incluídos 61 indivíduos de ambos os gêneros, sendo 29 portadores de diabetes (teste) e 32 não diabéticos (controle).

A caracterização da população estudada de acordo com a condição sistêmica distribuída por gênero encontra-se expressa na tabela 1.

Para avaliar as condições clínicas periodontais foram considerados dois parâmetros gengivais (Índice de Placa e Índice Gengival) e dois parâmetros periodontais (Profundidade de Sondagem e Nível Clínico de Inserção). Os valores médios dos parâmetros clínicos Profundidade de Sondagem (PS), Nível Clínico de Inserção (NCI), índice de Placa (IP) e Índice Gengival (IG) não sofreram interferência do diabetes, onde não foi observada diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) para nenhum parâmetro entre os grupos teste e controle (Tabela 2).

Para a avaliação do componente microbiológico, após a leitura dos géis de agarose (Figuras 2 e 3), inicialmente foi proposta uma análise intra-grupo (Figuras 4 e 5), onde, independente do grupo avaliado, *P. gingivalis* e *T. forshytia* foram os patógenos mais prevalentes ($p < 0,05$).

Posteriormente, foi proposta a avaliação microbiológica comparativa entre os grupos teste e controle, onde não foi observada diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) para os patógenos avaliados (Figura 6).

Foi conduzida também uma avaliação do peso, IMC e glicemia dos indivíduos,

comparando-os também entre os grupos experimentais. Peso e IMC apresentaram-se estatisticamente iguais ($p < 0,05$) entre os grupos, porém, as taxas glicêmicas dos indivíduos diabéticos apresentaram-se superiores ($p < 0,05$) aos indivíduos não diabéticos (Tabela 3).

Finalmente foi avaliado o comportamento do fluxo salivar, pH, capacidade tampão e GLISAL (Tabela 4), onde não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p < 0,05$).

Tabela 1 – Distribuição da população estudada

	Condição sistêmica - Diabetes		Total
	Teste	Controle	
Masculino	11	10	21
Feminino	18	22	40
Total	29	32	61
(M±DP)	(48,69 ± 9,09)	(42,34 ± 8,59)	(45,36 ± 9,32)

M – Média; DP – Desvio padrão

Tabela 2 – Distribuição dos valores médios de PS, PIC, IP e IG de acordo com a condição sistêmica dos indivíduos

	PS	PIC	IP	IG
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP (0/1)	Média ± DP (0/1)
Teste	2,41±0,64	2,76±1,66	0,46±0,24	0,28±0,15
Controle	2,55±0,71	2,38±1,72	0,40±0,24	0,34±0,20
<i>p</i> valor	0,3042	0,1453	0,9245	0,8496

DP – Desvio padrão; Teste *t* de Student e Mann Whitney

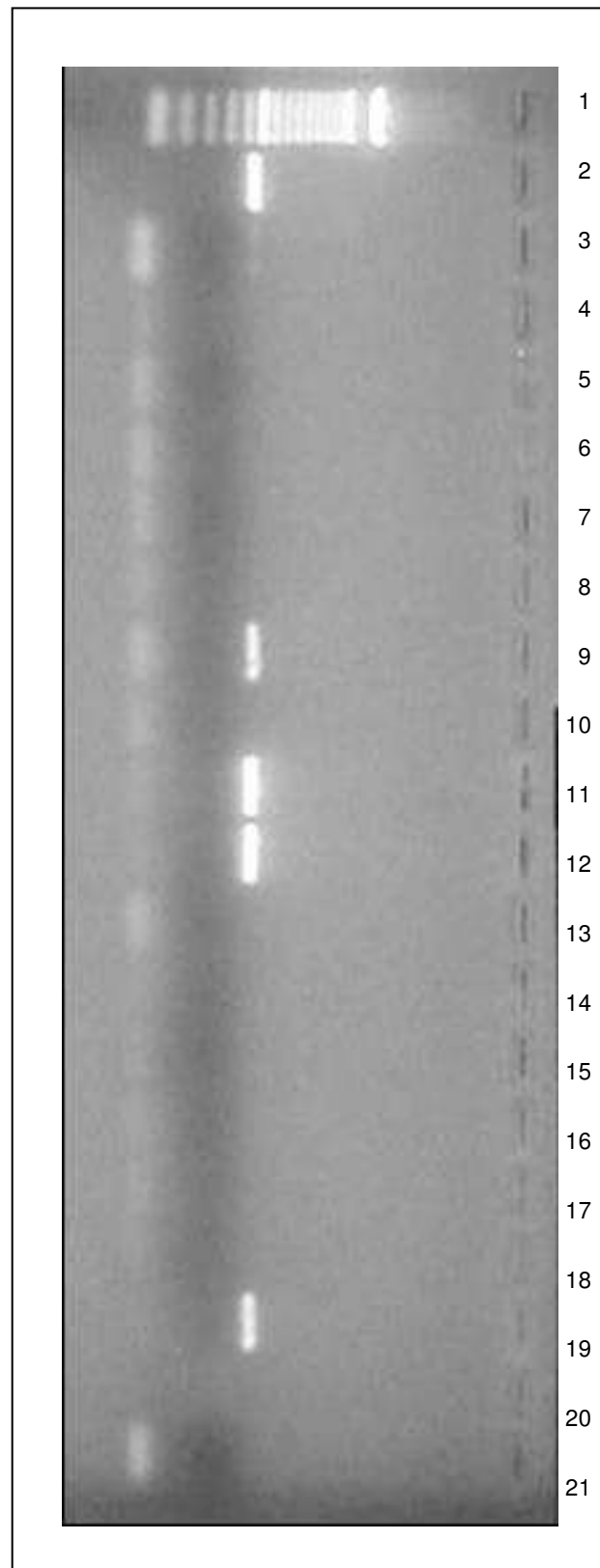


Figura 2 – Gel de agarose com *primer* específico para *A. actinomycetemcomitans*
1 – Marcador de peso molecular – Ladder 100; 2 – Controle positivo; 3-19 – Amostras; 20 – Ausente; 21 – Controle negativo

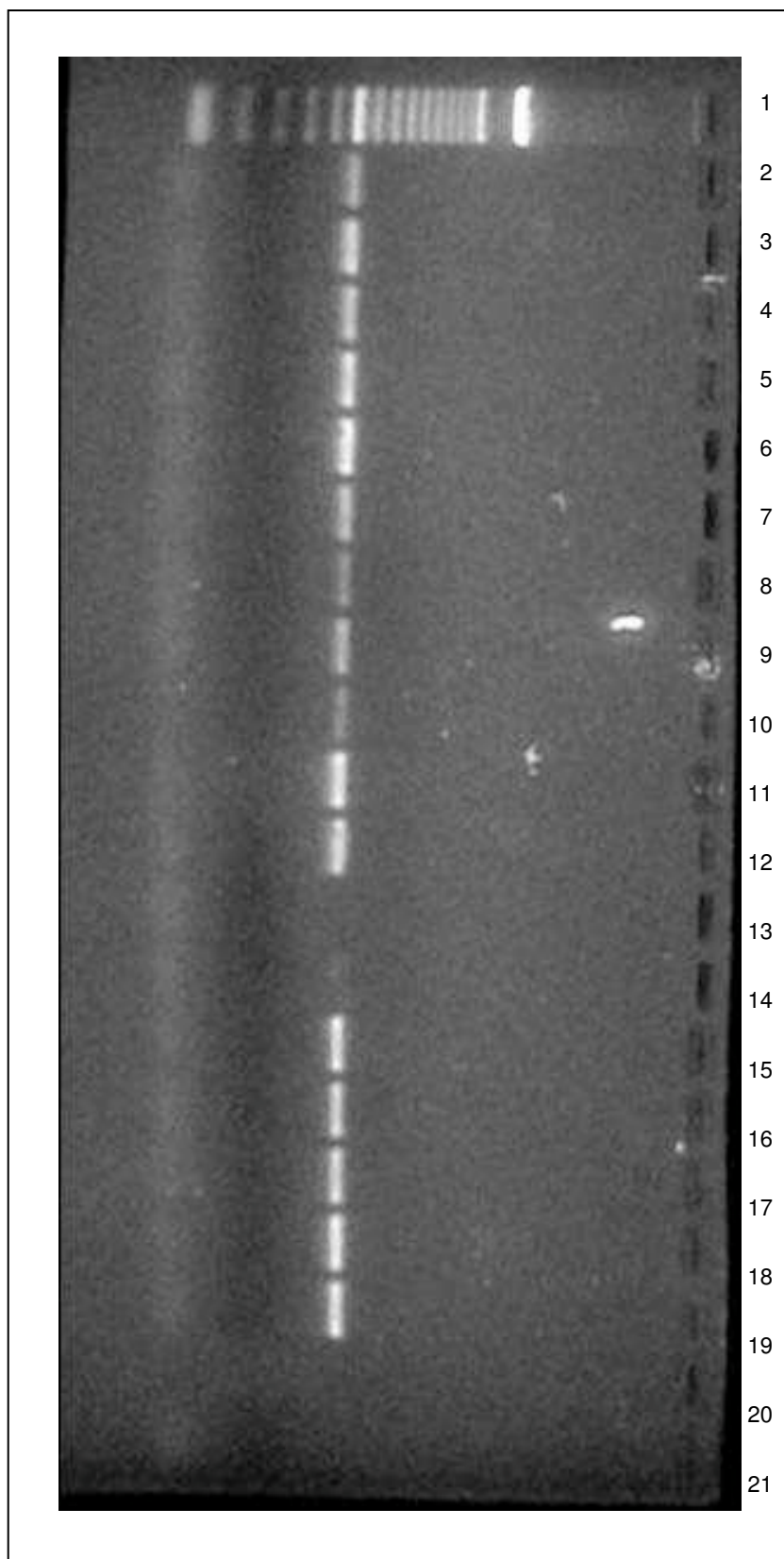


Figura 3 – Gel de agarose com *primer* específico para *C. rectus*

1 – Marcador de peso molecular – Ladder 100; 2 – Controle positivo; 3-19 – Amostras; 20 – Ausente; 21 – Controle negativo

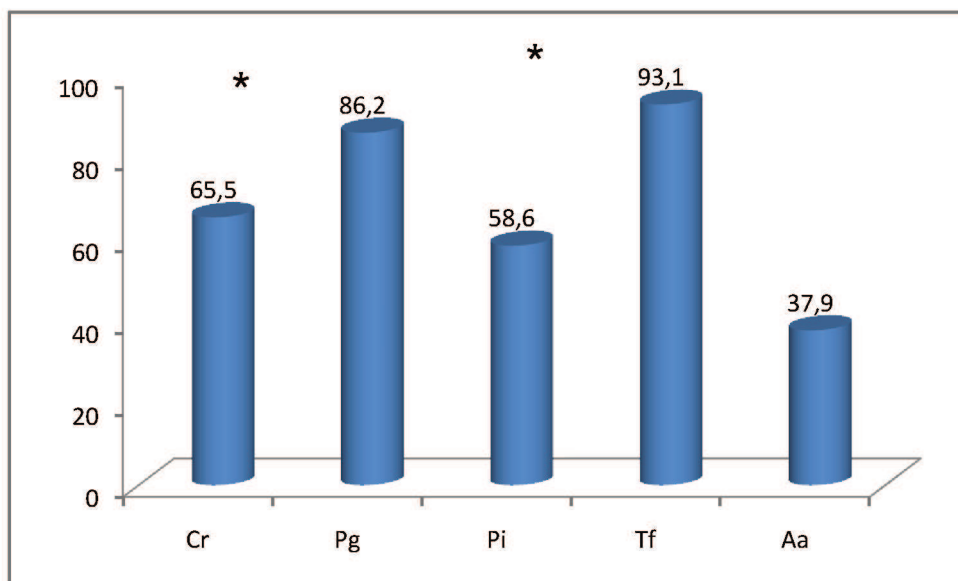


Figura 4 - Prevalência (%) dos patógenos periodontais nos indivíduos do grupo teste

Legenda:

Cr = *Campylobacter rectus* Pg = *Porphyromonas gingivalis* Pi = *Prevotella intermedia*
Tf = *Tannerella forsythia* Aa = *Agregatibacter actinomycetemcomitans*

* - Diferença estatisticamente significativa – Teste Qui-quadrado

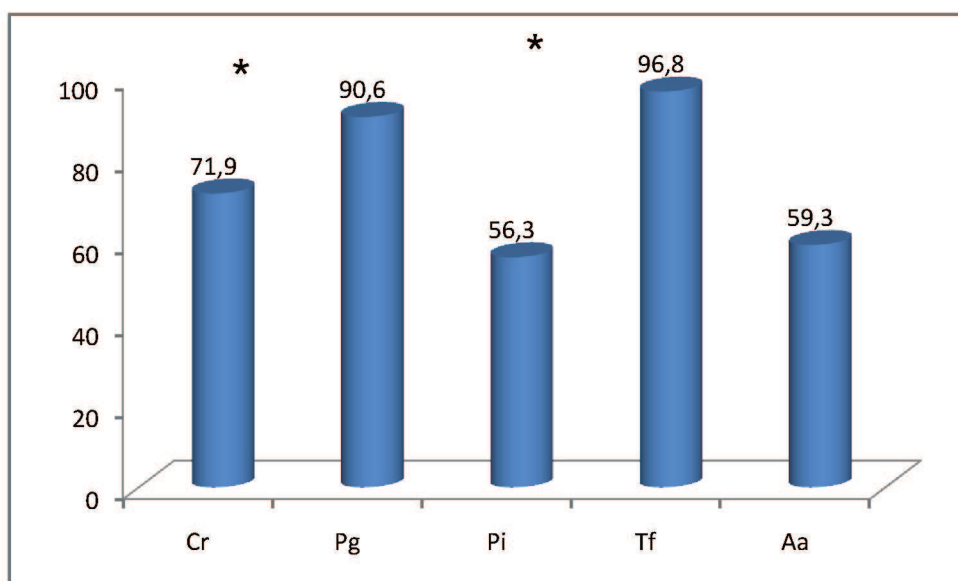


Figura 5 - Prevalência (%) dos patógenos periodontais nos indivíduos do grupo controle

Legenda:

Cr = *Campylobacter rectus* Pg = *Porphyromonas gingivalis* Pi = *Prevotella intermedia*

Tf = *Tannerella forsythia* Aa = *Agregatibacter actinomycetemcomitans*

* - Diferença estatisticamente significativa – Teste Qui-quadrado

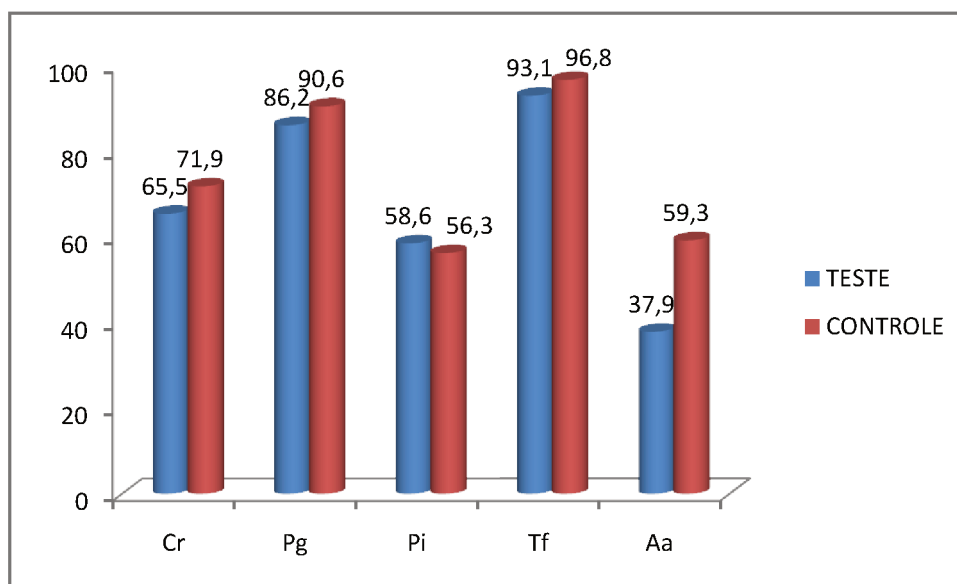


Figura 6 - Prevalência (%) dos patógenos periodontais de acordo com a condição sistêmica dos indivíduos

Legenda:

Cr = *Campylobacter rectus* Pg = *Porphyromonas gingivalis* Pi = *Prevotella intermedia*

Tf = *Tannerella forsythia* Aa = *Agregatibacter actinomycetemcomitans*

Teste Qui-quadrado

Tabela 3 – Distribuição dos valores médios do peso, IMC e glicemia de acordo com a condição sistêmica dos indivíduos

	Peso Média ± DP	IMC Média ± DP	Glicemia Média ± DP
Teste	72,03±13,36	28,98±5,49	172,41±74,42
Controle	74,49±21,45	29,59±7,12	88,03±11,90
<i>p</i> valor	0,9544	0,9230	0,0043

DP – Desvio padrão; Teste *t* de Student e Mann Whitney

Tabela 4 – Distribuição dos valores médios do fluxo salivar, pH, capacidade tampão e GLISAL de acordo com a condição sistêmica dos indivíduos

	Fluxo	pH	CT	GLISAL
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
Teste	0,91±0,46	7,68±0,53	5,22±0,86	4,28±2,65
Controle	0,94±0,64	7,80±0,56	5,43±1,03	3,28±2,48
<i>p</i> valor	0,9546	0,8365	0,7775	0,1334

DP – Desvio padrão; Teste *t* de Student e Mann Whitney

6 DISCUSSÃO

Vivemos atualmente grandes transformações e avanços científicos na medicina que permitem promoção na qualidade de vida, fazendo com que as pessoas possam viver mais.

Como reflexo, dessa era moderna, vemos mudanças nas principais patologias que acometem a população em geral. Doenças crônicas como obesidade, hipertensão arterial, diabetes entre outras, estão relacionadas aos hábitos das pessoas. Atualmente a forma de alimentar incorreta, o excesso de álcool, fumo estão presentes na rotina agitada do nosso dia a dia.

O diabetes mellitus é hoje, uma das principais doenças crônicas que afetam o homem moderno, tendo como fatores: maiores taxas de urbanização, industrialização, sedentarismo, obesidade, aumento da esperança de vida e maior sobrevivência dos diabéticos (Franco, 1998; Wild et al., 2004).

Diabetes mellitus do tipo II é uma doença metabólica complexa, multifatorial e de presença global, que afeta a qualidade e o estilo de vida dos acometidos, podendo levar a uma redução pronunciada na expectativa de vida dessa população. Portadores de diabetes podem ter uma redução de 15 ou mais anos de vida, com a grande maioria morrendo em decorrência das complicações cardiovasculares (Beck et al., 2000; Lyra et al., 2006).

Diferentes estudos tem mostrado que indivíduos diabéticos apresentam maior susceptibilidade para diversas patologias (Ship, 2003; Wild et al., 2004; ADA, 2005). Entre elas destacam-se as doenças periodontais (Grossi et al., 1996; Taylor, 2001). Løe (1993) propôs que a doença periodontal era a sexta complicação do diabetes

mellitus. Essas doenças apresentam uma associação bidirecional na qual o diabetes favorece o desenvolvimento da doença periodontal e esta, quando não tratada, piora o controle metabólico do diabetes (Wehba et al., 2004).

Levando-se em consideração a importância desta patologia e o fato de que estudos como o aqui apresentado ainda são raros na região Norte do Brasil, justifica-se dessa forma a avaliação da presença de periodontopatógenos nesta população, pois, a obtenção destes dados associados a diferentes parâmetros clínicos periodontais como presença de biofilme dental, índice gengival, profundidade de sondagem e nível clínico de inserção, caracterizam o perfil periodontal destes indivíduos. A identificação de um fator de risco para diabetes que apresente elevada prevalência e que seja modificável ou tratável é extremamente interessante, pois poderia levar à melhor controle glicêmico da doença em questão. Estes aspectos, juntamente com a obtenção dos parâmetros salivares foram importantes no delineamento do presente estudo.

O presente estudo realizado em Porto Velho/RO investigou a presença de cinco patógenos periodontais em indivíduos portadores de doença periodontal associado ao diagnóstico de Diabetes tipo II. A princípio iríamos parear por idade, gênero e diagnóstico, mas devido à dificuldade na alocação dos sujeitos da pesquisa, isso não foi conseguido na sua amplitude, todavia podemos considerar que aproximadamente 40% dos indivíduos do grupo teste foram perfeitamente pareados pelos três atributos. Dessa forma, a amostra foi composta por 61 participantes, de ambos os gêneros, com idade entre 27 e 65 anos, com a presença de no mínimo de sete dentes, que foram divididos em dois grupos: 29 diabéticos tipo 2 (11 do gênero masculino e 18 feminino) e 32 não diabéticos (dez do gênero masculino e 22 feminino) como observado na tabela 1.

Assim, toda a interpretação dos dados foi baseada em um modelo de estudo do tipo Caso-Controle, pois se buscou aqui comparar todos os dados entre duas populações semelhantes.

Porto Velho é a capital e o maior município, tanto em extensão territorial quanto em população, do Estado de Rondônia. Com uma área de 34.068,50km², o município é maior que os estados de Sergipe e Alagoas. Contudo, sua população é de 382.829 habitantes, sendo a terceira maior capital da região Norte (superada apenas pelas cidades de Manaus e Belém), a 22^a capital do Brasil, e a 57^a cidade mais populosa do Brasil. Localiza-se à margem direita do rio Madeira, afluente do rio Amazonas.

O início da alocação dos pacientes deu-se após confirmação do diagnóstico positivo ou negativo de diabetes, e exame clínico periodontal. Algumas limitações inerentes a nossa vontade foram encontradas, pois para o atendimento dos critérios de inclusão e exclusão, vários indivíduos não puderam fazer parte do estudo. Encontramos dificuldade ainda quanto da avaliação do número de dentes em boca bem como no intervalo de idade previamente estabelecido o que implicou numa demora na captação de indivíduos para a pesquisa.

Começamos investigando os parâmetros clínicos Profundidade de Sondagem (PS), Nível Clínico de Inserção (NCI), Índice de Placa (IP) e Índice gengival (IG), realizados por um avaliador previamente treinado e calibrado, a fim de avaliar o grau de gravidade da doença periodontal, ou seja, como estes índices iriam se apresentar em cada grupo, utilizando para isso os critérios estabelecidos pela AAP (1999). Já que são dados utilizados em estudos epidemiológicos, nos permitiria uma comparação com diferentes estudos.

Verificamos no presente estudo que não foi detectada diferença

estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os grupos com relação aos parâmetros clínicos Profundidade de Sondagem, Nível Clínico de Inserção, Índice de Placa e Índice Gengival entre indivíduos diabéticos e não diabéticos. Ambos apresentam uma equivalência quanto à presença de biofilme dental e resposta inflamatória do organismo à presença da infecção, indicando controle insatisfatório do biofilme pela higiene bucal.

Estudos de *Sastrowijoto et al. (1990)* não observaram qualquer diferença na severidade da doença periodontal em indivíduos diabéticos quando comparados aos indivíduos metabolicamente saudáveis. Entretanto, os estudos de *Bridges et al. (1996)*, *Taylor et al. (1996)*, *Seppälä et al. (1997)* e *Tsai et al. (2002)* demonstraram que a doença periodontal em indivíduos diabéticos descompensados metabolicamente é mais severa do que em pacientes com diabetes, cujo metabolismo encontra-se equilibrado.

Prates et al. (2006) comparando as condições periodontais entre indivíduos diabéticos tipo II e não diabéticos, pareados para sexo e idade, não observaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos para os parâmetros índice de placa visível, sangramento gengival e perda de inserção. No entanto para a profundidade de sondagem os valores médios apresentados foram significativamente maiores nos indivíduos diabéticos. Quando comparamos estes resultados com os achados do nosso estudo, vimos que eles estão de acordo no que se refere aos parâmetros IP, IG e PIC, pois os mesmos mostraram resultados equivalentes. Já com relação a PS, nossos resultados também não apresentam diferenças entre os grupos, divergindo do obtido pelos referidos autores.

Os resultados do presente estudo mostraram uma frequência levemente maior de perdas de inserção clínica entre os portadores de diabetes, quando

comparados aos indivíduos normoglicêmicos.

Estudos realizados entre os índios Pima, que apresentam a maior prevalência de diabetes do mundo, mostram a doença como importante fator de risco para a periodontite. A perda de inserção periodontal e as perdas ósseas foram maiores para os indivíduos com diabetes, em todos os grupos etários (Oliver & Tervonen, 1994).

O interesse nos testes microbiológicos é entre outros identificar periodontopatógenos subgengivais na patogênese da doença periodontal. Os principais microrganismos associados com lesões destrutivas periodontais são *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans* e *T. denticola* (Zambon, 1996). Nossa proposta foi verificar através da microbiologia, com que prevalência *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, *P. gingivalis*, e *C. rectus* iriam apresentar nos indivíduos diabéticos e não diabéticos sendo ambos portadores de doença periodontal.

Enquanto muitas dessas espécies podem ser consideradas comensais, outras como por exemplo *T. forsythia*, *P. gingivalis*, e *C. rectus* parecem estar associadas com a doença (Paster et al., 2001; Hutter et al., 2003; Kumar et al., 2006).

Um número grande de diferentes microrganismos pode ser encontrado no interior da cavidade bucal, mas apenas um número reduzido é responsável pela infecção dos tecidos periodontais e capaz de colonizar a cavidade bucal em seus mais variados locais, apesar de muitas espécies bacterianas receberem a definição de periodontopatógenos (Moore & Moore, 1994). Alguns estudos já demonstraram que são estes microrganismos que apresentam capacidade de induzir o desenvolvimento de gengivites e periodontites em humanos (Moore & Moore, 1994; Socransky & Haffajee, 2002).

Nossos achados (Figuras 4 e 5) mostram que *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *P. intermédia*, *P. gingivalis*, e *C. rectus* foram prevalentes, independentemente da condição sistêmica dos indivíduos.

A microflora subgengival em pacientes com periodontite que têm diabetes mellitus geralmente é equivalente ao observado em pacientes com periodontite que não têm um diagnóstico de diabetes (Lalla et al., 2006; Ebersole et al., 2008).

Carvalho & Cabral (2007) afirmaram que algumas espécies bacterianas específicas do biofilme subgengival demonstraram relevância etiológica na iniciação e progressão da periodontite. As três que apresentaram maior associação com as doenças periodontais destrutivas foram: *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *T. forsythia*.

Estudos de Socransky & Haffajee (2002) descreveram métodos para examinar as associações das comunidades microbiológicas bucais com a mudança do estágio “saúde” para o de “doença periodontal”. Estes pesquisadores definiram o “complexo vermelho”, constituído por três espécies bacterianas que estão intimamente ligadas à periodontite e que consideraram como sendo os microrganismos mais importantes da doença periodontal destrutiva. As espécies constituintes desse complexo são: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia*.

Apesar de ter havido alta prevalência para todas as cinco bactérias examinadas, como observado na figura 6, os microrganismos mais prevalentes foram: *T. forsythia* (GT: 93,1% e GC: 96,8%), *P. gingivalis* (GT: 86,2% e GC: 90,6%) e a menor prevalência foi de *A. actinomycetemcomitans*, entre os grupos controle (59,3%) e teste (37,9%).

No estudo de uma população tailandesa com doença periodontal e idade

entre 39-59 anos, realizado por Torrungruang et al. (2009), a prevalência de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, e *T. forsythia* foi 19%, 71% e 78% dos casos, respectivamente. A presença de *A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis*, na placa subgengival, esteve associado com periodontite crônica neste grupo de adultos tailandeses. Entretanto, *T. forsythia*, apresentou uma prevalência similar entre os indivíduos com periodontite crônica (36,5%) e os sem periodontite (35,3%). Este estudo, afirmou que os resultados ressaltam a importância do estudo destes microrganismos em diferentes grupos populacionais, pois podem dar resultados diferentes em termos da composição da microbiota subgengival e sua relação com o status periodontal.

A. actinomycetemcomitans tem sido apontado como um importante agente etiológico da periodontite crônica e da periodontite agressiva localizada em brasileiros (Tinoco et al., 1997; Cortelli et al., 2005) e em outras populações (Zambon et al., 1983; Tan et al., 2001; Lee et al., 2003).

Hamlet et al. (2001) sugerem que *A. actinomycetemcomitans* é capaz de dar início à doença periodontal, associado ao aprofundamento das bolsas e a maior anaerobiose favoreceriam o crescimento de outras espécies, como *P. gingivalis*.

Curiosamente, na periodontite crônica de pacientes chineses, a existência simultânea de *P. gingivalis* e os outros dois supostos patógenos *A. actinomycetemcomitans* e *T. forshythia* foi maior em locais colonizados por cepas *P. gingivalis* expressando fimbrias tipo II (Zhao et al., 2007) sugerindo inter-relações complexas entre a microbiota periodontal que podem ser importantes na patogênese da periodontite.

Vários pesquisadores têm observado a existência de associação entre *P. gingivalis* e doença, entre eles Ximénez-Fyvie et al. (2000) e Mayanagi et al. (2004),

que detectaram o microrganismo em mais de 40% das amostras de pacientes com periodontite. Além disso, Ximénez-Fyvie et al. (2000) sugerem que outros microrganismos, entre eles *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *T. forsythia* e *T. denticola*, apresentam relação estreita com a presença de periodontite, uma vez que estas espécies foram detectadas em taxas muito maiores nos indivíduos doentes do que naqueles com o periodonto saudável.

P. gingivalis e *P. intermedia* são as espécies mais virulentas dentro do grupo de Bactérias Gram Negativas Pigmentadas e as mais comumente associadas com a Periodontite do adulto; estas espécies habitam o sulco gengival e a bolsa periodontal da cavidade bucal (Kojima et al., 1993; Watson et al., 1994; Listgarten et al., 1995). Estes achados estão de acordo com os de nosso estudo. *P. intermedia*, mostrou-se altamente prevalente, independente do grupo analisado. A prevalência de *P. intermedia*, no grupo teste foi aproximadamente de 58,6% e no grupo controle de 56,3%.

Uma elevada proporção de doenças periodontais em progressão tem sido associada com presença ou níveis elevados de duas espécies: *P. gingivalis* e *T. forsythia* (Socransky & Haffajee, 1994; Alpagot, 1996), dados estes que podem ser confirmados com os achados deste estudo, onde os patógenos mais prevalentes foram *P. gingivalis* e *T. forsythia*.

Campylobacter rectus, está presente em número elevado em bolsas periodontais profundas, sendo associado com doença periodontal em adultos e periodontite de progressão rápida (Dzink et al., 1985; Ávila-Campos & Velásquez-Meléndez, 2002).

De acordo com Fernandes et al. (2009), a verificação da prevalência da

bactéria *Campylobacter rectus* em indivíduos dentados e desdentados em diferentes faixas etárias, moradores do Vale do Paraíba, mostrou que todos os grupos etários exibiram a presença da bactéria *C. rectus*, independentemente da presença do elemento dental (recém-nascidos 25,64%; crianças 92,50%, adultos e idosos dentados 93,33%; adultos e idosos desdentados 96,7%)

A presença de *C. rectus* está correlacionada com a existência de pelo menos uma das bactérias do complexo vermelho (*P. gingivalis*, *T. dentícola* e *T. forshythia*) Miyamoto et al. (2009). Estes achados são confirmados com os deste estudo, onde encontramos em ordem decrescente de prevalência, em ambos os grupos analisados, os seguintes patógenos *T. forshythia*, *P. gingivalis* e *C. rectus*. Pode-se desta forma verificar que houve uma associação entre eles.

Dando continuidade ao estudo, os sujeitos da pesquisa foram pesados e medidos pelo mesmo profissional, para obtenção do Índice de Massa Corporal (IMC) que foi calculado dividindo-se o peso (Kg) pela altura ao quadrado (m²).

Segundo o recomendado pela WHO (2003), IMC $\geq 25\text{Kg/m}^2$ (sobrepeso), IMC $\geq 30\text{Kg/m}^2$ (obesidade), portanto os indivíduos de ambos os grupos estudados mostram uma homogeneidade quanto ao IMC, 100% da amostra apresentando sobrepeso elevado, próximo da obesidade.

Quanto às condições de glicemia, a presença da periodontite aumenta o risco de piora do controle glicêmico de acordo com Taylor et al. (1996) e Collin et al. (1998).

A glicemia de jejum foi significante menor nos pacientes do grupo controle, apresentando o grupo teste uma taxa glicêmica elevada ($p < 0,05$). No presente estudo, a alta prevalência de sobrepeso e glicemia, vem confirmar a presença destas como um fator de risco para o diabetes.

Silva & Lima (2002) avaliaram o efeito do exercício físico em 33 indivíduos diabéticos tipo II, através de atividades aeróbias e de resistência muscular localizada, quatro vezes por semana, com sessões de sessenta minutos, e como resultado obtiveram, redução da glicemia de jejum, HbA1 (hemoglobina glicada), triglicerídeos e IMC, aumento do HDL-c e melhora da eficiência cardíaca, mostrando que a atividade física bem orientada promove uma melhoria na qualidade de vida dos pacientes. A redução significativa dos níveis de glicemia, dos lípides séricos (colesterol total, LDL-c e triglicerídeos) e do IMC, pode vir a contribuir para a redução do risco de complicações crônicas e dos custos sociais e econômicos.

A avaliação de parâmetros salivares em pacientes portadores de doença periodontal vem sendo cada vez mais utilizada no monitoramento da evolução da doença, por ser coletada e analisada mais facilmente que o fluido gengival e ser um método não invasivo comparado à coleta da amostra de sangue. Diante disso, o interesse na saliva como fluido de diagnóstico tem aumentado nas últimas décadas (Mandel, 1990).

Na Odontologia, os testes salivares têm sido correlacionados com a presença e evolução da doença periodontal (Sahingur & Cohen, 2004). O fato de o indivíduo ser diabético poderia afetar ou não o seu fluxo salivar, pH e capacidade tampão, seria outro fato a investigar através dos testes salivares.

Entre as funções da saliva, destacam-se as de limpeza, proteção e manutenção do pH bucal que é denominada de capacidade de tamponamento salivar. Qualquer alteração nos níveis de pH para baixo ou para cima é prontamente neutralizada pelos sistemas de tamponamento salivares (Epstein & Scully, 1992).

A capacidade tampão da saliva é a propriedade da saliva em manter o seu pH neutro em torno de 6,9-7,0, graças aos seus tampões mucinato/mucina,

bicarbonato/ácido carbônico e monofosfato/bifosfato que bloqueiam o excesso de ácidos e de bases, através de mecanismos específicos (Seow, 1998).

No presente estudo verificamos que os valores médios dos parâmetros salivares, não apresentaram diferença estatisticamente significativa. Verificou-se que a correlação entre fluxo salivar, capacidade tampão e glicose salivar tanto no grupo controle quanto no grupo teste apresentam $p > 0,05$, como o apresentado na tabela 4.

De acordo com Ericsson & Hardwick (1978), o fluxo de saliva estimulada considerado normal seria de 1-3mL/min. e muito baixo para um valor menor que 0,7 mL/min. No presente estudo foi observado que o fluxo salivar mostrou-se normal em ambos os grupos pesquisados ($GT=0,91 \pm 0,46$ e $GC=0,94 \pm 0,64$), ou seja, o volume de secreção das glândulas salivares não sofreu interferência quanto à instalação da doença, como pode ser visto na tabela 4.

Segundo Moore et al. (2001) embora nenhuma associação definitiva da diabetes e redução do fluxo salivar tenha sido identificada, boca seca, ou xerostomia, tem sido relatada em pessoas com diabetes mellitus, pois o fluxo salivar pode ser afetado por uma variedade de condições, incluindo o uso de medicamentos, o aumento da idade, e grau de neuropatia e sensação subjetiva de boca seca, que pode estar acompanhada de sede.

Outro parâmetro salivar avaliado em pesquisas sobre DM e sua relação com a saúde bucal é o pH salivar. Como critério de avaliação para o pH, utilizou-se os seguintes parâmetros: se o pH final fosse menor que 4,5 a capacidade tampão da saliva estimulada seria considerada baixa; intermediária quando entre 4,6 - 5,5; boa quando superior a 5,5 (Frostell, 1980).

Os valores médios encontrados para capacidade tampão (Tabela 4) demonstram que tanto o grupo teste quanto o grupo controle apresentaram

resultados que podem ser enquadrados dentro da categoria intermediária.

Alguns estudos (Collin et al., 1998; Iughetti et al., 1999) relacionam o comprometimento da diminuição da capacidade tampão da saliva com a redução do fluxo salivar. Outros estudos (Karjalainen et al., 1997), entretanto, mostraram não haver diferença entre grupos não diabéticos, diabéticos controlados e diabéticos não controlados.

De uma maneira geral, nenhuma diferença tem sido encontrada entre grupos de pacientes diabéticos e controle em relação à capacidade tampão da saliva, (Chávez et al., 2000; Karjalainen et al., 1997), o que está de acordo com os resultados da presente investigação. Após desafio ácido com HCl 0,005N, o pH salivar médio foi semelhante entre os grupos de estudo indicando a similaridade de resultados. É bem provável que os componentes inorgânicos da saliva não sejam afetados pela doença e que felizmente tanto o pH salivar quanto a capacidade tampão sejam inalterados pela doença.

O presente estudo realizado indica claramente que a concentração de glicose salivar foi semelhante para os ambos os grupos, porém contrariamente ao observado, Kadir et al. (2002) e Fiske (2004) enfatizam que os níveis acentuados de glicemia na saliva é indicador importante de Diabetes mellitus e esta está diretamente relacionada a problemas como cárie e doenças periodontais.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados encontrados, foi possível concluir que, indivíduos expostos a diabetes não sofreram interferência desta patologia no desfecho da doença periodontal.

REFERÊNCIAS

1. Melgaço CA. Diabetes Mellitus e a doença periodontal: revisão da literatura. JBE 2002; 3(2):100-104.
2. Ship JA. Diabetes and oral health: an overview. J Am Dent Assoc 2003 Oct; 134: S4-10.
3. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: position statement. Diabetes Care 2005; 28 (supplement 1): S37-42.
4. Lamster IB, Lalla E, Borgnakke WS, Taylor GW. The relationship between oral health and diabetes mellitus. J Am Dent Assoc 2008; 139 (supplement 5): S19-24.
5. Lopes FAM, Tramontina V, Moritz ES. Tratamento periodontal em pacientes diabéticos. JBE 2001 Jan-Mar; 1(4):58-62.
6. Mealey BL, Ocampo GL. Diabetes mellitus and periodontal disease. Periodontology 2000 2007; 44:127-153.
7. World Health Organization. The World Health Report 2003. Shaping the future. Geneva: World Health Organization; 2003.
8. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes - Estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care 2004 May; 27 (5):1047-1053.
9. Gusberti FA, Syed SA, Bacon G, Grossman N, Loesche WJ. Puberty gingivitis in insulin-dependent diabetic children. J Periodontal 1983 Dec; 54:714-720.
10. De Pommereau V, Dargent-Paré C, Robert JJ, Brion M. Periodontal status in insulin-dependent diabetic adolescents. J Clin Periodontol 1992 Oct; 19:628-632.
11. Løe H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. Diabetes Care 1993 Jan; 16(1):329-334.

Referências elaboradas segundo o modelo Vancouver.

- 12- Orso V, Pagnoncelli RM. O perfil do paciente diabético e o tratamento odontológico. Rev. Odonto Ciênc 2002 Abr-Jun; 17(36):206-213.
13. Sousa RR, Castro RD, Monteiro CH. O paciente odontológico portador de diabetes mellitus. Pesq. Bras. Odontoped Clin Integr 2003; 3(2):71-77.
14. Kawamura JY. **Avaliação clínica, radiográfica e imunohistoquímica da doença periodontal em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 1.** RPG Rev Pós Grad 2005; 12(3):301-307.
15. Wehba C, Rodrigues AS, Soares FP. Diabetes e doença periodontal: uma relação bidirecional. In: Brunette CM. Periodontia médica: uma abordagem integrada. São Paulo: Senac; 2004. p.172-195.
16. Beck JD, Slade G, Offenbacher S. Oral disease, cardiovascular disease and systemic inflammation. Periodontol 2000 2000 Jun; 23:110-120.
17. Soskolne WA, Klinger A. The relationship between periodontal diseases and diabetes: an overview. Annals of Periodontology 2001 Dec; 6(1):91-98.
18. Roglic G, Unwin N, Bennett PH, Mathers C, Tuomilehto J, Nag S, et al. The burden of mortality attributable to diabetes: realistic estimates for the year 2000. Diabetes Care 2005 Sep; 28(9):2130-2135.
19. Almeida R, Pinho MM, Lima C, Faria I, Santos P, Bordalo C. Associação entre doença periodontal e patologias sistêmicas. Rev Port Clin Geral 2006; 22:379-390 .
20. Mealey BL, Oates TW. Diabetes mellitus and periodontal diseases. J Periodontol 2006 Aug; 77(8):1289-1303.
21. Løe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. J Periodontol 1965 May-Jun; 36:177-187.
22. Løe H. The role of bacteria in periodontal diseases. Bulletin of World Organization 1981; 59(6):821-825.
23. Williams RC, Offenbacher S. Periodontal medicine: the emergence of a new branch of periodontology. Periodontol 2000 2000 Jun; 23:9-12.

24. Gjermo P. The impact of age. *J Clin Periodontol* 2000; 27(Suppl):S9-10.
25. Pihlstrom BL. Periodontal risk assessment, diagnosis and treatment planning. *Periodontol* 2000 2001; 25:37-58.
26. Mager DL, Ximenez-Fyye LA, Haffajee AD, Socransky SS. Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces. *J Clin Periodontol* 2003 Jul; 30 (7): 644-654.
27. Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol* 1992 Apr; 63(4 Suppl):S322-331.
28. Kazor CE, Mitchell PM, Lee AM, Stokes LN, Loesche WJ, Dewhirst FE, et al. Diversity of bacterial populations on the tongue dorsa of patients with halitosis and healthy patients. *J Clin Microbiol* 2003 Feb; 41(2):558-563.
29. All RW, Johannessen AC, Dahlén G, Socransky SS, Skaug N. Comparison of the subgingival microbiota of periodontally healthy and diseased adults in northern Cameroon. *J Clin Periodontol* 1997 Nov; 24(11):830-835.
30. Papapanou PN, Baelum V, Luan WM, Madianos PN, Chen X, et al. Subgingival microbiota in adult Chinese: prevalence and relation to periodontal disease progression. *J Periodontol* 1997 Jul; 68(7):651-666.
31. Cortelli JR, Cortelli SC, Pallos D, Jorge AOC. Presença de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* em indivíduos com periodontite agressiva localizada ou generalizada ou periodontite incipiente. *Revista da Pós - Graduação FOU SP* 2002 Abr-Jun; 9(2):103-108.
32. Genco RJ, Zambon JJ, Christersson LA. Use and interpretation of microbiological assays in periodontal diseases. *Oral Microbio Immunol* 1986 Nov; 1:73-81.
33. Tanner C. Microbial succession in the development of periodontal disease. In: Hamada S, Holt SC, McGhee JR, editors. *Periodontal disease: pathogens and host immune responses*. Tokyo: Quintessence Publishing. 1991: p.13-25.
34. AAP. American Academy of Periodontology. International Workshop for a classification of periodontal diseases and conditions. *Annals of Periodontology* 1999; 4:1-6.

35. Slots J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. In: Nisengard RJ, Newman MG. Microbiologia oral e imunologia. 2a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997. p. 187-191.
36. Kesić L, Petrović M, Obradović R, Pejčić A. The importance of *aggregatibacter actinomycetemcomitans* in etiology of periodontal disease - mini review. Acta Medica Medianae 2009; 48(3):35-37.
37. Chaves ES, Jeffcoat MK, Ryerson CC, Snyder B. Persistent bacterial colonization of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in periodontitis and its association with alveolar bone loss after 6 months of therapy. J Clin Periodontol 2000 Dec; 27(12):897-903.
38. Slots J, Bragd L, Wikström M, Dahlén G. The occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* in destructive periodontal disease in adults. J Clin Periodontol 1986 Jul; 13(6):570-577.
39. Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. Oral Microbiol Immunol 1996 Aug; 11(4):266-273.
40. Sakamoto M, Suzuki M, Umeda M, Ishikawa I, Benno Y. Reclassification of *Bacteroides forsythus* (Tanner et al. 1986) as *Tannerella forsythia* corrig., gen. nov., comb. nov. Int J Syst Evol Microbiol 2002; 52:841-849.
41. Tempro PJ, Zambon JJ. *Veillonella*, *Wolinella* e *Campylobacter*. In: Nisengard R J, Newman MG. Microbiologia oral e imunologia. 2a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997. p.193-196.
42. Mandel ID. The role of saliva in maintaining oral homeostasis. J Am Dent Assoc 1989 Aug; 119(2):298-304.
43. Chávez EM, Taylor GW, Borrell LN, Ship JA. Salivary function and glycemic control in older persons with diabetes. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2000 Mar; 89(3):305-311.
44. Kaufman K, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva: a review. Crit Rev Oral Biol Med 2002 Nov; 13(2):197-212.
45. Sreebny LM. Saliva in health and disease: an appraisal update. Int Dent J 2000

Jun; 50 (3):140-161.

46. Almeida PV, Grégio AM, Machado MA, Lima AA, Azevedo LR. Saliva composition and functions: a comprehensive review. *J Contemp Dent Pract* 2008 Mar 1; 9(3):72-80.

47. Kaufman E, Lamster IB. Analysis of saliva for periodontal diagnosis: a review. *J Clin Periodontol* 2000 Jul; 27(7):453-465.

48. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J* 1975 Dec; 25(4):229-235.

49. Avila-Campos MJ, Velásquez-Meléndez G. Prevalence of putative periodontopathogens from periodontal patients and healthy subjects in São Paulo, SP, Brazil. *Rev Inst Med Trop* 2002 Jan-Feb; 44(1):1-5.

50. Cortelli JR, Aquino DR, Cortelli SC, Fernandes CB, Carvalho-Filho J, Franco GCN, et al. Etiological analysis of initial colonization of periodontal pathogens in oral cavity. *J Clin Microbiol* 2008 Apr; 46(4):1322-1329.

51. Navazesh M, Kumar SK. Measuring salivary flow: challenges and opportunities. *J Am Dent Assoc* 2008 May; 139 Suppl:S35-40.

52. Ericsson Y, Hardwick L. Individual diagnosis, prognosis and counseling for caries prevention. *Caries Res* 1978; 12 (Suppl I):94-102.

53. Frostell GA. A Colourimetric screening test for evaluation of the buffer capacity of saliva. *Swed Dent J* 1980; 4:81-86.

54. Franco LJ. Epidemiologia do diabetes mellitus. In: Lessa I. O adulto brasileiro e as doenças da modernidade, epidemiologia das doenças crônicas não-transmissíveis. São Paulo: Hucitec/Abrasco; 1998. p.123-137.

55. Lyra R, Oliveira M, Lins D, Cavalcanti N. Prevenção do diabetes mellitus tipo 2. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006 Apr; 50(2):239-249.

56. Grossi SG, Skrepcinski FB, DeCaro T, Zambon JJ, Cummins D, Genco RJ. Response to periodontal therapy in diabetics and smokers. *J Periodontol* 1996 Oct; 67(10 Suppl): S1094-1102.

57. Taylor GW. Bidirectional interrelationships between Diabetes and periodontal diseases: an epidemiological perspective. *Ann Periodontol* 2001 Dec; 6(1):99-112.
58. Sastrowijoto SH, van der Velden U, van Steenbergen TJ, Hillemans P, Hart AA, Graaff J, et al. Improved metabolic control, clinical periodontal status and subgingival microbiology in insulin-dependent diabetes mellitus. A prospective study. *J Clin Periodontol* 1990 Apr; 17(4):233-242.
59. Bridges RB, Anderson JW, Saxe SR, Gregory K, Bridges SR. Periodontal status of diabetic and non-diabetic men: effects of smoking, glycemic control, and socioeconomic factors. *J Periodontol* 1996 Nov; 67(11):1185-1192.
60. Taylor GW, Burt BA, Becker MP, Genco RJ, Shlossman M, Knowler WC, et al. Severe periodontitis and risk for poor glycemic control in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Periodontol* 1996; 67(Supplement 10):S1085-1093.
61. Seppälä B, Sorsa T, Ainamo J. Morphometric analysis of cellular and vascular changes in gingival connective tissue in long-term insulin-dependent diabetes. *J Periodontol* 1997 Dec; 68(12):1237-1245.
62. Tsai C, Hayes C, Taylor GW. Glycemic control of type 2 diabetes and severe periodontal disease in the US adult population. *Community Dentistry and Bucal Epidemiology* 2002; 30:182-192.
63. Prates FRPM, Rizzieri AG, Rösing CK. Avaliação das condições periodontais em indivíduos diabéticos e não-diabéticos. *Stomatos*, 2006 Jan/Jun; 12(22):11-18.
64. Oliver RC, Tervonen T. Diabetes: a risk factor for periodontitis in adults? *J Periodontol* 1994; 65:530-538.
65. Zambon JJ. Periodontal disease: microbial factors. *Ann Periodontol* 1996 Nov; 1(1):879-925.
66. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, et al. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *Journal of Bacteriology* 2001; 183:3770-3783.
67. Hutter G, Schlagenhaut U, Valenza G, Horn M, Burgemeister S, Claus H, et al. Molecular analysis of bacteria in periodontitis: evaluation of clone libraries, novel phylotypes and putative pathogens. *Microbiology* 2003; 149:67-75.

68. Kumar PS, Leys EJ, Bryk JM, Martinez FJ, Moeschberger ML, Griffen AL. Changes in periodontal health status are associated with bacterial community shifts as assessed by quantitative 16S cloning and sequencing. *Journal of Clinical Microbiology* 2006; 44:3665-3673.
69. Moore WEC, Moore LVH. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontology* 2000 1994; 5:66-77.
70. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontology* 2000 2002; 28:12-55.
71. Lalla E, Kaplan S, Chang SM, Roth GA, Celenti R, Hinckley K, et al. Periodontal infection profiles in type 1 diabetes. *J Clin Periodontol* 2006; 33(12):855-862.
72. Ebersole JL, Holt SC, Hansard R, Novak MJ. Microbiologic and immunologic characteristics of periodontal disease in Hispanic Americans with type 2 diabetes. *J Periodontol* 2008; 79(4):637-646.
73. Carvalho C, Cabral CT. Papel da *Porphyromonas Gingivalis* na doença periodontal. *Rev Port Estomatol Cir Maxilofac* 2007; 48(3):167-171.
74. Torrungruang K, Bandhaya P, Likittanasombat K, Grittayaphong C. Relationship between the presence of certain bacterial pathogens and periodontal status of urban Thai adults. *J Periodontol* Jan 2009; 80(1):122-129.
75. Tinoco EM, Lyngstadaas SP, Preus HR, Gjerme P. Attachment loss and serum antibody levels against autologous and reference strains of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in untreated localized juvenile periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1997 Dec; 24(12):937-944.
76. Cortelli JR, Cortelli SC, Jordan S, Haraszthy VI, Zambon JJ. Prevalence of periodontal pathogens in Brazilians with aggressive or chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005 Aug; 32(8):860-866.
77. Zambon JJ, Christersson LA, Slots J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: prevalence in patient groups and distribution of biotypes and serotypes within families. *J Periodontol* 1983; 54:707-711.
78. Tan KS, Woo CH, Ong G, Song KP. Prevalence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in an ethnic adult Chinese population. *J Clin Periodontol*

2001 Sep; 28(9):886-890.

79. Lee JW, Choi BK, Yoo YJ, Choi SH, Cho KS, Chai JK, et al. Distribution of periodontal pathogens in Korean aggressive periodontitis. J Periodontol. 2003 Sep; 74(9):1329-1335.

80. Hamlet SM, Cullinan MP, Westerman B, Lindeman M, Bird PS, Palmer J, et al. Distribution of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* in an Australian population. J Clin Periodontol 2001 Dec; 28(12):1163-1171.

81. Zhao L, Wu YF, Meng S, Yang H, OuYang YL, Zhou XD. Prevalence of fimA genotypes of *Porphyromonas gingivalis* and periodontal health status in Chinese adults. Journal of Periodontal Research 2007; 42:511-517.

82. Ximénez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. J Clin Periodontol 2000 Sep; 27(9):648-657.

83. Mayanagi G, Sato T, Shimauchi H, Takahashi N. Detection frequency of periodontitis-associated bacteria by polymerase chain reaction in subgingival and supragingival plaque of periodontitis and healthy subjects. Oral Microbiol Immunol 2004 Dec; 19(6):379-385.

84. Kojima T, Yasui S, Ishikawa I. Distribución of *Porphyromonas gingivalis* in adult periodontitis patients. J. Periodontol 1993; 64(12):1231-1237.

85. Watson M, Bretz W, Loesche W. Presence of *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* in children correlated with periodontal disease of their parents. J Dent Res 1994; 73(10):1636-1640.

86. Listgarten M, Wong M, Lai C. Detección of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Bacteroides forsythus* in positive patient population. J. Periodontol 1995; 66:158-164.

87. Socransky SS, Haffajee AD. Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. Periodontol 2000 1994 Jun; 5:7-25.

88. Alpagot T. Risk indicators for periodontal disease in a racially diverse urban population. J Clin Periodontol 1996 Nov; 23(11):982-988.

89. Dzink JL, Tanner AGR, Haffajee AD, Socransky SS. Gram negative species associated with active destructive lesions. *J Clin Periodontol* 1985; 12:648-659.
90. Fernandes CB, Aquino DR, Franco GCN, Cortelli SC, Cortelli JR. Frequência de *Campylobacter rectus* de recém-nascidos a idosos. *Clipe Odonto Unitau* 2009; 1:2-6.
91. Miyamoto E, Nakano K, Fujita K, Nomura R, Okawa R, Matsumoto M, et al. Bacterial profiles of oral streptococcal and periodontal bacterial species in saliva specimens from Japanese subjects. *Arch Oral Biol* 2009; 54:374-379.
92. Collin HL, Uusitupa M, Niskanen L, Kontturi-Närhi V, Markkanen H, Koivisto AM, et al. Periodontal findings in elderly patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Periodontol* 1998; 69:962-966.
93. Silva CA, Lima WC. Efeito benéfico do exercício físico no controle metabólico do diabetes mellitus tipo 2 a curto prazo. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2002; 46(5):550-556.
94. Mandel ID. The diagnostic uses of saliva. *J. Oral Pathol Med* 1990 May; 19:119-125.
95. Sahingur ES, Cohen ER. Analysis of host response and risk for disease progression. *Periodontol* 2000 2004 Feb; 34:57-83.
96. Epstein JB, Scully C. The role of saliva in oral health and the causes and effects of xerostomia. *J Can Dental Association* 1992; 58(3):217-221.
97. Seow WK. Biological mechanisms of early childhood caries. *Community Dental Oral Epidemiol* 1998; 26:8-27.
98. Moore PA, Guggenheimer J, Etzel KR, Weyant RJ, Orchard T. Type 1 diabetes mellitus, xerostomia, and salivary flow rates. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 92(3):281-291.
99. Iughetti L, Marino R, Bertolani MF, Bernasconi S. Oral health in children and adolescent with IDDM – a review. *J Pediatr Endocrinol Metab* 1999; 12(Suppl 2): 603-610.
100. Karjalainen KM, Knuutilla MLE, Käär ML. Relationship between caries and

level of metabolic balance in children and adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. *Caries Res* 1997; 31:13-18.

101. Kadir T, Pisirciler R, Akyüz S, Yarat A, Emekli N, Ipbüker A. Mycological and cytological examination of oral candidal carriage in diabetic patients and non-diabetic control subjects: thorough analysis of local a etiologic and systemic factors. *J Oral Rehabil* 2002; 29:452-457.

102. Fiske J. Diabetes mellitus and oral care. *Dent Update* 2004; 31:190-196.

ANEXOS

ANEXO A - Declaração de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



Comitê de Ética em Pesquisa
Faculdade São Lucas


Carta AP/CEP/411/09

Porto Velho, 29 de outubro de 2009.

Ilmo(a). Sr(a).
Regina Márcia Serpa Pinheiro

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade São Lucas aprovou na reunião do dia 27/10/2009 o projeto de pesquisa **"Avaliação de parâmetros microbianos e salivares na doença periodontal associada ao diagnóstico de Diabetes tipo II."** e foi o seguinte parecer do relator: **"APROVADO"**.

Atenciosamente,


Marcelo Custódio Rubira
Coordenador do Comitê de
Ética em Pesquisa - CEP
Faculdade São Lucas

Marcelo Custódio Rubira
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Faculdade São Lucas

Rua Alexandre Guimarães, 1927 Areal – CEP: 78916-450 – Porto Velho/RO
Fone: (69) 3211-8008
E-mail: cep@saolucas.edu.br

ANEXO B - Termo de consentimento pós-informação

I-DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1.NOME DO PACIENTE.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº

APTO:BAIRRO:

CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....).....

2.RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M F

DATA NASCIMENTO.:/...../.....

ENDEREÇO: Nº

APTO: BAIRRO:.....

CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....).....

II - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO**Termo de consentimento livre e esclarecido**

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo **"AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS MICROBIANOS E SALIVARES NA DOENÇA PERIODONTAL ASSOCIADA AO DIAGNÓSTICO DE DIABETES TIPO II"**.

Eu discuti com a Dra. Regina Márcia Serpa Pinheiro, endereço: Rua Joaquim Nabuco, 3220, telefone 9971-3904, sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos: exames de sangue, avaliação de medidas corporais, exame clínico periodontal (utilizaremos uma sonda metálica, que é um palitinho de metal

milimetrado, que colocamos entre a gengiva e o dente para ver se a gengiva sangra ou não e quanto do palitinho entra entre a gengiva e o dente) e coleta de saliva a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimento permanente. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário.

Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste serviço.

Porto Velho,

de

de 20

assinatura por extenso do sujeito da pesquisa ou responsável legal

assinatura do pesquisador e carimbo

III DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS MICROBIANOS E SALIVARES NA DOENÇA PERIODONTAL ASSOCIADA AO DIAGNÓSTICO DE DIABETES TIPO II

2. PESQUISADOR: Regina Márcia Serpa Pinheiro

CARGO/FUNÇÃO: Professora Assistente

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL: CRO/RO:293

UNIDADE : Rondônia

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA: (Deve-se marcar com X, o risco que envolve a pesquisa, a probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

SEM RISCO (X)

RISCO MÍNIMO

RISCO MÉDIO

RISCO MAIOR

4.DURAÇÃO DA PESQUISA: 08 (oito) meses (Deve-se marcar de acordo com a quantidade total de meses que consta no cronograma).

IV - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO: (Responder as questões abaixo utilizando um número máximo de 4 a 5 linhas, numa linguagem simples e acessível ao sujeito da pesquisa)

1. Justificativa e os objetivos da pesquisa.

Com esta pesquisa, avaliaremos as possíveis relações entre a gravidade da doença periodontal e o diabetes mellitus. Este estudo tem como principal objetivo estudar o estado da gengiva dos participantes portadores de diabetes do tipo 2 e relacionar o estado da gengiva e do periodonto (se há inflamação, pouco ou muita inflamação) de acordo com a idade do participante, tempo que tem diabetes, controle do diabetes (para isto precisamos do exame de glicose, hemoglobina glicada, pcr).

2. Procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais.

Para isto, serão necessários exames de sangue, coleta de dados do seu prontuário do Ambulatório Santa Marcelina, avaliação de medidas corporais, exame clínico periodontal, coleta de saliva. Realizaremos um exame da gengiva que consiste em verificar o grau de inflamação da gengiva. Para isto, utilizaremos uma sonda metálica, que é um palitinho de metal milimetrado, que colocamos entre a gengiva e o dente para ver se a gengiva sangra ou não e quanto do palitinho entra entre a gengiva e o dente.

3. Desconfortos e riscos esperados.

Esclarecemos que não há desconfortos e riscos esperados.

4. Benefícios que poderão ser obtidos.

Os resultados do seu exame lhe serão fornecidos e, serão divulgados no meio científico conjuntamente com os resultados de outros pacientes.

5. Procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo. (preencher se houver)

Todos os participantes receberão orientação higiene bucal E aqueles que necessitarem de tratamento odontológico serão encaminhados para a clínica da Faculdade São Lucas (FSL). Esta pesquisa não terá nenhuma despesa para o

participante. a sua participação é voluntária, sem o recebimento de nenhuma remuneração.

V - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

1. acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas.
2. liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.
3. salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.
4. disponibilidade de assistência , por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa.
5. viabilidade de indenização por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa.

VI. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

O pesquisador responsável por este projeto de pesquisa é a cirurgião-dentista, Dra. Regina Márcia Serpa Pinheiro e como colaborador o Dr. Orlando Leite, médico endocrinologista.

Endereço: Rua Joaquim Nabuco, 3220 – Bairro: São Cristovão – Porto Velho/RO

Telefone: 9971-3904

VII. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

ANEXO C - Modelo das fichas clínicas utilizadas para obter os parâmetros clínicos

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA

PRONTUÁRIO DE PERIODONTIA

FICHA CLÍNICA PERIODONTAL

NOME: _____
 NASCIMENTO ____ / ____ / ____ IDADE: ____ SEXO: ____ RAÇA: _____
 ENDEREÇO: _____
 CIDADE: _____ CEP: _____ FONE: _____
 PROFISSÃO _____ EST.CIVIL _____
 RG _____ CPF _____ TELEFONE: _____
 INÍCIO DO TRATAMENTO ____ / ____ / ____ TÉRMINO DO TRATAMENTO ____ / ____ / ____

HISTÓRIA MÉDICA

Motivo da consulta _____
 Há quanto tempo foi a sua última consulta médica? _____
 Qual o motivo? _____ Médico: _____
 No momento está fazendo algum tratamento médico?
 Está tomando algum medicamento? Sim Não
 Fez uso de antibiótico nos últimos 6 meses? _____ Qual? _____
 Por quê? _____

NOME	DOSAGEM	TEMPO DE USO

Tem sensibilidade a algum anestésico ou alergia algum medicamento: _____

Já esteve hospitalizado alguma vez? Sim Não

Motivo: _____

Teve hemorragia? _____ Pressão arterial: _____

Você consome bebida alcoólica? Sim Não Com qual frequência? _____
 Fuma? Sim Não Quantidade cigarros/dia: _____ Ex-fumante? Sim Não
 Tempo que fumou: _____ Há quanto tempo parou? _____
 Já fez uso de drogas injetáveis ou outras? _____
 Grávida? Sim Não Quantos meses? _____ Toma anticoncepcional? Sim Não
 Sua gengiva sangra com facilidade? _____ Sua gengiva parece inchar às vezes? _____
 Seus dentes são moles? _____ Os alimentos se prendem entre os dentes? _____
 Tem hábito de ranger os dentes? _____ Usa fio dental, fita ou palito? _____
 Quantas vezes ao dia você escova os dentes? _____ Qual o tipo de escova? _____
 Respira pela boca? _____
 Você já passou por um tratamento periodontal? _____ Há quanto tempo? _____
 Algum membro de sua família desenvolveu doença gengival? _____
 Já usou aparelho ortodôntico? _____ Fixo () Móvel () Por quanto tempo? _____

VOCÊ APRESENTOU ALGUM DOS SEGUINTE SINTOMAS ?

	SIM	NÃO		SIM	NÃO
01. Problema cardíaco			23. Parentes Diabéticos		
02. Angina			24. Problemas de tireóide		
03. Pressão Alta			25. Problemas sanguíneos		
04. Febre reumática			26. Artrite		
05. Ataque cardíaco			27. Transfusão sanguínea		
06. Marca-passo cardíaco			28. Hemofilia		
07. Problema cardíaco congênito			29. Problemas nervosos		
08. Prolapso da válvula mitral			30. Epilepsia		
09. Problema respiratório			31. Depressão		
10. Tuberculose			32. Tratamento psiquiátrico		
11. Asma			33. Problema de vista		
12. Bronquite			34. Glaucoma		
13. Enfisema pulmonar			35. Problema nasal		
14. Problemas renais/Diálise			36. Problemas no ouvido		
15. Problema Gastrointestinal			37. Dores de cabeça forte		
16. Hepatite			38. Câncer		
17. Anemia			39. Parentes com câncer		
18. Úlcera			40. Quimioterapia		

19. AIDS			41. Doença venérea (Sífilis, Gonorréia)		
20. HIV Positivo			42. Uso de cortisona		
21. Parentes próximos com AIDS			43. Herpes		
22. Diabetes			44. Outros		

OBSERVAÇÕES: _____

	SIM	NÃO
RADIOGRAFIAS		
FOTOS		

	SIM	NÃO
MICROBIOLÓGICO		
SANGUE		

Confirmo todas as informações acima citadas, e autorizo a utilização destas informações para um trabalho de pesquisa sobre doença periodontal.

Assinatura do paciente

ANEXO D – Ficha de exame periodontal

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial desta obra, apenas para fins de estudo e pesquisa, sendo expressamente vedado qualquer tipo de reprodução para fins comerciais sem prévia autorização específica do autor.

Regina Márcia Serpa Pinheiro

Taubaté, setembro de 2010