

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Simone Conti

**PRESENÇA DE ENTEROBACTERIACEAE E
PSEUDOMONADACEAE NA REGIÃO
POSTERIOR DO DORSO DA LÍNGUA DE
INDIVÍDUOS ADULTOS**

Taubaté – SP
2005

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Simone Conti

**PRESENÇA DE ENTEROBACTERIACEAE E
PSEUDOMONADACEAE NA REGIÃO
POSTERIOR DO DORSO DA LÍNGUA DE
INDIVÍDUOS ADULTOS**

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

Área de concentração: Dentística.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Silvana Soléo Ferreira
dos Santos

Taubaté – SP
2005

SIMONE CONTI
PRESENÇA DE ENTEROBACTERIACEAE E PSEUDOMONADACEAE NA
REGIÃO POSTERIOR DO DORSO DA LÍNGUA DE INDIVÍDUOS ADULTOS

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

Área de concentração: Dentística.

Data: _____

Resultado: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. _____ Universidade de Taubaté

Assinatura _____

Prof. _____

Assinatura _____

Prof. _____

Assinatura _____

Dedico este trabalho a Deus,
meu eterno alicerce.

E aos meus pais pela vida
e amor incondicional

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Prof^a. Dr^a. Silvana Soléo Ferreira dos Santos pela habilidade e incentivo com que orientou nosso trabalho.

Ao Prof. Dr. Antonio Olavo Cardoso Jorge pelo apoio e incentivo.

Ao coordenador da Dentística Prof Dr. José Benedicto de Mello pela dedicação e atenção.

A Professora Rosana Giovanni Pires Clemente, da disciplina de Bioestatística do Departamento de Biologia da Universidade de Taubaté, pela análise estatística dos resultados.

A Professora Marina Buselli pela revisão da estrutura da pesquisa.

Aos funcionários do Laboratório de Microbiologia do Instituto Básico de Biociência da Universidade de Taubaté Ivan da Silva de Faria, Jane Rose Dias Dionísio Rodrigues e Tânia Cristina Sumita pela ajuda e paciência.

Aos amigos Cristiana Tengan, José de Souza Teixeira Júnior, Josiane Alves Barbosa e Juliana Madureira de Souza Lima Alonso, pois a participação de cada um foi fundamental na elaboração desta pesquisa.

A Universidade de Taubaté, por colocar á disposição laboratórios, materiais e pela doação do sistema de identificação API 20E, isto é, proporcionar condições físicas e materiais para a realização da pesquisa.

Aos voluntários que contribuíram de maneira indispensável para a elaboração desta pesquisa

RESUMO

A língua, devido as suas características anatômicas, representa um reservatório natural de microrganismos, principalmente a região posterior, tanto em bocas saudáveis quanto naquelas com alguma patologia. Algumas bactérias da família Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae são consideradas agravantes de algumas doenças periodontais e pulmonares além de estarem relacionadas a doenças sistêmicas oportunistas. Neste estudo foi analisada a presença de bactérias da família Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae no dorso da língua de cem voluntários que procuraram a Clínica Odontológica da Faculdade de Odontologia da Universidade de Taubaté, cinquenta homens e cinquenta mulheres com idade entre 30 e 50 anos. Foi avaliada a correlação destes microrganismos com a presença de saburra lingual, gênero, idade, hábito de fumar e presença de peças protéticas. As amostras foram coletadas do dorso posterior da língua, na região de papilas valadas. Os microrganismos isolados foram identificados pelo sistema API 20E (Biolab-Merieux, França). A prevalência de voluntários que apresentaram Enterobacteriaceae e/ou Pseudomonadaceae foi de 42%. Enterobacteriaceae foram isoladas em 29% e Pseudomonadaceae em 6%. *Enterobacter cloacae* foi à espécie de Enterobacteriaceae mais prevalente (21,89%), seguida por *Pasteurella pneumotropica/haemolytica* (14,07%) e *Chryseomonas luteola* à espécie de Pseudomonadaceae mais prevalente (9,38%). Houve maior prevalência destes microrganismos na faixa etária entre 40 e 50 anos ($p=0,001$) e para os voluntários que não tinham o hábito de fumar ($p=0,0485$). Não houve correlação estatística significativa entre a presença de Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae com saburra lingual, gênero e uso de peças protéticas.

Palavras-chave: Enterobacteriaceae. Pseudomonadaceae. Dorso da língua. Saburra ling

ABSTRACT

Tongue, due to your anatomical characteristics, it represents a natural reservoir of microorganisms, mainly the subsequent area, so much in healthy mouths as in those with some pathology. Some bacteria of the family Enterobacteriaceae and Pseudomonadaceae added difficulties are considered of some diseases periodontais and lung besides they be related to diseases opportunists. In this study the presence of bacteria of the family was analyzed Enterobacteriaceae and Pseudomonadaceae in the back of the a hundred volunteers' tongue that you/they sought the Clínica Odontológica of University of Dentistry of the University of Taubaté, fifty men and fifty women with age between 30 and 50 years. The correlation of these microorganisms was evaluated with the presence of tongue coating, gender, age, habit of smoking and presence of prosthetic pieces. The samples were collected of the subsequent back of the tongue, in the area of fenced in papillae. The isolated microorganisms were identified for the system API 20E (Biolab-Merieux, France). The volunteers' prevalence that presented Enterobacteriaceae and/or Pseudomonadaceae was of 42%. Enterobacteriaceae were isolated in 29% and Pseudomonadaceae in 6%. *Enterobacter cloacae* went to the species of Enterobacteriaceae more prevalence (21,89%), followed for *Pasteurella pneumotropica/haemolytica* (14,07%) and *Chryseomonas luteola* to the species of Pseudomonadaceae more prevalence (9,38%). There was larger prevalence of these microorganisms in the age group between 40 and 50 years ($p=0,001$) and for the volunteers that didn't have the habit of smoking ($p=0,0485$). There was not significant statistical correlation between the presence of Enterobacteriaceae and Pseudomonadaceae with tongue coating, gender and use of prosthetic pieces.

Key words: Enterobacteriaceae. Pseudomonadaceae. Tongue Dorsa. Tongue coating.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Freqüência de isolamento e média de log de UFC/mL de espécies de Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae da região posterior do dorso da língua (n=64) dos 100 voluntários.....39
- Tabela 2 – Número de voluntários que apresentaram Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae na região posterior do dorso da língua de acordo com a área de saburra lingual.....42
- Tabela 3 – Número de voluntários que apresentaram Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae na região posterior do dorso da língua de acordo com a espessura de saburra lingual.....42
- Tabela 4 – Número de voluntários que apresentaram Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae na região posterior do dorso da língua de acordo com o gênero..... 44
- Tabela 5 – Número de voluntários que apresentaram Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae na região posterior do dorso da língua de acordo com a faixa etária..... 44
- Tabela 6 – Número de voluntários que apresentaram Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae na região posterior do dorso da língua de acordo com o hábito de fumar.....45
- Tabela 7 – Número de voluntários que apresentaram Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae na região posterior do dorso da língua de acordo com o uso de peças protéticas.....45

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1 – Presença de mais de uma espécie de Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae e Moraxellaceae da região posterior do dorso da língua..... 40
- Quadro 2 – Frequência de isolamento de espécies de Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae relacionado à área e espessura de saburra lingual..... 43
- Quadro 3 – Frequência de isolamento de espécies de Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae relacionado ao gênero, faixa etária, hábito de fumar e peças protéticas..... 46

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Freqüência de isolamento de Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae.....	38
Gráfico 2 – Freqüência da área de saburra lingual nos voluntários positivos e negativos.....	41
Gráfico 3 – Freqüência da espessura de saburra lingual nos voluntários positivos e negativos.....	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Divisão do dorso da língua em terço posterior, médio e anterior.....	29
Figura 2 – Em A, nenhuma saburra visível no dorso da língua: escore zero de área; em B, saburra localizada apenas no terço posterior do dorso da língua: escore um de área; em C, saburra localizada no terço posterior e médio do dorso da língua: escore dois de área, em D, saburra localizada no terço posterior, médio e anterior do dorso da língua: escore três de área.....	30
Figura 3 – Em A, nenhuma saburra visível no dorso da língua: escore zero para espessura; em B, camada fina de saburra: escore um para espessura; em C, camada moderada de saburra: escore dois para espessura; em D, camada grossa de saburra: escore três para espessura.....	31
Figura 4 – Em A, coleta do material na região de papila valada com alça calibrada de 10 μ L; em B, material colocado em flaconete (Eppendorf) com 1 mL de PBS.....	32
Figura 5 – Em A, material homogeneizado; em B, coleta de 0,1 mL da suspensão; em C, suspensão colocada na placa de Petri contendo ágar MacConkey; em D, suspensão semeada com alça de Drigalsky.....	33
Figura 6 – Em A, crescimento bacteriano em ágar MacConkey após 24 horas; em B, bacilos Gram-negativos.....	34
Figura 7 – Obtenção de cultura pura.....	34
Figura 8 – Em A, Coleta da colônia reativada; em B, suspensão de microrganismos.....	35
Figura 9 – Em A, caixa de incubação com 5,0 mL de água destilada esterilizada; em B, inoculação da suspensão de microrganismos; em C, adição de óleo de parafina.....	35
Figura 10 – Em A, alterações de cor após 24hs e adição de reagentes; em B, ficha de resultado.....	36

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 LÍNGUA.....	14
2.2 ENTEROBACTERIACEAE.....	22
2.3 PSEUDOMONADACEAE.....	23
2.4 ENTEROBACTERIACEAE E PSEUDOMONADACEAE NA CAVIDADE BUCAL	23
3 PROPOSIÇÃO.....	27
4 MATERIAL E MÉTODO.....	28
4.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	28
4.2 SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS.....	28
4.2.1 Critério de Inclusão.....	28
4.2.2 Critério de Exclusão.....	29
4.3 ANÁLISE DA SABURRA LINGUAL.....	29
4.4 COLETA DA AMOSTRA DO DORSO DA LÍNGUA.....	32
4.5 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	32
4.6 CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA.....	37
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	37
5 RESULTADOS.....	38
6 DISCUSSÃO.....	47
7 CONCLUSÕES.....	53
REFERÊNCIAS	54
APÊNDICE A - Termo de consentimento livre esclarecido	58
APÊNDICE B - Questionário aplicado aos participantes da pesquisa	60
ANEXO A – Declaração do Comitê de Ética em Pesquisa	61

Conti, Simone

Presença de Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae na região posterior do dorso da língua de indivíduos adultos / Simone Conti. – 2005.

61f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de Taubaté, Departamento de Odontologia, 2005.

Orientação: Prof^a. Dr^a. Silvana Soléo Ferreira dos Santos, Departamento de Odontologia.

1. Enterobacteriaceae. 2. Pseudomonadaceae. 3. Saburra lingual.
I. Título.

Os dentes correspondem a aproximadamente 20% da superfície da cavidade bucal e a composição microbiana de seu biofilme é bem conhecida, enquanto o tecido mole, que corresponde a 80%, tem sua colonização microbiana menos compreendida (MAGER et al., 2003).

A língua exerce funções importantes no processo digestivo como auxiliar na mastigação, deglutição e sensibilidade gustatória (FEHRENBACH; HERRING, 1998; HERLIHY; MAEBIUS, 2002b). Devido a sua localização e funções, a língua é um das estruturas anatômicas mais importantes na cavidade bucal. Embora o dorso da língua pareça abrigar um dos nichos microbiológicos mais complexos na ecologia humana, o conhecimento do papel da microbiota da língua na saúde e doença está muito limitado. O interesse pelo estudo dos nichos da língua aumentou devido a sua associação com halitose bucal e seu papel como reservatório para patógenos periodontais. Porém, pouco é conhecido sobre como controlar este nicho bacteriano (ROLDÁN; HERRERA; SANZ, 2003).

De acordo com Kazor et al. (2003), o dorso da língua possui uma microbiota sem igual, compreendendo um terço da população bacteriana da cavidade bucal e apresenta grande diversidade de espécies.

Microrganismos da família Enterobacteriaceae e gênero *Pseudomonas* podem atuar como patógenos oportunistas e colonizar a cavidade bucal humana, especialmente de pacientes com doenças debilitantes, submetidos a tratamentos com antibióticos por tempo prolongado ou medicamentos citotóxicos (SLOTS; FEIK; RAMS, 1990; SEDGLEY; SAMARANAIKE, 1994a).

Secreção nasal e paranasal pode se acumular na região posterior do dorso da língua favorecendo a formação da saburra lingual dando origem a halitose, devido

ao processo de degradação de aminoácidos. Esta ocorre em condições de anaerobiose envolvendo microrganismos Gram-negativos (ROSENBERG, 1996). Pesquisas sugerem que espécies de Enterobacteriaceae possam estar envolvidas, pois produzem gases putrefeitos quando metabolizam proteínas ou certos aminoácidos (GOLDBERG et al., 1997).

A alta prevalência de Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae na cavidade bucal encontrada em estudos anteriores, despertou o interesse em estudar a prevalência destas bactérias no dorso posterior da língua e sua relação com a presença de saburra lingual, gênero, idade, hábito de fumar e presença de peças protéticas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 LÍNGUA

A língua é um órgão muscular localizada no soalho da cavidade bucal. A mucosa da superfície dorsal da língua apresenta pequenas elevações, as papilas linguais, algumas das quais associadas aos botões gustativos. A margem da língua corresponde à face lateral onde estão localizadas as papilas foliadas. As delgadas papilas em formato de pequenos fios são as papilas filiformes, que conferem ao dorso da língua um aspecto aveludado. As papilas fungiformes, mais numerosas no ápice da língua, são pequenos pontos avermelhados, com aspecto de cogumelo. Situado posteriormente no dorso da língua, está o sulco terminal. No vértice do sulco terminal, voltado para a faringe, existe uma pequena depressão denominada forame cego da língua. As maiores papilas da língua, as papilas valadas, estão situadas anteriormente ao sulco terminal, e enfileiradas paralelas a ele, seu número varia entre 10 e 14. Posteriormente ao sulco terminal, observa-se a presença de um tecido linfóide, que constitui a tonsila lingual. A face inferior da língua se destaca pela presença de vasos profundos bem visíveis, a mucosa dessa região forma duas pregas onduladas situadas lateralmente a esses vasos, as pregas franjadas. A língua exerce funções importantes no processo digestivo como mastigação, deglutição e sensibilidade gustatória (FEHRENBACH; HERRING, 1998; HERLIHY; MAEBIUS, 2002a, 2002b).

A cavidade bucal é um ambiente favorável à proliferação de bactérias devido à temperatura, umidade, pH, nutrientes e presença ou ausência de oxigênio. Superfícies retentivas, como bolsas periodontais, superfície interproximal dos dentes e língua, são ideais para acúmulo de biofilme. A língua é a maior, contínua e retentiva superfície da cavidade bucal, considerada um nicho favorável para abrigar

bactérias. As papilas filiformes cobrem a superfície dorsal da língua favorecendo a retenção mecânica do biofilme lingual. Pode também apresentar características anatômicas adicionais como fissuras, língua geográfica e língua pilosa que aumentam sua retenção e servem como uma armadilha para bactérias, alimentos e células epiteliais. Em indivíduos saudáveis os dois terços anteriores da língua são friccionados constantemente com o palato duro, limpando a língua e prevenindo o acúmulo de biofilme. O terço dorsal posterior da língua está em contato com o palato mole onde falta rugosidade e efeito de limpeza. Conseqüentemente, o terço dorsal posterior da língua é a área mais propensa para acúmulo de biofilme (SPIELMAN; BIVONA; RIFKIN, 1996).

A saliva contém bactérias provenientes de todas as superfícies da cavidade bucal. Como língua e mucosa jugal constituem a maior parte da superfície da boca, a microbiota descamada dessas regiões está proeminente na microbiota salivar, sendo a microbiota da língua, superfície bucal e saliva similares. Microbiota indígena e suplementar presente normalmente em altas proporções na língua são representadas principalmente por *Streptococcus salivarius* Gram-positivos. Isoladas em proporções moderadas encontram-se *Streptococcus sanguis* e *Streptococcus mitior*; e em baixas proporções *Lactobacillus* spp. e *Actinomyces* spp., enquanto *Streptococcus milleri* e *Streptococcus mutans* são raramente isolados da língua (LOESCHE, 1997).

A estrutura papilar do dorso da língua representa um nicho ecológico na cavidade bucal, oferecendo uma grande área superficial que favorece o acúmulo de detritos bucais e microrganismos. Além disso, sua localização na cavidade bucal proporciona acesso a muitos tipos de nutrientes, produtos e bactérias. As irregularidades adicionais, como fissuras e ranhuras na morfologia do dorso da

língua podem servir como área de retenção bacteriana. As contagens de bactérias no dorso da língua de indivíduos com fissuras são duas vezes mais altas que em indivíduos sem fissuras (ROLDÁN; HERRERA; SANZ, 2003). A frequência de fissuras no dorso da língua foi de 27% em um estudo clínico com 126 indivíduos (GÓMEZ et al., 2001).

A estrutura da língua favorece a formação de um biofilme bacteriano complexo denominado saburra lingual, constituído por microrganismos (bactérias) do tipo proteolítico Gram-negativo e fungos, células epiteliais descamadas, leucócitos e resíduos alimentares que aderem ao dorso da língua em maior proporção na região posterior, sendo esbranquiçado e variando em extensão, espessura e viscosidade (TONZETICH, 1977; COSTA, 1981; GREIN et al., 1982; KATAYAMA; WECKX, 1996; COSTA, 1987; TARZIA, 1999; TARZIA, 2004). A degradação de aminoácidos sulfurados por bactérias anaeróbias resulta na emissão de sulfeto de hidrogênio, metilmercaptano e dimetilsulfeto, coletivamente denominados compostos sulfurados voláteis (CSV), que contribuem para a condição de halitose (ATTIA; MARSHALL, 1982; ROSEMBERG; MCCULLOCH, 1992; YAEGAKI; SANADA, 1992; BYDLOWSKI, 1994; SPIELMAN; BIVONA; RIFKIN, 1996; ÇIÇEK et al., 2003).

Solis-Gaffar, Fischer e Gaffar (1979) analisaram o papel de microrganismos, no dorso posterior da língua, responsáveis pela formação dos componentes odoríferos associados com halitose. Oito microrganismos Gram-positivos e quatro Gram-negativos foram incubados individualmente em anaerobiose por três ou 24 horas em um sistema de saliva estéril com L-cisteína ou L-metionina e substrato exógeno. Depois do período de incubação, foram analisados por cromatografia a gás quanto a presença do enxofre volátil, compostos sulfurados voláteis (CSV) como sulfeto de hidrogênio, metil mercaptana e sulfeto de dimetil. Os resultados indicaram

que só os microrganismos Gram-negativos *Veillonella alcalescens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella melaninogenica* e *Klebsiella pneumoniae* produziram CSV nos sistemas incubados. Os microrganismos Gram-positivos *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, e *Actinomyces naeslundii* não produziram CSV. Com exceção de *Klebsiella pneumoniae*, os outros microrganismos Gram-negativos testados precisaram da presença de sangue para a produção de CSV. No entanto, os microrganismos Gram-positivos, mesmo com adição de sangue, não formaram CSV.

Yaegaki e Sanada (1992) demonstraram a produção de CSV, principalmente metil mercaptana, na superfície dorsal da língua em pacientes com e sem periodontite e consideraram o biofilme lingual um fator importante na produção destes compostos.

Bacillus subtilis, *Proteus vulgares*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Prevotella melaninogenica*, bacilos coliformes, *Clostridium sporogenes* e *Clostridium histolyticum* são alguns microrganismos encontrados na cavidade bucal principalmente no dorso posterior da língua, responsáveis pela condição de halitose devido à atividade proteolítica (BYDLOWSKI, 1994).

Em estudos utilizando o teste Benzoil-DL-Arginina-Beta-Naftilamida (BANA) foram comparadas contagens de amostras colhidas de dentes e língua em grupos de indivíduos com e sem periodontite. O teste BANA demonstrou resultados positivos em 87,5% das amostras colhidas de dente e 92,5% para amostras da língua em indivíduos com periodontite, enquanto que para indivíduos sem periodontite os resultados foram de 74,4% e 94,3%, respectivamente. Os resultados

demonstraram que a língua é um reservatório de microrganismos para indivíduos com e sem periodontite (BOSY et al., 1994).

A relação de amostras do dorso da língua BANA-positivo com parâmetros de halitose também foi demonstrado em estudo clínico com 52 indivíduos sendo 43 reclamantes de halitose. Foram verificadas correlações altamente significantes entre contagens de compostos sulfurados voláteis e BANA-positivo de amostras do dorso da língua (KOSLOVSKY et al., 1994).

Boever e Loesche (1995) testaram associações entre medidas de odor por cromatografia à gás, níveis de enxofre volátil, parâmetros periodontais, características de superfície de língua, teste BANA para microrganismos na língua e dentes e parâmetros bacteriológicos em dezesseis participantes com reclamações de halitose. Os dados indicaram que a microbiota anaeróbia proteolítica que reside na superfície lingual é essencial no desenvolvimento de halitose. A presença de fissuras linguais aumentou significativamente o odor de amostras linguais. Indivíduos que tinham saburra lingual abrigaram $11,9 \times 10^8$ UFC/mL, enquanto os indivíduos que não tinham apresentaram $3,8 \times 10^6$ UFC/mL. Indivíduo com fissuras linguais profundas, comparados a indivíduos sem fissuras, apresentaram duas vezes mais contagem de bactérias, $12,3 \times 10^6$ UFC/mL para $6,4 \times 10^6$ UFC/mL respectivamente. Os autores concluíram que BANA positivo na língua e quantidade de saburra lingual são os fatores mais importantes na formação de compostos voláteis de enxofre.

Gómez et al. (2001), em estudo clínico analisaram o aspecto do dorso da língua em relação à extensão, cor e densidade da saburra lingual de indivíduos com saúde gengival e com periodontite. Além disso, determinaram a relação entre o aspecto da língua e a carga bacteriana em amostras salivares. Esta investigação mostrou que, na maioria dos casos, alteração de cor foi encontrada na região

posterior da língua. O número de bactérias por mililitro (mL) em relação à coloração (rosa, branco e amarelo) da língua foram 948, 855 e 900 x 10⁶ respectivamente. O número de bactérias por mL em relação à espessura (ausente, fina e grossa) foram 948, 863, e 895 x 10⁶ respectivamente. O número de bactérias por mL em indivíduos sem periodontite foi 860 x 10⁶ e em indivíduos com periodontite 918 x 10⁶.

Estudo com amostra de 171 bebês na faixa etária entre seis e 36 meses verificou a prevalência de 38 espécies de microrganismos do dorso da língua. O resultado demonstrou maior frequência de *Treponema denticola* (36%), *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (30%), *Prevotella intermedia* (29%), *Porphyromonas gingivalis* (23%) e *Tannerella forsythia* (11%) na língua, principalmente em menores de 18 meses. Alta frequência de espécies bacterianas em amostras da língua de bebês sugere ser este local um reservatório potencial de microrganismos (TANNER et al., 2002).

De acordo com Kazor et al. (2003) o dorso da língua possui uma microbiota complexa. Um terço da população bacteriana da cavidade bucal foi isolada da língua e não em outras superfícies bucais. Em indivíduos saudáveis, *Streptococcus salivarius* é a espécie predominante estando praticamente ausente em indivíduos com halitose. Espécies mais associadas com halitose foram *Atopobium parvulum*, *Eubacterium sulci* e *Fusobacterium periodonticum*.

Mager et al. (2003) em estudo clínico com 225 indivíduos analisaram a proporção de 40 espécies bacterianas em amostras da saliva, oito áreas da mucosa bucal representadas por três áreas da língua (dorsal, ventral e lateral), soalho da boca, mucosa jugal, palato duro, vestibulo dos lábios superiores e inferiores e gengiva inserida e em 44 dos 225 indivíduos também foram analisadas amostras de biofilme dental supragengival e subgengival. Os resultados foram demonstrados

comparando as amostras de tecido mole e saliva e outra análise das amostras de tecido mole, saliva e biofilme dental supra e subgingival. As análises das amostras de tecido mole e saliva foram divididas em dois grupos de estudo: grupo 1 incluiu saliva, região lateral e dorsal da língua, enquanto o grupo 2 incluiu os tecidos moles restantes. *Veillonella parvula*, *Prevotella melaninogenica*, *Eikenella corrodens*, *Neisseria mucosa*, *Actinomyces odontolyticus*, *Fusobacterium periodonticum*, *Fusobacterium nucleatum* ss *vincentii* e *Porphyromonas gingivalis* estavam em proporções mais altas no grupo 1 e *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis* e *Streptococcus noxia* significativamente mais altos no grupo 2. O grupo formado por amostras de tecido mole, saliva e biofilme dental supra e subgingival, demonstraram aumentadas proporções das espécies de *Actinomyces* no biofilme supra e subgingival. Proporções de *Veillonella parvula* e *Prevotella melaninogenica* foram mais altas em saliva e nas superfícies laterais e dorsais da língua, enquanto *Streptococcus mitis* e *Streptococcus oralis* estavam em proporções significativamente mais baixas em saliva e dorso da língua.

Quirynen et al. (2004) avaliaram o efeito da limpeza lingual com raspador ou escova dental. Após atribuir valores de zero a três para quantidade de saburra presente na língua, foram coletadas amostras microbianas da saliva, dorso anterior e posterior da língua e contados os números de unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) de aeróbios e anaeróbios. Observou-se uma redução significativa da saburra lingual para ambas as ferramentas. Os números de UFC/mL (aeróbios e anaeróbios) permaneceram constantes em amostras da saliva e dorso de língua antes e após a higiene. Para a área posterior da língua foram observados números mais altos de UFC/mL, quando comparados à parte anterior. O estudo

concluiu que o benefício da limpeza da língua está relacionado com a redução do substrato para bactérias, e não à redução da quantidade de bactérias.

É considerado que o mau hálito se origina principalmente de populações da microbiota da língua, porém esta relação permanece obscura. Estudo clínico realizado por Tanaka et al. (2004) analisou os patógenos periodontais da língua por reação em cadeia da polimerase (PCR), e a associação entre mau hálito e língua. Foram analisados os microrganismos *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* e *Treponema denticola*. A população estudada consistiu em vinte e nove indivíduos com halitose e dez indivíduos sem halitose. A saburra lingual no dorso da língua foi determinada de acordo com sua espessura e área de superfície. A contagem da área foi classificada em escores de 0 a 3, 0 nenhuma saburra; 1 cobrindo 1/3 do dorso da língua; 2 cobrindo de 1/3 a 2/3 do dorso da língua e 3 cobrindo mais de 2/3 do dorso da língua. A contagem da espessura foi definida por escores de 0 a 3, 0 nenhuma saburra; 1 camada fina, com papilas visíveis; 2 camada moderada onde foi possível visualizar algumas papilas e 3 camada grossa cobrindo as papilas. *Prevotella intermedia* estavam em maior número enquanto *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola* em menor número de indivíduos. Não houve relação significativa entre proporções dos cinco patógenos periodontais e a contagem da área da saburra lingual, porém relações significantes foram observadas entre esses cinco patógenos periodontais e a espessura da saburra cobrindo a língua.

2.2 ENTEROBACTERIACEAE

Os membros da família Enterobacteriaceae são bacilos Gram-negativos imóveis ou móveis com flagelos peritríquios e não formam esporos. Podem crescer rapidamente em condições aeróbias e anaeróbias (anaeróbios facultativos) (GORZYNSKI, 1997; MURRAY et al., 2002a; WALKER, 2002a).

As bactérias da família Enterobacteriaceae pertencem à microbiota intestinal humana normal, sendo isoladas também do solo, água, vegetação e ocasionalmente isoladas da cavidade bucal (GORZYNSKI, 1997; ZAMBON; NISENGARD, 1997; MURRAY et al., 2002a; WALKER, 2002a). Podem atuar como patógenos oportunistas (SLOTS; FEIK; RAMS, 1990). Infecções nosocomiais sérias que ocorrem corriqueiramente são causadas, principalmente por *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Esses microrganismos são membros da microbiota humana normal, considerados “não-patógenos”, contudo, quando a saúde do hospedeiro está comprometida, esses microrganismos relativamente avirulentos podem rapidamente se tornar patogênicos (LOESCHE, 1997).

Enterobacteriaceae pode colonizar a cavidade bucal humana, especialmente em pacientes com doenças debilitantes ou imunocomprometidos (CAMPOS; ZELANTE, 1978; SEDGLEY; SAMARANAYAKE, 1994a) ou submetidos a tratamentos com antibióticos por tempo prolongado ou medicamentos citotóxicos, entretanto estas bactérias geralmente não são consideradas residentes da microbiota da boca (SEDGLEY; SAMARANAYAKE, 1994a).

2.3 PSEUDOMONADACEAE

Pseudomonas são bacilos Gram-negativos retos ou ligeiramente curvados, com flagelos polares que lhe conferem movimento. Embora *Pseudomonas* sejam definidos como aeróbios obrigatórios, podem crescer anaerobicamente utilizando nitrato ou arginina como aceptor alternativo de elétrons (ZAMBON; NISENGARD, 1997; MURRAY et al., 2002b; WALKER, 2002b).

Espécies de *Pseudomonas* são encontradas no solo, água e matéria orgânica em decomposição (MURRAY et al., 2002b). *Pseudomonas aeruginosa* podem colonizar seres humanos sendo o principal patógeno humano do grupo. É invasiva e toxogênica, produzindo infecções em pacientes imunocomprometidos, sendo um importante patógeno nosocomial (JAWETZ et al., 1991).

2.4 ENTEROBACTERIACEAE E PSEUDOMONADACEAE NA CAVIDADE BUCAL

Enterobacteriaceae foram isoladas da cavidade bucal de pacientes em estudo realizado por Sedgley e Samaranayake (1994b). Espécies de *Enterobacter* e *Klebsiella* foram os coliformes mais freqüentemente isolados. Estudo clínico com amostras de enxágüe bucal demonstrou prevalência de 32% de Enterobacteriaceae em trezentos indivíduos de Hong Kong, sendo que *Enterobacter cloacae* representou 26%, *Enterobacter aerogenes* 16%, *Enterobacter sakazakii* 12%, *Enterobacter gergoviae* 4%, *Enterobacter intermedium* 3%, *Enterobacter* spp. 2%, *Enterobacter agglomerans* 2,2%, *Enterobacter amnigenus* I 1%, *Klebsiella pneumoniae pneumoniae* 24%, *Klebsiella oxytoca* 9%, *Citrobacter freundii* 5%, *Citrobacter diversus* 1%, *Yersinia intermedia* 5%, *Serratia marcescens* 3%, *Serratia*

liquefaciens 2%, *Serratia plymuthica* 1%, *Escherichia coli* 2%, *Rahnella aquatilis* 1%, *Erwinia* spp. 1%.

Estudo microbiológico realizado por Öhman et al. (1995) analisaram a prevalência de microrganismos conhecidos por causar infecções oportunistas na cavidade bucal. Amostras de cem indivíduos (47 homens e 53 mulheres) com 79 anos de idade foram coletadas da região da mucosa palatal, comissura labial e da prótese total. Alta prevalência de doenças e uso freqüentes medicamentos foram registrados entre os participantes. Espécie de Enterobacteriaceae foi encontrada na região de comissura labial em só um indivíduo sendo esta *Escherichia coli*.

Estudo clínico realizado por Goldberg et al. (1997) verificaram a prevalência de Enterobacteriaceae em quatro populações diferentes: pacientes ortodônticos, com halitose, com próteses totais e pacientes controle (sem halitose, prótese total ou aparelho ortodôntico) com idade entre 14 e 73 anos. Foram coletadas amostras de bolsa periodontal e dorso da língua dos pacientes ortodônticos e com halitose. Dos pacientes com próteses totais foram coletadas amostras da parte interna da prótese que estava em contato com o palato duro. Dos pacientes controle foram coletadas amostras da saliva. A prevalência de Enterobacteriaceae nos 62 pacientes com próteses totais foi de 48%, nos 106 pacientes com halitose, 27,1%, nos 115 pacientes controle, 16,4% e nos 108 pacientes ortodônticos a prevalência foi de 13%. *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae pneumoniae*, *Enterobacter gergoviae* e *Enterobacter cloacae* foram as espécies especificamente coletadas do dorso da língua que produziram *in vitro* sulfetos e cadaverina, ambos compostos relacionados com a halitose.

Embora os microrganismos das famílias Enterobacteriaceae e gênero *Pseudomonas* não pertençam à microbiota bucal residente, Santos e Jorge (1998),

em amostragem aleatória e heterogênea, encontraram elevada prevalência (50%) de Enterobacteriaceae na cavidade bucal de pacientes da região do Vale do Paraíba, Brasil, sendo as espécies *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca* as mais isoladas. Pseudomonadaceae foi encontrada na cavidade bucal em 6% dos indivíduos examinados, sendo *Pseudomonas aeruginosa* a espécie mais isolada.

Leung et al. (2001) em um estudo clínico com sessenta e três indivíduos analisaram amostras de enxágüe bucal. Os indivíduos foram divididos em grupos. Grupos A e B, indivíduos após tratamento radioterápico na região da cabeça e pescoço, com idade entre 48 e 60 anos e acima de 60 anos respectivamente. Grupos C e D controles, indivíduos que não tiveram tratamento radioterápico na região da cabeça e pescoço, respectivamente com idade entre 43 e 60 anos e acima de 60 anos. *Acinetobacter* spp. (família Moraxellaceae) foi isolada nos grupos A, B e D. Espécie de Pseudomonadaceae como *Chryseomonas luteola* e *Flavimonas oryzihabitans*, estavam presentes no grupo A, *Pseudomonas aeruginosa* nos grupos A, B e D, *Pseudomonas fluorescens/putida* no grupo C. Nos grupos A e D foi encontrado *Stenotrophomonas maltophilia* (família Xanthomonadaceae). Espécies de Enterobacteriaceae como *Citobacter freundii* estava presente no grupo B, *Enterobacter cloacae* nos quatro grupos, *Escherichia coli* nos grupos A e D e *Klebsiella pneumoniae pneumoniae* nos grupos A e B.

Em estudo clínico realizado por Santos et al. (2002) com oitenta e oito indivíduos com periodontite crônica, observaram que 43,18% dos pacientes apresentaram Enterobacteriaceae e gênero *Pseudomonas* na cavidade bucal e 15,9%, na bolsa periodontal, sendo mais prevalente em indivíduos do sexo masculino. Na cavidade bucal, 89,58% das bactérias pertenciam à família

Enterobacteriaceae, 8,34% ao gênero *Pseudomonas* e 2,08% ao gênero *Chryseomonas*. Na bolsa periodontal, 88,23% das bactérias pertenciam à família Enterobacteriaceae e 11,77% ao gênero *Pseudomonas*. *Enterobacter cloacae* foi o microrganismo mais prevalente na cavidade bucal e bolsa periodontal. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre a presença destes microrganismos e profundidade da bolsa periodontal, faixa etária, hábito de fumar ou presença de doença sistêmica.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi analisar a presença de bactérias da família Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae na região posterior do dorso da língua em indivíduos adultos. Foi avaliada a correlação da prevalência destes microrganismos com a presença de saburra lingual, gênero, idade, hábito de fumar e presença de peças protéticas.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade de Taubaté com protocolo número 163/05 (Anexo A). Todos os voluntários assinaram um termo de consentimento após explicação verbal e escrita sobre a realização do estudo e seus objetivos, informando sobre os riscos e benefícios aos quais estariam expostos (Apêndice A).

4.2 SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS

4.2.1 Critério de Inclusão

Foram selecionados cem voluntários, de ambos os gêneros, com idades entre 30 e 50 anos em tratamento odontológico na clínica do Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté, no período da tarde, que passaram por exame clínico intra-bucal para avaliação de presença ou ausência de saburra lingual, presença de peças protéticas (prótese fixa, prótese parcial removível e prótese total) e após responderam a um questionário sobre uso de antibiótico, colutório bucal, hábito de fumar, horário da última higiene bucal, o hábito de limpar a língua e se o próprio voluntário sente o seu hálito (Apêndice B).

4.2.2 Critério de Exclusão

Foram excluídos do estudo os voluntários que utilizavam aparelho ortodôntico e fizeram uso de antibiótico nos seis meses que antecederam o estudo e os que relataram utilizar colutórios bucais.

4.3 ANÁLISE DA SABURRA LINGUAL

A presença de saburra foi quantificada pela espessura e pela área (TANAKA et al., 2004). Para a avaliação da área a língua foi dividida em terço posterior, médio e anterior (Figura 1). Foram atribuídos escores de 0 a 3 sendo, 0 nenhuma saburra visível no dorso da língua; 1 saburra apenas no terço posterior do dorso da língua; 2 saburra no terço posterior e médio do dorso da língua e 3 saburra no terço posterior, médio e anterior do dorso da língua (Figura 2). A espessura da saburra foi definida por escores de 0 a 3 sendo, 0 nenhuma saburra visível no dorso da língua; 1 camada fina com papilas visíveis; 2 camada moderada sendo possível visualizar algumas papilas e 3 camada grossa com papilas praticamente não visíveis (Figura 3). A avaliação da saburra foi feita por um examinador devidamente calibrado, por meio do percentual de concordância. Em um primeiro momento foi mensurado a área e a espessura da saburra de dez voluntários e depois em um outro dia os mesmos voluntários foram novamente avaliados. Houve 90% de concordância.

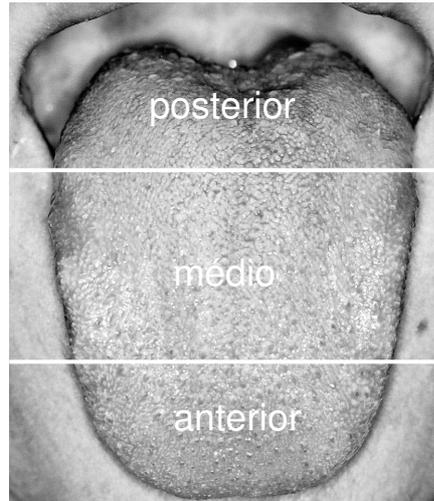


Figura 1 – Divisão do dorso da língua em terço posterior, médio e anterior

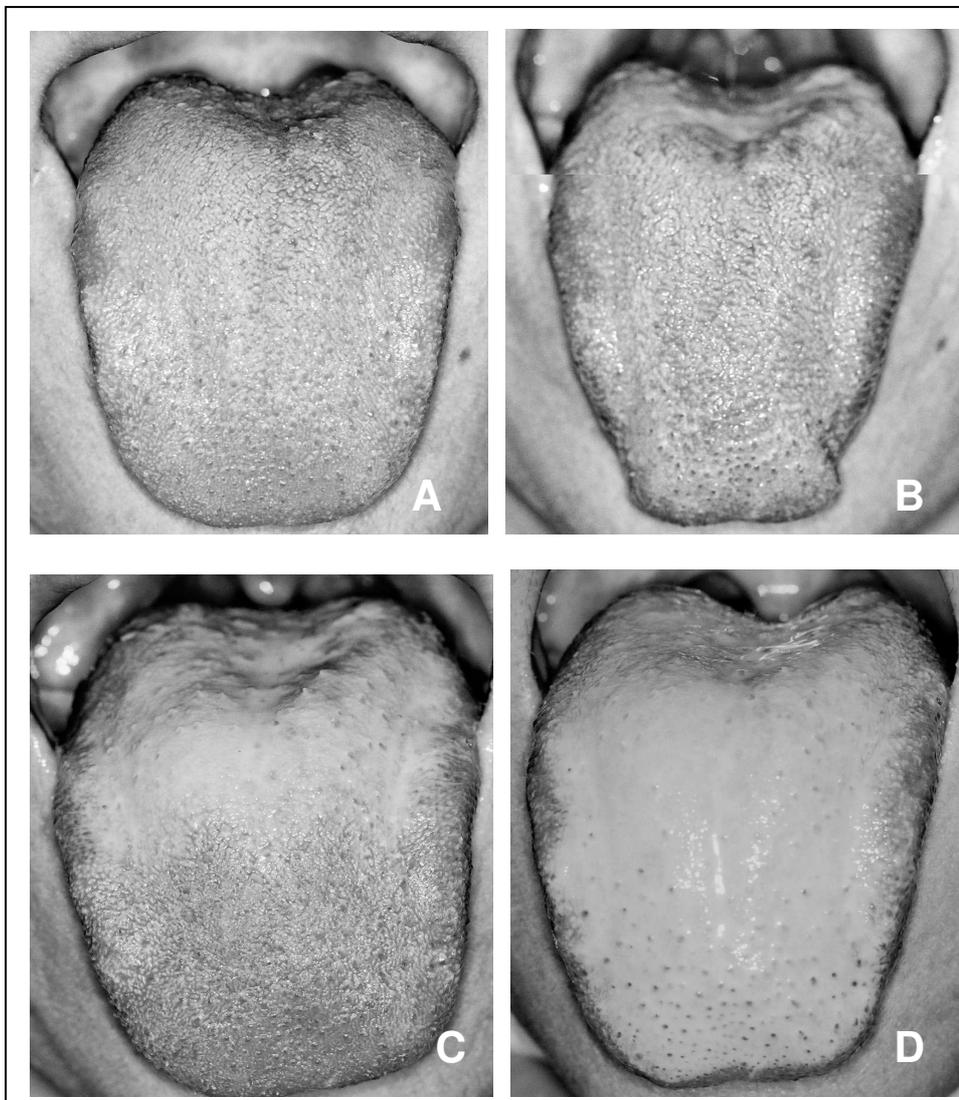


Figura 2 – Aspecto do dorso da língua de acordo com a área de saburra lingual: em A, nenhuma saburra visível no dorso da língua: escore zero de área; em B, saburra localizada apenas no terço posterior do dorso da língua: escore um de área; em C, saburra localizada no terço posterior e médio do dorso da língua: escore dois de área; em D, saburra localizada no terço posterior, médio e anterior do dorso da língua: escore três de área

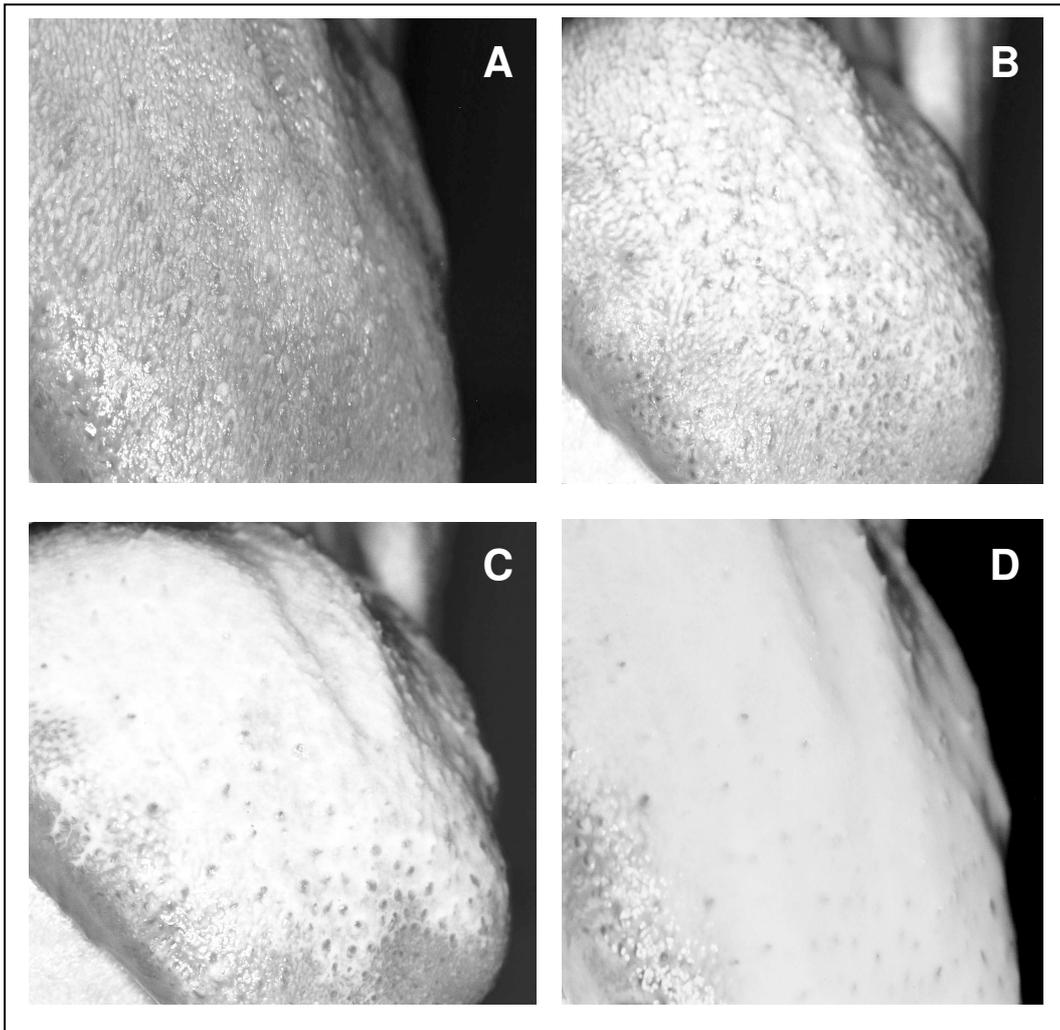


Figura 3 – Aspecto do dorso da língua de acordo com a espessura de saburra lingual: em A, nenhuma saburra visível no dorso da língua: escore zero para espessura; em B, camada fina de saburra: escore um para espessura; em C, camada moderada de saburra: escore dois para espessura; em D, camada grossa de saburra: escore três para espessura

4.4 COLETA DA AMOSTRA DO DORSO DA LÍNGUA

Foi coletado material do dorso da língua na região da papila valada, com uma alça calibrada de 10 μ L esterilizada descartável (Inlab Diagnóstica, Diadema, SP, Brasil, lote 827388). Esse material foi colocado em flaconete (Eppendorf) contendo 1 mL de PBS (solução fisiológica 0,9% tamponada com fosfato) pH 7,4 esterilizada (Figura 4) e foi encaminhado ao Laboratório de Microbiologia da Universidade de Taubaté no prazo máximo de três horas, mantido sob refrigeração.



Figura 4 – Coleta do matéria: em A, coleta do material na região de papila valada com alça calibrada de 10 μ L; em B, material colocado em flaconete (Eppendorf) com 1 mL de PBS

4.5 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

No Laboratório de Microbiologia o material coletado foi homogeneizado por 30 segundos em agitador de tubos (Vortex) e dessa suspensão 0,1 mL foi semeado em duplicata, com auxílio de alça de Drigalsky em placas de Petri contendo ágar MacConkey (Difco, Detroit, EUA) (Figura 5).

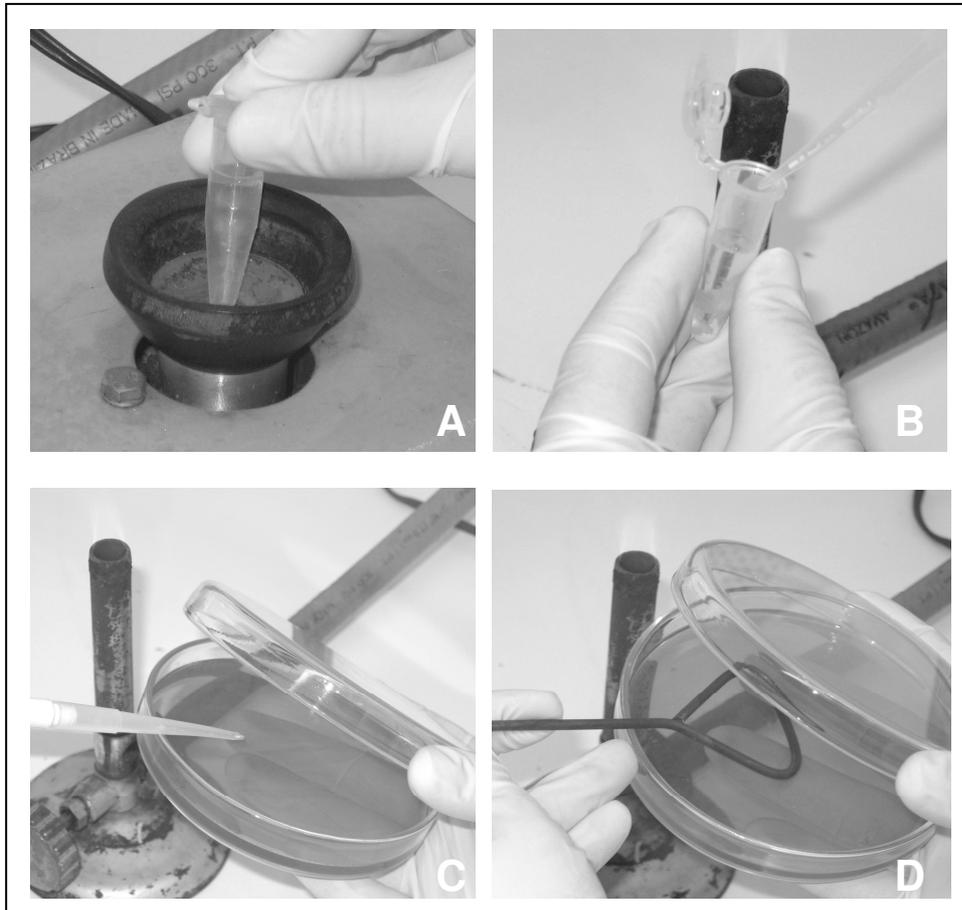


Figura 5 – Processamento e semeadura do material coletado: em A, material homogeneizado em B, coleta de 0,1 mL da suspensão; em C, suspensão colocada na placa de Petri contendo ágar MacConkey; em D, suspensão semeada com alça de Drigalsky

As placas foram incubadas a 37°C em ambiente de aerobiose por 24/48 horas e após, as unidades formadoras de colônias (UFC) contadas. Em colônias com morfologias diferentes, foram feitas colorações de Gram para confirmação de bacilos Gram-negativos que foram armazenados em tubos contendo ágar Gelose (cloreto de sódio (Vetec Química fina LTDA, Rio de Janeiro; BR), bacto ágar (Difco, Detroit, EUA), extrato de carne e peptona) para posterior identificação (Figuras 6 e 7).

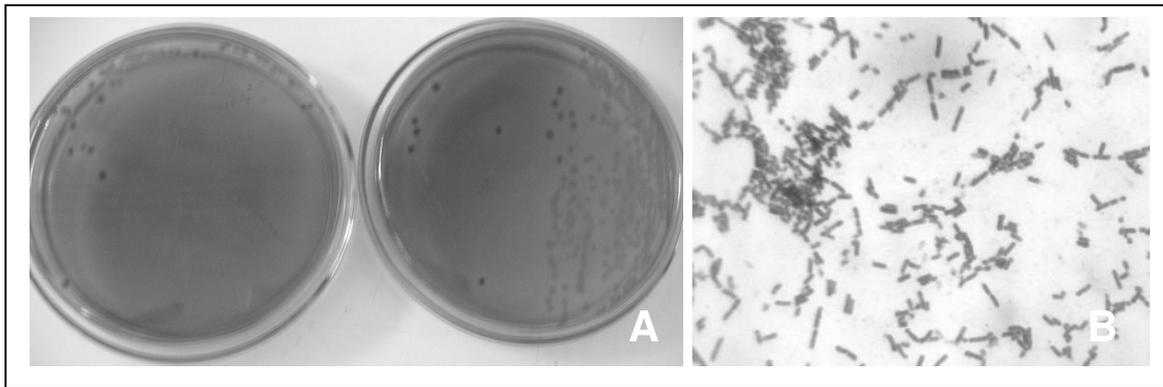


Figura 6 – Confirmação de bacilos Gram-negativos: em A, crescimento bacteriano em ágar MacConkey após 24 horas; em B, bacilos Gram-negativos

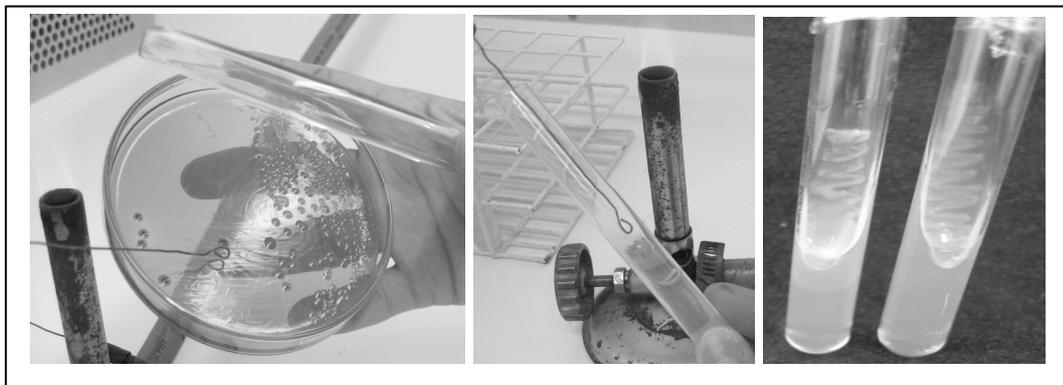


Figura 7 – Obtenção de cultura pura

Os microrganismos isolados foram identificados pelo sistema API 20E (Biolab-Merieux, França) que contém 20 microtubos com substratos desidratados. As culturas puras foram reativadas, em placas de Petri contendo ágar MacConkey, 24 horas antes do teste. Após o crescimento bacteriano foi coletado uma colônia, com o auxílio de uma alça de platina, e colocada em 5,0 mL de água destilada e esterilizada obtendo a suspensão de microrganismos (Figura 8). Na caixa de incubação, previamente identificada, foi distribuído cerca de 5,0 mL de água destilada e esterilizada nos alvéolos para criar uma atmosfera úmida. A galeria API 20E foi colocada na caixa de incubação e com o auxílio de uma pipeta Pasteur (esterilizada), foi inoculada a suspensão de microrganismos nos 20 microtubos até o nível indicado. Para criar um ambiente de anaerobiose, algumas gotas de óleo de

parafina foram colocadas nos testes L-arginina (ADH), L-lisina (LDC), L-ornitina (ODC), Tiosulfato de sódio (H₂S) e Urease (URE) (Figura 9). O conjunto foi incubado a 37°C em ambiente de aerobiose por 24 horas. As leituras foram traduzidas por alterações de cor ou reveladas por meio da adição de reagentes. Foi gerado um código numérico de 7 dígitos que corresponde à espécie identificada pelo programa de identificação Apilab Plus (v.3.3.3 @ copyright 1990 biomerieux sa) (Figura 10).

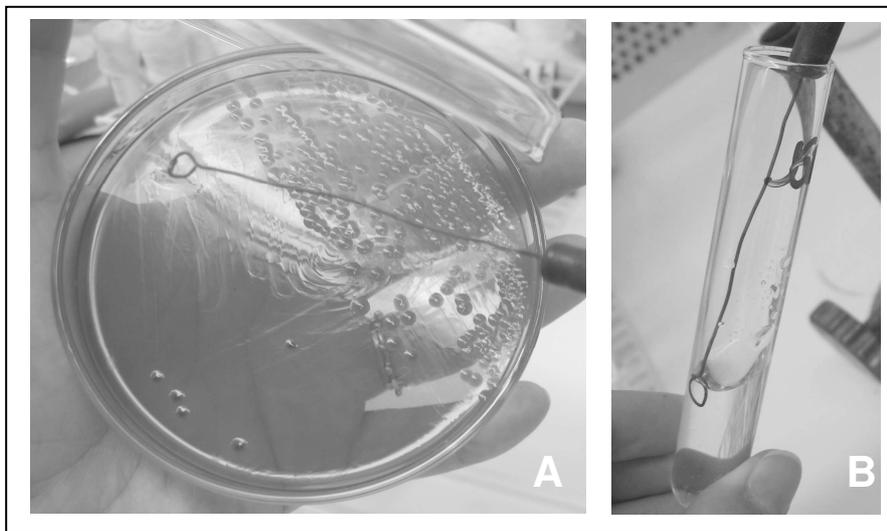


Figura 8 – em A, coleta da colônia reativada; em B, suspensão de microrganismos



Figura 9 – Sistema API 20E para identificação dos microrganismos isolados: em A, caixa de incubação com 5,0 mL de água destilada esterilizada; em B, inoculação da suspensão de microrganismos; em C, adição de óleo de parafina

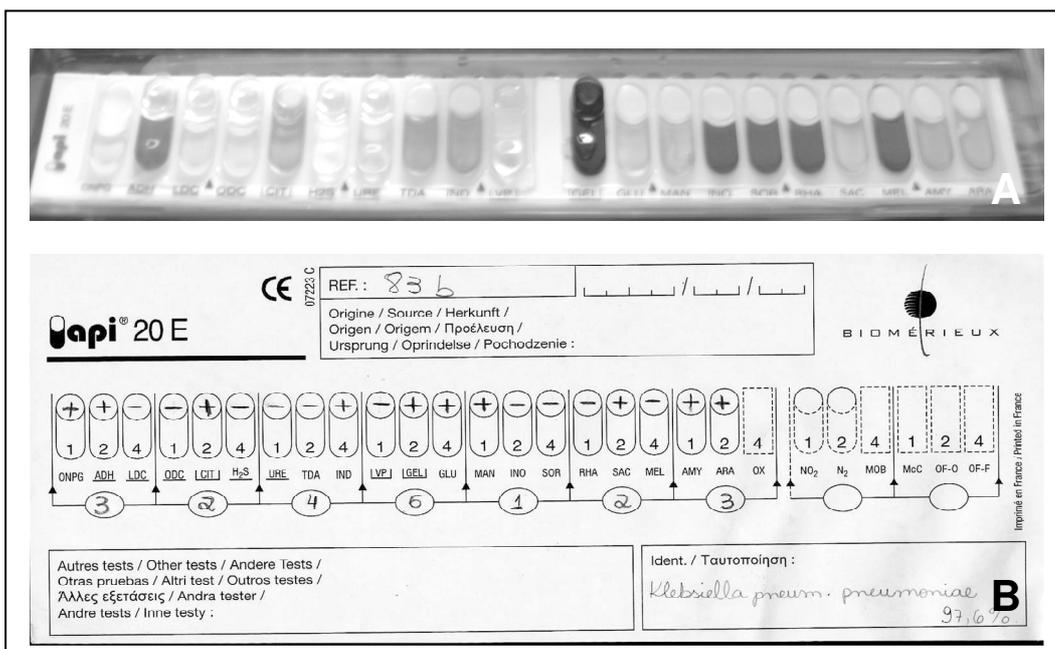


Figura 10 – Ficha de identificação do sistema API 20 E: em A, alterações de cor após 24hs e adição de reagentes; em B, ficha de resultado

4.6 CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA

Como as variáveis a serem analisadas foram não paramétricas, não existe uma fórmula para o cálculo do tamanho da amostra. Segundo Triola (1999), um teste não paramétrico para ser eficiente necessita de um tamanho de amostra maior que os usados em testes paramétricos, pois quanto maior a amostra mais esta se aproxima de uma distribuição normal.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados estatisticamente ao nível de significância de 5%. Na análise estatística foi aplicado o teste exato de Fisher para comparar os casos positivos e negativos com gênero, idade, hábito de fumar e presença de peças protéticas. Para comparar os casos positivos e negativos com a área e a espessura da saburra lingual foi aplicado o teste Qui-Quadrado (χ^2).

5 RESULTADOS

Dos cem voluntários analisados 50 eram do gênero feminino e 50 do gênero masculino com idades entre 30 e 50 anos. Considerando-se a amostra total, 42% apresentaram Enterobacteriaceae e/ou Pseudomonadaceae na região posterior do dorso da língua. Enterobacteriaceae foi isolada em 29% desses voluntários, Pseudomonadaceae em 6%, Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae em 6%; Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae e Moraxellaceae em 1% e Xanthomonadaceae em 1% (Gráfico 1).

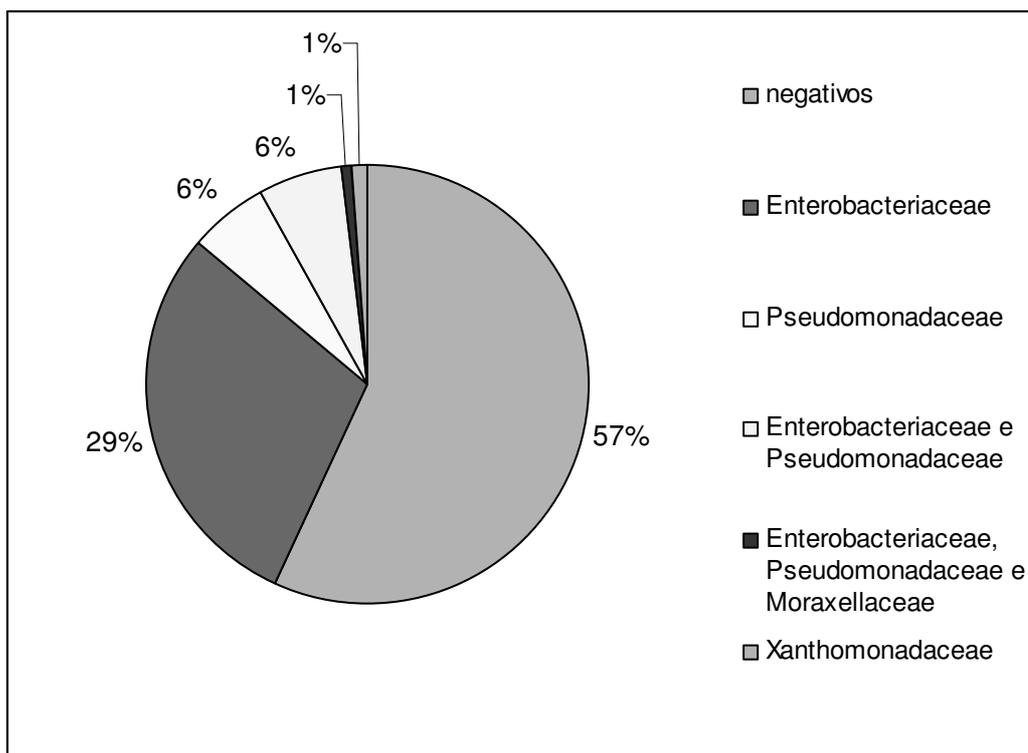


Gráfico 1 – Frequência de isolamento de Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae

Foram isoladas 64 espécies, sendo *Enterobacter cloacae* a espécie mais prevalente (21,89%), seguida por *Pasteurella pneumotropica/haemolytica* (14,07%), ambas pertencentes à família Enterobacteriaceae. Da família Pseudomonadaceae, *Chryseomonas luteola* foi à espécie mais prevalente (9,38%) (Tabela 1).

Tabela 1 – Frequência de isolamento e média de log de unidade formadora de colônia por mililitro (UFC/mL) de espécies de Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae da região posterior do dorso da língua (n=64) dos 100 voluntários

Espécies	Frequência de isolamento		Média log de UFC/mL
	n	%	
<i>Enterobacter cloacae</i>	14	21,89%	2,50
<i>Pasteurella pneumotropica/haemolytica</i>	9	14,07%	4,14
<i>Pantoea</i> spp. 1	6	9,38%	3,18
<i>Chryseomonas luteola</i>	6	9,38%	3,79
<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	3	4,69%	3,46
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3	4,69%	2,69
<i>klebsiella pneumoniae rhinoscleromatis</i>	3	4,69%	3,90
<i>Shigella</i> spp.	3	4,69%	4,19
<i>Pantoea</i> spp. 2	2	3,12%	1,54
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	3,12%	4,93
<i>Yersinia enterocolitica</i>	2	3,12%	4,08
<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae</i>	2	3,12%	2,84
<i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i> *	1	1,56%	1
<i>Enterobacter cancerogenus</i>	1	1,56%	2,55
<i>Klebsiella omithinolytica</i>	1	1,56%	2,50
<i>Klebsiella pneumoniae ozaenae</i>	1	1,56%	3,20
<i>Pseudomonas fluorescens/putida</i>	1	1,56%	2,85
<i>Serratia marcescens</i>	1	1,56%	1,60
<i>Serratia plymuthica</i>	1	1,56%	1,60
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> **	1	1,56%	2,14
<i>Vibrio fluvialis</i>	1	1,56%	3,58

* Espécie pertencente à família Moraxellaceae (GARRITY et al., 2002)

** Espécie pertencente à família Xanthomonadaceae (GARRITY et al., 2002)

Dentre os voluntários positivos (42%), 38% (n=16) apresentaram mais de uma espécie destes microrganismos no dorso posterior da língua, sendo que 21,43% (n=9) apresentaram duas espécies de Enterobacteriaceae, 9,5% (n=4) uma espécie de Enterobacteriaceae e uma de Pseudomonadaceae; 2,4% (n=1) quatro espécies de Enterobacteriaceae; 2,4% (n=1) duas espécies de Enterobacteriaceae, uma de Pseudomonadaceae e uma de Moraxellaceae (Quadro 1).

Espécies	Número de pacientes
<i>Enterobacter cloacae</i> e <i>Chryseomonas luteola</i>	1
<i>Pasteurella pneumotropica/haemolytica</i> e <i>Chryseomonas luteola</i>	1
<i>Klebsiella oxytoca</i> e <i>Chryseomonas luteola</i>	1
<i>Pantoea</i> spp. 1 e <i>Flavimonas oryzihabitans</i>	1
<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Pantoea</i> spp. 2 e <i>Chryseomonas luteola</i>	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i> *, <i>Shigella</i> spp e <i>Pasteurella pneumotropica/haemolytica</i>	1
<i>Pasteurella pneumotropica/haemolytica</i> e <i>Klebsiella pneumoniae ozaenae</i>	1
<i>Enterobacter cloacae</i> e <i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae</i>	1
<i>Pasteurella pneumotropica/haemolytica</i> e <i>Pantoea</i> spp. 1	1
<i>Enterobacter cloacae</i> e <i>Klebsiella omithinolytica</i>	1
<i>Enterobacter cloacae</i> e <i>Yersinia enterocolitica</i>	1
<i>Enterobacter cloacae</i> e <i>Pantoea</i> spp. 1	1
<i>Pasteurella pneumotropica/haemolytica</i> e <i>Vibrio fluvialis</i>	1
<i>Klebsiella oxytoca</i> e <i>Serratia plymuthica</i>	1
<i>Shigella</i> spp. e <i>Klebsiella pneumoniae rhinoscleromatis</i>	1
<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Shigella</i> spp. e <i>Pasteurella pneumotropica/haemolytica</i>	1

* Espécie pertencente à família Moraxellaceae

Quadro 1 – Presença de mais de uma espécie de Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae e Moraxellaceae da região posterior do dorso da língua

Em relação à saburra lingual, área de escore um e espessura de escore dois, foram as mensurações mais prevalentes tanto nos 43 voluntários positivos quanto nos 57 que não apresentaram estes microrganismos (Gráficos 2 e 3).

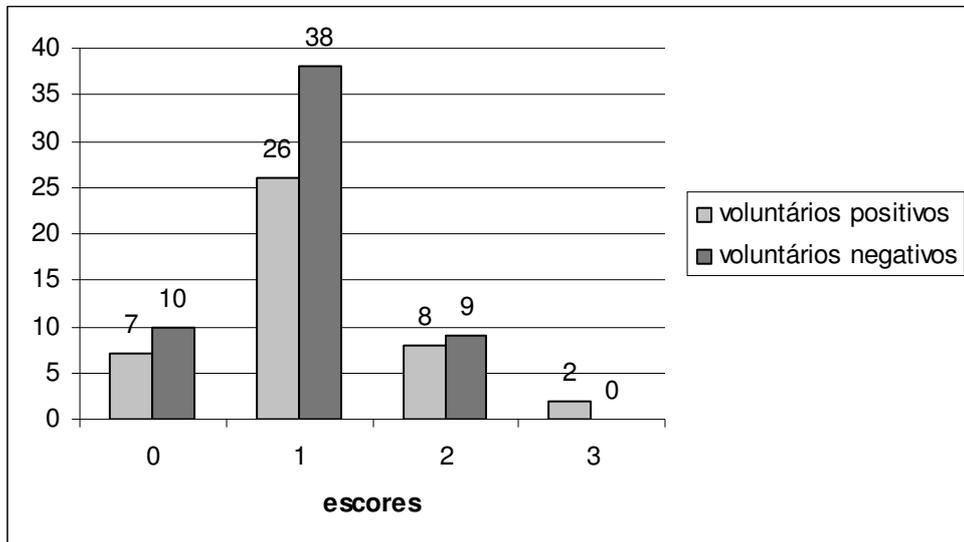


Gráfico 2 - Frequência da área de saburra lingual nos voluntários positivos e negativos

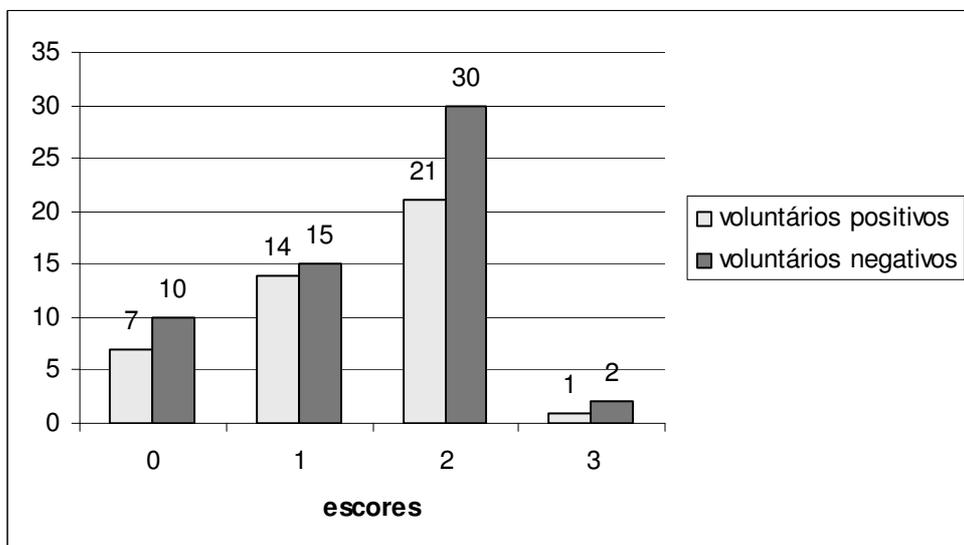


Gráfico 3 - Frequência da espessura de saburra lingual nos voluntários positivos e negativos

O teste estatístico Qui-Quadrado foi aplicado na correlação dos casos positivos e negativos com área e espessura da saburra lingual. Considerando diferença estatisticamente significativa quando $p \leq 0,05$.

Em relação à área de saburra lingual, dos 43 voluntários positivos, 16,28% (n=7) apresentaram escore zero, 60,46% (n=26) escore um, 18,6% (n=8) escore dois e 4,66% (n=2) escore três. Não houve relação estatisticamente significativa ($p=0,4014$) entre a área de saburra lingual e presença de Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae (Tabela 2).

Tabela 2 – Número de voluntários que apresentaram Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae na região posterior do dorso da língua de acordo com a área de saburra lingual

Área	Casos positivos		Casos negativos		Total
	n	%	n	%	n
0	7	16,28%	10	17,55%	17
1	26	60,46%	38	66,66%	64
2	8	18,6%	9	15,79%	17
3	2	4,66%	0	0%	2

Teste Qui-Quadrado ($\chi^2 = 2,936$), ($p=0,4016$)

Dos 43 voluntários positivos, 16,28% (n=7) apresentaram escore de espessura de saburra lingual zero, 32,56% (n=14) escore um, 48,84 (n=21) escore dois e 2,32% (n=1) escore três. Não houve relação estatisticamente significativa ($p=0,911$) com a espessura de saburra lingual e presença de Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae (Tabela 3).

Tabela 3 – Número de voluntários que apresentaram Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae na região posterior do dorso da língua de acordo com a espessura de saburra lingual

Espessura	Casos positivos		Casos negativos		Total
	n	%	n	%	
0	7	16,28%	10	17,55%	17
1	14	32,56%	15	26,32%	29
2	21	48,84%	30	52,63%	51
3	1	2,32%	2	3,5%	3

Teste Qui-Quadrado ($\chi^2 = 0,536$), ($p=0,911$)

A relação entre as espécies isoladas com área e espessura da saburra lingual está demonstrada no Quadro 2.

Espécies	Total	Área				Espessura			
		zero	1	2	3	zero	1	2	3
<i>Enterobacter cloacae</i>	14		10	4			5	9	
<i>Pasteurella pneumotropica/haemolytica</i>	9	3	4	1	1	3	3	3	
<i>Pantoea</i> spp. 1	6		4	2			3	3	
<i>Chryseomonas luteola</i>	6	1	2	3		1	2	3	
<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	3		2	1			1	2	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3			2	1		1	1	1
<i>Klebsiella pneumoniae rhinoscleromatis</i>	3	1	2			1	1	1	
<i>Shigella</i> spp.	3		2	1			3		
<i>Pantoea</i> spp. 2	2		2				2		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2		2				1	1	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	2	1	1			1		1	
<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae</i>	2	1		1		1		1	
<i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i> *	1		1				1		
<i>Enterobacter cancerogenus</i>	1	1				1			
<i>Klebsiella omithinolytica</i>	1		1					1	
<i>Klebsiella pneumoniae ozaenae</i>	1				1			1	
<i>Pseudomonas fluorescens/putida</i>	1		1					1	
<i>Serratia marcescens</i>	1		1				1		
<i>Serratia plymuthica</i>	1				1				1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> **	1	1						1	
<i>Vibrio fluvialis</i>	1	1						1	

* Espécie pertencente à família Moraxellaceae

** Espécie pertencente à família Xanthomonadaceae

Quadro 2 – Frequência de isolamento de espécies de Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae relacionado à área e espessura de saburra lingual

Foi utilizado o teste exato de Fisher para comparar os casos positivos e negativos com gênero, faixa etária, hábito de fumar e presença de peças protéticas. Diferença estatisticamente significativa foi considerada quando $p \leq 0,05$.

Dentre os casos positivos ($n=43$), 39,54% dos voluntários ($n=17$) eram do gênero masculino e 60,46% ($n=26$) do gênero feminino (Tabela 4). Não foram encontrados resultados estatisticamente significantes ($p=0,0528$) na prevalência destes microrganismos entre o gênero.

Tabela 4 – Número de voluntários que apresentaram Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae na região posterior do dorso da língua de acordo com o gênero

Gênero	Casos positivos		Casos negativos		Total
	n	%	n	%	n
Masculino	17	39,54%	33	57,9%	50
Feminino	26	60,46%	24	42,1%	50

Teste Exato de Fisher ($p=0,0528$)

Dos 43 voluntários positivos, 37,2% ($n=16$) possuíam idade entre 30 e 39 anos e 62,8% ($n=27$) entre 40 e 50 anos. Dos 57 voluntários negativos, 70,17% ($n=40$) possuíam idade entre 30 e 39 anos e 29,83% ($n=17$) entre 40 e 50 anos. Houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,001$) para os casos positivos na faixa etária entre 40 e 50 anos (Tabela 5).

Tabela 5 – Número de voluntários que apresentaram Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae na região posterior do dorso da língua de acordo com a faixa etária

Faixa etária	Casos positivos		Casos negativos		Total
	n	%	n	%	n
30 – 39	16	37,2%	40	70,17%	56
40 – 50	27	62,8%	17	29,83%	44

Teste Exato de Fisher ($p=0,001$)

Em relação à correlação da presença ou não destes microrganismos no dorso posterior da língua com o hábito de fumar, 13,95% (n=6) eram fumantes e 86,05% (n=37) não tinham este hábito. Dos casos negativos, 24,56% (n=14) eram fumantes e 75,44% (n=43) não fumantes. A maior prevalência destes microrganismos em voluntários não fumantes foi estatisticamente significativa ($p=0,0485$) (Tabela 6).

Tabela 6 – Número de voluntários que apresentaram Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae na região posterior do dorso da língua de acordo com o hábito de fumar

	Casos positivos		Casos negativos		Total
	n	%	n	%	n
Fumantes	6	13,95%	14	24,56%	20
Não Fumantes	37	86,05%	43	75,44%	80

Teste Exato de Fisher ($p=0,0485$)

Dos 100 voluntários analisados 29 usavam peças protéticas e destes, 16 (37,2%) foram positivos para Enterobacteriaceae e/ou Pseudomonadaceae e 13 negativos (22,8%). Não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,089$) na prevalência destes microrganismos com a presença ou não de peças protéticas (Tabela 7).

Tabela 7 – Número de voluntários que apresentaram Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae na região posterior do dorso da língua de acordo com o uso de peças protéticas

Peças protéticas	Casos positivos		Casos negativos		Total
	n	%	n	%	n
Sim	16	37,2%	13	22,8%	29
Não	27	62,8%	44	77,2%	71

Teste Exato de Fisher ($p=0,089$)

A relação entre a presença de Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae no dorso posterior da língua dos voluntários e o gênero, faixa etária, hábito de fumar e uso de peças protéticas está demonstrada no Quadro 3.

Espécies	n	Gênero		Faixa etária		Hábito de fumar		Peças protéticas	
		M	F	30-39	40-50	Sim	Não	Sim	Não
<i>Enterobacter cloacae</i>	14	6	8	4	10	2	12	5	9
<i>Pasteurella pneumotropica/haemolytica</i>	9	1	8	2	7	1	8	5	4
<i>Pantoea spp. 1</i>	6	3	3	3	3		6	1	5
<i>Chryseomonas luteola</i>	6	2	4	2	4		6	3	3
<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	3	2	1	2	1		3	1	2
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3	2	1		3		3		3
<i>Klebsiella pneumoniae rhinoscleromatis</i>	3	1	2	1	2	1	2	1	2
<i>Shigella spp.</i>	3		3	1	2	1	2	1	2
<i>Pantoea spp. 2</i>	2	1	1	1	1		2	1	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2		2	2		1	1		2
<i>Yersinia enterocolitica</i>	2	1	1		2		2		2
<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae</i>	2	1	1		2		2	2	
<i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus*</i>	1		1	1			1		1
<i>Enterobacter cancerogenus</i>	1		1	1			1		1
<i>Klebsiella omithinolytica</i>	1		1		1	1		1	
<i>Klebsiella pneumoniae ozaenae</i>	1		1	1			1	1	
<i>Pseudomonas fluorescens/putida</i>	1		1	1		1			1
<i>Serratia marcescens</i>	1	1		1			1		1
<i>Serratia plymuthica</i>	1	1			1		1	1	
<i>Stenotrophomonas maltophilia**</i>	1	1		1			1		1
<i>Vibrio fluvialis</i>	1		1		1		1		1

* Espécie pertencente à família Moraxellaceae.

** Espécie pertencente à família Xanthomonadaceae.

Quadro 3 – Isolamento de espécies de Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae e Xanthomonadaceae relacionado ao gênero, faixa etária, hábito de fumar e peças protéticas

6 DISCUSSÃO

No presente estudo foram coletadas amostras da região posterior do dorso da língua e realizado a mensuração da saburra. Dos 100 voluntários analisados, a maior prevalência de saburra lingual foi no terço posterior (escore 1) e espessura moderada (escore 2), onde foram encontrados valores de 64% e 51% respectivamente. Em estudos semelhantes, Gómez et al. (2001) e Quirynen et al. (2004), também encontraram maior prevalência de saburra na região posterior do dorso da língua. O terço dorsal posterior da língua é a área mais propensa para o acúmulo da saburra lingual, pois os dois terços anteriores do dorso da língua são friccionados constantemente com o palato duro, limpando a língua (Spielman; Bivona e Rifkin, 1996) e o terço dorsal posterior da língua está em contato com o palato mole onde faltam rugosidades e efeito de limpeza. Segundo Rosenberg (1996) secreções nasais e paranasais podem acumular na região posterior do dorso da língua favorecendo a formação da saburra lingual.

Poucos estudos foram encontrados na literatura relacionando Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae na região posterior do dorso da língua, justificando-se assim ser os resultados deste estudo relacionados com amostras coletadas na cavidade bucal e não especificamente na região posterior do dorso da língua. Segundo Loesche (1997) e Mager et al. (2003), a microbiota da língua, superfície bucal e saliva são similares. Loesche (1997) verificou que a saliva contém bactérias provenientes de todas as superfícies da cavidade bucal. A língua e mucosa jugal constituem a maior parte da área de superfície da boca, a microbiota descamada da língua e mucosa jugal é encontrada na saliva, portanto a microbiota da língua, superfície bucal e saliva são similares. Mager et al. (2003), em estudo

clínico com 225 indivíduos, analisaram a proporção de 40 espécies bacterianas em amostras da saliva, oito áreas da mucosa bucal representadas por três áreas da língua (dorsal, ventral e lateral), soalho da boca, mucosa jugal, palato duro, vestíbulo dos lábios superiores e inferiores e gengiva inserida e em 44 dos 225 indivíduos também foram analisadas amostras de biofilme dental supragengival e subgengival. Concluíram que a microbiota da saliva é similar à superfície dorsal e lateral da língua.

Não houve relação estatisticamente significativa com a área e espessura de saburra lingual e presença de Enterobacteriaceae e/ou Pseudomonadaceae neste estudo. Gómez et al. (2001) não encontraram diferença estatisticamente significativa na relação entre a coloração e espessura da saburra na região dorsal da língua e a carga bacteriana em amostras salivares. O número de bactérias por mililitro (mL) em relação à coloração de saburra (rosa, branco e amarelo) da língua foram 948×10^6 , 855×10^6 e 900×10^6 respectivamente. O número de bactérias por mL em relação à espessura de saburra (ausente, fina e grossa) foram 948×10^6 , 863×10^6 , e 895×10^6 respectivamente.

A prevalência encontrada neste estudo de Enterobacteriaceae e/ou Pseudomonadaceae na região posterior do dorso da língua foi de 42%. Semelhante resultado foi encontrado em outros dois estudos realizados no Brasil: em Santos et al. (2002), a prevalência destes microrganismos na cavidade bucal de indivíduos com periodontite crônica foi de 43,18%, e em estudo de Santos e Jorge (1998) a prevalência de Enterobacteriaceae e/ou Pseudomonadaceae na cavidade bucal foi mais elevada (51%).

Dos voluntários positivos deste estudo, 69,05% apresentaram prevalência de Enterobacteriaceae. Sedgley e Samaranayake (1994b), em estudo realizado em

Hong Kong, com amostras de enxágüe bucal, encontraram prevalência 32%. Goldberg et al. (1997) com amostras da saliva, bolsa periodontal e dorso da língua a prevalência de Enterobacteriaceae foi de 48% em pacientes com próteses totais, 27,1% pacientes com halitose, 16,4% em pacientes controle e 13% em pacientes ortodônticos. Leung et al. (2001), com amostras de enxágüe bucal de indivíduos após tratamento radioterápico na região da cabeça e pescoço, a prevalência encontrada de Enterobacteriaceae em indivíduos com idade entre 48 e 60 anos foi de 32% e acima de 60 anos a prevalência foi de 62,5%, indivíduos que não tiveram tratamento radioterápico na região da cabeça e pescoço, com idade entre 43 e 60 anos e acima de 60 anos a prevalência foi de 5% e 30% respectivamente. Santos e Jorge (1998) e Santos et al. (2002) dos paciente positivos encontraram prevalência de 86,27% e 89,58% de Enterobacteriaceae na cavidade bucal respectivamente.

Isolados da família Pseudomonadaceae estavam presentes na região posterior do dorso da língua de 6% dos voluntários analisados neste estudo. Sedgley e Samaranayake (1994b) e Santos e Jorge (1998) encontraram prevalência semelhante (6%) na cavidade bucal. Leung et al. (2001), em indivíduos após tratamento radioterápico na região da cabeça e pescoço, com idade entre 48 e 60 anos e acima de 60 anos, recuperação de Pseudomonadaceae foi de 32% e 25% respectivamente, indivíduos que não tiveram tratamento radioterápico na região da cabeça e pescoço, com idade entre 43 e 60 anos e acima de 60 anos a prevalência foi de 5% e 20% respectivamente. Santos et al. (2002) verificaram que a prevalência destes microrganismos foi de 10,41% na cavidade bucal de indivíduos com periodontite crônica.

Da família Enterobacteriaceae a espécie *Enterobacter cloacae* foi a mais freqüentemente isolada neste estudo, resultado semelhante ao encontrado por

Sedgley e Samaranayake (1994b), Santos e Jorge (1998), Santos et al. (2002) e Leung et al. (2001).

A espécie de Pseudomonadaceae mais isolada foi *Chryseomonas luteola* encontrada em nove voluntários dos 43 positivos com prevalência de 9,38%. *Chryseomonas luteola* foi encontrada em um paciente com prevalência de 2,08% em estudo realizado por Santos et al. (2002). *Pseudomonas aeruginosa* foi a espécie de Pseudomonadaceae mais prevalente encontrada nos estudos de Leung et al. (2001) e Santos e Jorge (1998) e Santos et al. (2002).

Em um voluntário examinado neste estudo foram isoladas três famílias Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae e Moraxellaceae sendo *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus* a espécie isolada da família Moraxellaceae. Esse microrganismo é isolado na natureza e em hospitais, faz parte da microbiota normal de orofaringe de um pequeno grupo de pessoas saudáveis, é capaz de proliferar durante a hospitalização. *Stenotrophomonas maltophilia* (família Xanthomonadaceae) foi isolada neste estudo em um voluntário. Esta espécie é considerada como patógeno oportunista responsável por infecções em pacientes debilitados com comprometimento dos mecanismos de defesa e que recebem antibioticoterapia por período prolongado (MURRAY et al., 2002b). Apesar deste estudo não visar esses microrganismos, com o sistema API 20E foram possíveis suas identificações. *Acinetobacter* foi isolado nos estudos de Sedgley e Samaranayake (1994b), Santos e Jorge (1998) e Leung et al. (2001) encontraram em seu estudo *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus* e *Stenotrophomonas maltophilia*.

No presente estudo não foi encontrada diferença estatística significativa na comparação entre Enterobacteriaceae e/ou Pseudomonadaceae na região posterior

do dorso da língua com a presença de saburra lingual. Essa relação não foi encontrada na literatura.

Não foram encontrados, neste estudo, resultados estatisticamente significantes quanto à prevalência destes microrganismos e gênero. Resultado semelhante foi encontrado em estudo de Sedgley e Samaranayake (1994b) e Santos e Jorge (1998). A maior prevalência de casos positivos para o gênero masculino foi estatisticamente significativa no estudo de Santos et al. (2002).

A faixa etária analisada neste estudo foi de 30 a 50 anos, dividido em dois grupos de 30 a 40 anos (n=16) e de 40 a 50 anos (n=27), houve maior prevalência de casos positivos para a faixa etária entre 40 e 50. Sedgley e Samaranayake (1994b) analisaram voluntários na faixa etária entre 15 e 29 anos (n=33), 30 a 49 anos (n=27) e acima de 50 anos (n=36) a prevalência de Enterobacteriaceae foi estatisticamente significativa na faixa etária acima de 50 anos (37,5%). Em estudo de Leung et al. (2001) com voluntários de 43 a 60 anos e acima de 60 anos encontraram maior prevalência de Enterobacteriaceae em voluntários acima de 60 anos. Não houve diferença estatisticamente significativa na prevalência destes microrganismos entre as faixas etárias no estudo de Santos e Jorge (1998) que analisaram 100 voluntários na faixa etária de 6 a 75 anos e Santos et al. (2002) que avaliaram 88 voluntários entre 25 e 60 anos.

O tabaco é um fator de risco potencial associado com a progressão da doença periodontal e lesões pré cancerígenas como a leucoplasia (KAMMA; NAKOU; BAEHNI, 1999; WENDELL; STEIN, 2001; NATTO, 2005; POATE; WARNAKULASURIYA, 2006). Neste estudo, a relação entre hábito de fumar e presença de Enterobacteriaceae e/ou Pseudomonadaceae na região posterior do dorso da língua foi estatisticamente significativa em voluntários não fumantes. Por

outro lado, não houve relação entre estes microrganismos e o hábito de fumar no estudo de Santos et al. (2002).

Prótese total pode ser considerada como reservatório potencial de patógenos respiratórios e facilitar a colonização da orofaringe. (SUMI et al., 2002; SUMI et al., 2003). Neste estudo dentre os cem voluntários seis usavam prótese total e destes quatro apresentaram Enterobacteriaceae e/ou Pseudomonadaceae, nove usavam prótese parcial removível e destes seis eram positivos para os microrganismos estudados e 14 usavam prótese fixa em que seis apresentaram Enterobacteriaceae e/ou Pseudomonadaceae. Não foi encontrado diferença estatisticamente significativa na prevalência de Enterobacteriaceae e/ou Pseudomonadaceae com a presença de peças protéticas o que sugere um estudo direcionado para isto com uma amostragem maior. Resultado semelhante foi encontrado nos estudos de Sedgley e Samaranayake (1994b) e Santos e Jorge (1998). Prevalência de 48% destes microrganismos foi observada no estudo de Goldberg et al. (1997) em 62 pacientes com próteses totais.

Os microrganismos deste estudo pertencem a uma microbiota transitória e sua prevalência na população ainda não foi esclarecida. Estudos que verifiquem os possíveis nichos destes microrganismos na cavidade bucal e sua distribuição na população poderão contribuir para o melhor conhecimento da microbiota bucal e de seu papel na ocorrência de patologias bucais.

7 CONCLUSÕES

A partir dos resultados do presente estudo, pode-se concluir:

- a) A prevalência de indivíduos positivos para Enterobacteriaceae e/ou Pseudomonadaceae na região posterior do dorso da língua foi de 42%.
- b) A espécie de Enterobacteriaceae mais prevalente foi *Enterobacter cloacae* (21,89%) seguida por *Pasteurella pneumotropica/haemolytica* (14,07%) e *Pantoea* spp. 1 (9,38%)
- c) A espécie de Pseudomonadaceae mais prevalente foi *Chryseomonas luteola* (9,38%) seguida por *Flavimonas oryzihabitans* (4,69%).
- d) Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae foram significativamente mais prevalentes no dorso posterior da língua de voluntários na faixa etária entre 40 e 50 anos e entre os voluntários que não tinham o hábito de fumar.
- e) Não houve correlação estatística significativa entre a presença de Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae com saburra lingual, gênero e peças protéticas.

REFERÊNCIAS

ATTIA, E. L.; MARSHALL, K. G. Halitosis. **CMA Journal**, Ottawa, v. 126, n. 1, p. 1281-1285, June. 1982.

BOEVER, E. H.; LOESCHE, W. J. Assessing the contribution of microflora of the tongue to oral malodor. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.126, n. 10, p. 1384-1393, Jan.1995.

BOSY, A. et al. Relationship of oral malodor to periodontitis: evidence of independence in discrete subpopulations. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 65, n. 1, p. 37-46, Jan. 1994.

BYDLOWSKI, S. P. Halitoses. In: DOUGLAS, C. R. **Tratado de fisiologia aplicada às ciências da saúde**. São Paulo: Pancast, 1994. cap. 58, p. 1003-1007.

CAMPOS, C. M.; ZELANTE, F. Contribuição para o estudo da microbiota bucal humana. Ocorrência das bactérias entéricas na saliva, língua e placa dental. **Rev. Fac. Odontol. São Paulo**, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 77-86, jan.1978.

ÇIÇEK, Y. et al. Effect of tongue brushing on oral malodor in adolescents. **Pediatr. Int.**, Carlton, v. 45, n. 1, p. 719-723, Jan. 2003.

COSTA, I. M. Metodologia para os estudos da halitose. **Ars. Cvrandi. Odontol.**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 9, p. 503-508, set. 1981.

_____. Patologia das halitoses. **Odontol. Mod.**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 6, p. 7-16, jul. 1987.

FEHRENBACH, M. J.; HERRING, S. W. Anatomia de superfície. In:_____. **Anatomia ilustrada da cabeça e do pescoço**. São Paulo: Manole, 1998. cap. 2, p. 28-30.

GARRITY, G. M. et al. Taxonomic outline of the Procaryotes Bergey's Manual of systematic Bacteriology. 2. ed. Michigan: Release, 2002, 364 p.

GOLDBERG, S. et al. Isolation of Enterobacteriaceae from the mouth and potencial association with malodor. **J. Dent. Res.**, Washington, v. 76, n. 11, p. 1770-1775, Nov.1997.

GÓMEZ, S. M. et al. Tongue coating and salivary bacterial counts in healthy/gingivitis subjects and periodontitis patientis. **J. Clin. Periodontal**, Copenhagen, v. 28, n. 10, p. 970-978, Oct. 2001.

GORZYNSKI, E. A. Enterobacteriaceae e vibriónaceae. In: NISENGARD, R. J.; NEWMAN, M. G. **Microbiologia oral e imunologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1997, cap. 25, p. 264-274.

GREIN, N. J. et al. Estomatologia para clínico: Halitose Diagnóstico e Tratamento. **Odontol. Mod.**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 6, p. 40-45, jun. 1982.

HERLIHY, B.; MAEBIUS, N. K. Órgãos dos sentidos. In: _____. **Anatomia e fisiologia do corpo humano saudável e enfermo**. Barueri: Manole, 2002. cap. 11, p. 219-220.

_____. Sistema digestório. In: _____. **Anatomia e fisiologia do corpo humano saudável e enfermo**. Barueri: Manole, 2002. cap. 19, p. 392.

JAWETZ, E. M. D. et al. Pseudomonas, acinetobacters e bactérias Gram-positivas menos comuns. In: _____. **Microbiologia médica**. 18. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1991. cap. 17, p. 185.

KAMMA, J. J.; NAKOU, M.; BAEHNI, P. C. Clinical and microbiological characteristics of smokers with early onset periodontitis. **J. Periodontal. Res.**, Copenhagen, v. 34, n. 1, p. 25-33, Jan. 1999.

KATAYAMA, E. M. T.; WECKX, L. L. Halitose: aspectos clínicos. **Rev. Bras. Med.**, São Paulo, v. 53, n. 4, p. 282-288, abr. 1996.

KAZOR, C. E. et al. Diversity of bacterial populations on the tongue dorsa of patients with halitosis and healthy patients. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v. 41, n. 2, p. 558-563, Feb. 2003.

KOSLOVSKY, A. et al. Correlation between the BANA test and oral malodor parameters. **J. Dent. Res.**, Washington, v. 73, n. 5, p. 1036-1042, May 1994.

LEUNG, W. K. et al. Oral colonization of aerobic and facultatively anaerobic gram-negative rods and cocci in irradiated, dentate, xerostomic individuals. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v. 16, n. 1, p. 1-9, Feb. 2001.

LOESCHE, W. J. Ecologia da flora oral. In: NISENGARD, R. J.; NEWMAN, M. G. **Microbiologia oral e imunologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1997, cap. 25, p. 264-274.

MAGER, D. L. et al. Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 30, n. 7, p. 644-654, July 2003.

MURRAY, P. R. et al. Enterobacteriaceae. In: _____. **Microbiologia Médica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2002, cap. 29, p. 250.

_____. Pseudomonas e microrganismos relacionados. In: _____. **Microbiologia Médica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2002, cap. 32, p. 280.

NATTO, S. B. Tobacco smoking and periodontal health in a Saudi Arabian populations. **Swed Dent. J. Suppl.**, Chicago, v.76, n.11, p. 1919-1926, Nov. 2005.

ÖHMAN, S, C. et al. The prevalence of *Staphylococcus aureus*, Enterobacteriaceae species, and *Candida* species and their relation to oral mucosal lesions in a group of 79-year-olds in Göteborg. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v. 53, n. 1, p. 49-54, Feb. 1995.

POATE, T.; WANAKULASURIYA S. Effective management of smoking in oral dysplasia clinic in London. **Oral Dis.**, Oxford, v. 12, n. 1, p. 22-26, Jan. 2006.

QUIRYNEN, M. et al. Impact of tongue cleansers on microbial load and taste. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 31, n. 7, p. 506-510, June. 2004.

ROLDÁN, S.; HERRERA, D.; SANZ, M. Biofilms and the tongue: therapeutical approaches for the control of halitosis. **Clin. Oral Invest.**, Berlim, v. 7, n. 4, p. 189-197, Dec. 2003.

ROSENBERG, M. Clinical assessment of bad breath: current concepts. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v. 4, n. 127, p. 475-482, Apr. 1996.

ROSEMBERG, M. MCCULLOCH, C. A. Measurement of oral malodor; current methods and future prospects. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 63, n. 9, p. 776-782, Sept. 1992.

SANTOS, S. S. F.; JORGE, A. O. C. Presença de Enterobacteriaceae e Pseudomonaceae na cavidade bucal humana. **Rev. Odontol. UNESP**, São José dos Campos, v. 27, n. 2, p. 473-484, fev. 1998.

SANTOS, S. S. F. et al. Prevalência e sensibilidade in vitro de enterobacteriaceae e pseudomonas isoladas da cavidade bucal e bolsa periodontal de pacientes com periodontite crônica. **PGRO: Pós-Grad. Rev. Odontol.** São José dos Campos, São José dos Campos, v. 5, n. 2, p. 74-83, maio/ago. 2002.

SEDGLEY, C.M.; SAMARANAYAKE, L. P. Oral and oropharyngeal prevalence of Enterobacteriaceae in humans: a review. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v. 23, n. 3, p. 104-113, Mar. 1994.

_____. The oral prevalence of aerobic and facultatively anaerobic gram-negative rods and yeasts in Hong kong chinese. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v. 39, n. 6, p. 459-466, June 1994.

SLOTS, J.; FEIK, D.; RAMS, T. E. Prevalence and antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceaea and *Acinetobacter* in human periodontitis. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v. 5, n. 3, p. 149-54, June 1990.

SOLIS-GAFFAR, M. C.; FISCHER, T. J.; GAFFAR, A. Instrumental evaluation of odor produced by specific oral microorganisms. **J. Soc. Cosmet. Chem.**, New York, v. 30, n. 3, p. 241-247, July/Ago. 1979.

SPIELMAN, A. I.; BIVONA, P.; RIFKIN, B. R. Halitosis a common oral problem. **N. Y. State Dent. J.**, New York, v. 63, n. 10, p. 36-42, Dec. 1996.

SUMI, Y. et al. Colonization of denture plaque by respiratory pathogens in dependent elderly. **Gerodontology**, Mount Desert - US, v. 19, n. 1, p. 25-29, July 2002.

SUMI, Y. et al. High correlation between the bacterial species in denture plaque and pharyngeal microflora. **Gerodontology**, Mount Desert - US, v. 20, n. 2, p. 84-87, Dec. 2003.

TANAKA, M. et al. Contribution of periodontal pathogens on tongue dorsa analyzed with real-time PCR to oral malodor. **Microbes Infect.**, Paris, v. 6, n. 12, p. 1078-1083, Oct. 2004.

TANNER, A. C. R. et al. The microbiota of young children from tooth and tongue samples, **J. Dent. Res.**, Washington, v. 81, n. 1, p. 53-57, Jan. 2002.

TARZIA, O. Halitose etiologia e tratamento. **Clin. Odontol. Integrada Biodonto**, Bauru, v. 1, n. 2, p.1-70, maio/jun. 2004.

TARZIA, O. Orientando o paciente: primeira parte. **Assoc. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v. 53, n. 1, p. 57, jan/fev. 1999.

TONZETICH, J. Production and origin of oral malodor: a review of mechanisms and methods of analysis. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 48, n. 1, p. 13-20, Jan. 1977.

TRIOLA, M. F. Estatística não paramétrica. In: _____. **Introdução à estatística**. São Paulo: LTC, 1999. cap. 13, p. 316-343.

WALKER, T. S. Enterobacteriaceae e bactérias associadas *Campylobacter*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Helicobacter*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Pantoea*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* e *Yersinia*. In: _____. **Microbiologia**. Rio de Janeiro: Revinter, 2002. cap. 7, p. 152-172.

_____. *Pseudomonadaceae burkholderia, Pseudomonas e Stenotrophomonas xanthomonas*. In: _____. **Microbiologia**. Rio de Janeiro: Revinter, 2002. cap. 8, p. 173-181.

WENDELL, K. J.; STEIN, S. H. Regulation of cytokine production in human gingival fibroblasts following treatment with nicotine and lipopolysaccharide. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 72, n. 8, p. 1038-1044, Aug. 2001.

YAEGAKI, K.; SANADA, K. Biochemical and clinical factors influencing oral malodor in periodontal patients. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 63, n. 9, p. 783-789, Sept. 1992.

ZAMBON, J. J.; NISENGARD, R. J. Pseudomonaceae. In: NISENGARD, R. J.; NEWMAN, M. G. **Microbiologia oral e imunologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1997. cap. 25, p. 264-274.

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre esclarecido

TÍTULO: Presença de Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae na região posterior do dorso da língua de indivíduos adultos.

PESQUISADORES: Silvana Soléo Ferreira dos Santos

Simone Conti

1 INTRODUÇÃO: As informações a seguir descreverão esta pesquisa e o papel que você terá como participante. Os pesquisadores responsáveis pelo estudo responderão a todas as perguntas que você possa ter sobre o estudo. Por favor, leia-o cuidadosamente e não tenha dúvida em perguntar qualquer coisa sobre as informações abaixo.

2 PROPÓSITO: Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa cujo objetivo é coletar um pouco da saliva que fica sobre a língua na região posterior, para saber se existe ou não determinados microrganismos.

3 DESCRIÇÃO DO ESTUDO: Serão selecionados voluntários com idade entre 30 e 50 anos.

4 DESCONFORTO, RISCOS E BENEFÍCIOS ESPERADOS: As amostras serão coletadas da região posterior da língua, por meio de uma pequena alça plástica. O exame clínico ao qual o paciente será submetido não causa trauma, não acarreta dor ou qualquer risco ou custo ao voluntário. Por outro lado, oferece possibilidade de gerar conhecimento para a compreensão sobre a microbiota da língua.

5 COMPENSAÇÃO: Será oferecido aos voluntários da pesquisa orientação sobre a limpeza mecânica da língua.

6 CONFIDENCIALIDADE DOS REGISTROS: Concordando em participar desta pesquisa, você permite acesso aos dados obtidos durante o estudo aos pesquisadores nele envolvidos. Os resultados deste projeto de pesquisa poderão ser apresentados em congressos ou em publicações, porém sua identidade não será divulgada.

7 DIREITO DE PARTICIPAR, RECUSAR OU SAIR: Ao participar você concorda em cooperar com os procedimentos que serão executados e que foram descritos acima, não abrindo mão dos seus direitos legais ao assinar o termo de consentimento informado. Sua participação neste estudo é voluntária e você poderá recusar-se a

participar ou interromper sua participação a qualquer momento, sem penalidade ou perda dos benefícios aos quais tem direito.

8 CONTATOS: Se ainda houver qualquer dúvida sobre o estudo, você poderá receber mais esclarecimentos falando com:

Prof^a. Dr^a. Silvana Soléo Ferreira dos Santos

Mestranda: Simone Conti

Departamento de Odontologia – UNITAU

Telefone: (12) 3625 4150 ou 3625 4140

Consentimento do colaborador da pesquisa

Eu, _____

Nascido em ___/___/___ na cidade de _____

Com R.G. nº _____ residente na _____

Desejo participar da pesquisa sobre “Presença de Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae na região posterior do dorso da língua de indivíduos adultos” e autorizo a liberação dos dados obtidos neste estudo aos pesquisadores, assim como sua publicação em revistas científicas especializadas e apresentação em Congresso e Jornadas Científicas. Declaro que minha participação é voluntária e que fui devidamente esclarecido sobre os objetivos deste estudo. Confirmo também que recebi cópia deste termo de consentimento.

Assinatura

Data: ___/___/___

APÊNDICE B – Questionário aplicado aos participantes da pesquisa

Horário de coleta: _____ nº. _____

Nome: _____

Idade: _____ Sexo: _____

Endereço: _____

Bairro: _____ Cidade _____

Telefone: _____

HISTÓRIA MÉDICA

1) Fez uso de antibiótico nos últimos seis meses? () não () sim

Qual? _____ Quanto tempo? _____

2) Faz uso de colutório bucal? () não () sim

Qual? _____ Diário () Semanal () Outro ()

3) Fumante? () não () sim

Quantos cigarros por dia? _____

4) Horário da última higiene bucal: _____

5) Tem o hábito de limpar a língua? () não () sim

Com o que? _____ Quantas vezes ao dia? _____

HISTÓRIA ODONTOLÓGICA

1) Tem mau hálito? () não () sim () às vezes

EXAME CLÍNICO

1) Presença de saburra lingual?

Área= 0(), 1(), 2(), 3()

Espessura= 0(), 1(), 2(), 3()

2) Peças protéticas:

Prótese total ()

Prótese parcial removível ()

Prótese fixa ()

Assinatura: _____

R.G.: _____

ANEXO A – Declaração do comitê de ética em pesquisa