

Daniela Pereira Lima

*Ocorrência do Complexo Vermelho de Socransky,
Diabete Mellitus e Hipertensão em Gestantes com
e sem Doença Periodontal.*

Araçatuba

2009

Daniela Pereira Lima

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

Daniela Pereira Lima

*Ocorrência do Complexo Vermelho de Socransky,
Diabete Mellitus e Hipertensão em Gestantes com
e sem Doença Periodontal.*

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Cláudia Okamoto

Araçatuba

2009

Daniela Pereira Lima

Dados Curriculares

Nascimento: 22/10/1980 – São Paulo /SP

Filiação: Carlos Lucírio de Lima

Maria de Fátima Pereira Lima

1998/2001: Curso de Graduação em Odontologia pela Universidade
Paulista – UNIP, Araçatuba

2007/2009: Curso de Pós Graduação em Odontologia Preventiva e Social,
nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araçatuba-
UNESP

*“Bom mesmo é ir à luta com
determinação, abraçar a vida com
paixão, perder com classe e vencer com
ousadia, porque o mundo pertence a
quem se atreve e a vida é muito para ser
insignificante”.*

Charles Chaplin

Dedicatória



***“A mais importante de todas as obras
é o exemplo da própria vida”
Helena Blavatsk***

Dedicatória

Dedico esse trabalho:

Àqueles que nunca mediram esforços para realizarem meus sonhos, sempre estiveram ao meu lado, são inspiração para tudo que faço e a razão da minha existência:

A **Deus** porque sei que em todos os dias da minha caminhada está ao meu lado me ajudando a seguir em frente e iluminado meus caminhos . Obrigada Deus, pois conheces o desejo do meu coração! “Porque dele e por ele, e para ele, são todas as coisas glória, pois a ele eternamente. Amém!” Romanos 11:36.

Minha mãe **Fátima**, melhor amiga, meu porto seguro, obrigada por estar sempre comigo, pelo colo, carinho e amor incondicional...

Meu pai **Carlos**, minha força, meu exemplo, obrigada pelo apoio, incentivo, carinho e por sempre acreditar em mim...

Meu marido **Hélio**, companheiro, amigo, obrigada por incentivar meus sonhos e pelo amor que me dedicas...

Minha filha **Isabela**, presente de Deus em minha vida, agradeço anjinho por existir, minha vida não seria a mesma sem você, obrigada por sempre ter um sorriso e um abraço me esperando...

Obrigada, por encherem minha vida de alegria, esta conquista é nossa!

Daniela Pereira Lima

Agradecimentos Especiais



*“Somos todos anjos de uma asa só e somente
abraçados podemos voar”*

Luciano de Crescenz

Agradecimentos Especiais

Meu querido irmão **Rafael**, homem de caráter, obrigada pelo incentivo e carinho.

Minha querida avó **Armindá**, que hoje já não está mais conosco, por ter me ajudado com a Isabela para que eu pudesse estudar e concretizar esse sonho. Obrigada Vó, por ter compreendido minhas escolhas e ter sempre torcido por mim.

As minhas tias **Shirley e Hermelinda**, agradeço o incentivo e carinho sincero que têm por mim.

A toda **família Pereira**: primos e tios que amo muito, souberam entender o caminho que escolhi e estiveram sempre ao meu lado.

À minha querida orientadora **Prof.^a Ass. Dr.^a Ana Claudia Okamoto**, não há palavras para descrever minha gratidão, não és para mim só uma brilhante orientadora, mas um exemplo de pesquisadora, professora e, sobretudo, ser humano.

A força que tens é infinita. Obrigada por acreditar que sou capaz!

À **Prof.^a Titular Nemre Adas Saliba**, pelo pioneirismo e luta ao constituir o Programa de Pós- Graduação em Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP, obrigada pela oportunidade. Foi uma honra ter sido aceita no programa. Obrigada, por me proporcionar uma formação privilegiada!

À **Prof.^a Adj. Cléa Adas Saliba Garbin**, por um dia ter acreditado em mim, pela paciência, disposição em ensinar, dedicação e oportunidades oferecidas. Serei eternamente grata!

À **Prof.^a Adj. Suzely Adas Saliba Moimaz**, um exemplo de líder, pesquisadora, obrigada por ter me preparado tão bem e me proporcionado a capacitação de ser mestra.

Ao **Prof. Adj. Elerson Gaetti Jardim Júnior** e **Prof.^a Ass. Dr.^a. Dóris Hissako Sumida**, pela grande contribuição nesse trabalho e disponibilidade sempre que precisei. Sem a ajuda de vocês seria impossível a realização desta pesquisa. Muito Obrigada!

Ao **Prof. Titular Orlando Saliba**, , sua disponibilidade e paciência em ensinar é exemplar, sua ajuda foi imprescindível para a realização da estatística. Muito Obrigada!

A todos estagiários do Laboratório de Microbiologia e Imunologia, em especial à **Lívia Buzati Meca**, por toda ajuda no processamento das amostras. Vocês foram fundamentais!

Agradecimentos



“Quanto mais se conhece, mais se aprecia”

Leonardo da Vinci

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP, nas pessoas do senhor Diretor **Prof. Titular Pedro Felício Estrada Bernabé** e Vice-Diretora **Prof.^a Adj. Ana Maria Pires Soubhia**, por proporcionar todo o apoio institucional para a realização desta pesquisa.

Ao coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, **Prof. Adj. Artênio José Ispér Garbin** e à vice-coordenadora, **Prof.^a Adj. Suzely Adas Saliba Moimaz**, pelo excelente trabalho desempenhado, fruto de amor e dedicação ao referido programa.

Aos professores do Departamento de Odontologia Infantil e Social da Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP, **Prof.^a Titular Nemre Adas Saliba**, **Prof. Titular Orlando Saliba**, **Prof.^a Adj. Cléa Adas Saliba Garbin**, **Prof.^a Adj. Suzely Adas Saliba Moimaz**, **Prof. Adj. Artênio José Ispér Garbin**, **Prof. Dr. Renato Moreira Arcieri**, **Prof.^a Ass. Dr.^a Dóris Hissako Sumida**, **Prof.^a Ass. Dr.^a Ana Cláudia Okamoto**, **Prof.^a Adj. Maria Lúcia Marçal Mazza Sundfeld** pela colaboração e amizade. Sempre receptivos, o auxílio em meu crescimento pessoal e profissional, minha eterna gratidão.

Aos meus colegas da turma do Curso de Mestrado em Odontologia Preventiva e Social, **Najara**, **Diego**, **Kléryson** e **Márcio** pelo carinho e grande amizade que construímos nesses anos. Nosso convívio foi maravilhoso!

Aos colegas do Programa de Pós Graduação em Odontologia Preventiva e Social que juntos caminhamos: **Lívia Zina**, **Patrícia**, **Cristina**, **Nelly**, **Adriana**, **Ana Paula**, **Daniela**, **Karina**, **Sérgio**, **Marcos**, **Lívia Bino**, **Fabiano**, **Luciana**, **Rosana**, **Fernando Chiba**, **Tati**, **Thaís** e **Luiz Fernando**. Muito Obrigada pelo incentivo e bons momentos compartilhados.

Aos funcionários do Departamento de Odontologia Infantil e Social da Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP, **Neusa Martins Rovina Antunes**, **Nilton César**

Souza, Valderéz Freitas Rosa e Zilda que com muito amor e dedicação mantêm esse lugar tão especial para que possamos realizar nosso trabalho.

A todos os funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, **Ana Cláudia Grieger Manzatti, Cláudio Hideo Matsumoto, Cláudio Marciel Júnior, Fernando Fukunishi, Ivone Rosa de Lima Munhoz, Izamar da Silva Freitas, Luzia Anderlini e Maria Cláudia de Castro Benez**, pela atenção e eficiência com que sempre me atenderam.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação de Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP, **Diogo Reatto, Marina Midori Sakamoto Hawagoe e Valéria Queiros Marcondes Zagatto**, pelo excelente trabalho, atenção dispensada, grande disposição em atender e ótimo relacionamento.

À **Capes** pela concessão de Bolsa de Estudo.

E aos que de alguma forma contribuíram e me auxiliaram na realização dessa dissertação.

Minha sincera gratidão, hoje e sempre!

Resumo Geral



*“A educação é aquilo que permanece depois que
tudo o que aprendemos foi esquecido”*

Burrhus Frederic Skinner

Lima DP. Ocorrência do complexo vermelho de Socransky, diabete mellitus e hipertensão em gestantes com e sem doença periodontal. [dissertação]. Araçatuba: UNESP-Universidade Estadual Paulista; 2009.

Resumo Geral

A utilização da saliva na avaliação de condições fisiológicas e patológicas em seres humanos tem muitas vantagens como coleta simples, fácil, não invasiva e de baixo custo de armazenamento. Tem sido muito empregada no diagnóstico da doença periodontal, bem como de sua evolução e monitoramento. Durante a gestação, algumas mulheres podem desenvolver a diabete gestacional, sendo este um fator modulador da doença periodontal. A colonização e implantação do complexo vermelho de Socransky e de *P. intermedia* estão intimamente associados a diversas modalidades de doença periodontal podendo variar da gengivite até a doença periodontal crônica. Objetivou-se avaliar a pressão arterial e glicemia capilar em gestantes com e sem doença periodontal, relacionar alterações de pressão arterial e glicemia com as condições periodontais, bem como verificar a presença de bactérias do complexo vermelho de Socransky e de *P. intermedia* em gestantes com e sem doença periodontal, por meio da PCR. Participaram deste estudo caso-controle 86 gestantes com idade gestacional entre o 4º e o 7º mês, submetidas ao atendimento pré-natal em UBS. Foi avaliada a condição periodontal utilizando-se o índice IPC, proposto pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para levantamentos epidemiológicos de saúde bucal; para o exame de verificação dos níveis glicêmicos no sangue foi utilizado um monitor de glicemia (Accu-Chek Advantage II, Roche, USA), para a aferição da pressão arterial utilizou-se esfigmomanômetro e para a coleta de saliva foram utilizados cones de papel absorventes esterilizados (Nº 30, Endopoints Ind. Com. Ltda, RJ.). A extração de DNA foi realizada pelo o kit Easy-DNA (Invitrogen, SP) e a presença das bactérias foi detectada por PCR com primers e sondas específicas para cada microrganismo. O teste Exato de Fisher foi utilizado para verificar associações entre as variáveis. Entre as gestantes examinadas 41,8% apresentaram pelo menos um sinal de doença periodontal, a hiperglicemia foi detectada em 51,2 %, não foram encontrados valores de pressão arterial superiores ao considerado normal em nenhuma gestante examinada, não foi encontrada associação significativa entre a presença de doença periodontal, a alteração de glicemia. A ocorrência de *P. gingivalis* foi estatisticamente significativa entre gestantes com saúde periodontal e periodontite

($p= 0,0022$) e entre gestantes com gengivite e periodontite ($p= 0,0223$). Em relação a *T. denticola*, houve associação estatística entre as gestantes com periodonto saudável e periodontite ($p= 0,0078$). No que se refere a *T. forsythia*, associação significativa entre as gestantes com periodonto saudável e com periodontite ($p= 0,0013$). Em relação a *P. intermedia*, houve diferença significativa entre as gestantes com periodonto sadio e periodontite ($p= 0,0022$), bem como entre as gestantes com gengivite e periodontite ($p= 0,0049$). O complexo vermelho de Socransky estava presente em 33,3% das gestantes com periodontite, em 3,7% das gestantes com gengivite e não estava presente entre as gestantes com periodonto sadio.

Palavras-Chaves: Gestantes. Diabete Mellitus. Periodontite. Gengivite. Hipertensão.

Abstract



*“A vida só pode ser compreendida olhando-se para trás;
mas só pode ser vivida olhando-se para a frente.”*

Soren Kierkegaard

Lima DP. Occurrence of the Socransky red complex, diabetes mellitus and hypertension in pregnant women with and without periodontal disease [dissertation]. Araçatuba: UNESP-São Paulo State University; 2009.

Abstract

Saliva has been an important resource for the evaluation of physiological and pathological conditions in humans. Its utilization has several advantages, including simple and easy collection, besides being non invasive and having a low storage cost. Saliva utilization as a diagnosis mean for periodontal disease, as well as its evolution and management, has become more studied. During pregnancy, some women can develop gestational diabetes, which is a modulating factor of periodontal disease. The colonization and implantation of the Socransky red complex and *Prevotella intermedia* are intimately associated to several modalities of periodontal disease, varying from gingivitis to chronic periodontal disease. This study aimed to evaluate the arterial pressure and capillary glycemia of pregnant women with and without periodontal disease, and to relate arterial pressure and glycemia alterations with periodontal conditions, as well as to verify the presence of bacteria from the Socransky red complex and *P. intermedia* in pregnant women with and without periodontal disease, by PCR. This case-control study included 86 pregnant women with gestational age between the 4th and the 7th months, submitted to pre-natal attendance in Health Basic Units (HBU). Periodontal condition was assessed through the CPI (Community Periodontal Index), proposed by the World Health Organization (WHO) for epidemiologic analysis of oral health; for the verification of blood glyceimic levels it was used a glycemia monitor (Accu-Chek Advantage II, Roche, USA); a sphygmomanometer was used to check the arterial pressure; and, for the saliva gathering, sterilized absorbent paper cones were used (N^o 30, Endopoints Ind. Com. Ltda., RJ., Brazil). DNA extraction was accomplished through the Easy-DNA Kit test (Invitrogen, SP, Brazil) and the presence of bacteria was detected by PCR with primers and specific probes for each microorganism. Fisher Exact test was utilized in order to verify the associations among the variables. Among the examined pregnant women, 41.8% presented at least one symptom of periodontal disease; hyperglycemia was found in 51.2 % women; abnormal arterial pressure values (higher than the normal values) were not found in any woman; moreover, a significant association between periodontal disease and glycemia alteration was not found. The occurrence of *P. gingivalis* was statistically significant among

pregnant women with periodontal health and periodontitis ($p= 0,0022$) and among pregnant women with gingivitis and periodontitis ($p=0,0223$). Concerning *T. denticola*, we found a statistic association among pregnant women with health periodontium and with periodontitis ($p= 0,0078$). Concerning *T. forsythia*, we found a significant association among pregnant women with health periodontium and with periodontitis ($p= 0,0013$). Concerning *P. intermedia*, we found a highly significant difference among pregnant women with health periodontium and periodontitis ($p= 0,0022$), and among pregnant women with gingivitis and periodontitis ($p= 0,0049$). Socransky red complex was present in 33.3% pregnant women with periodontitis, 3.7% pregnant women with gingivitis and it was not present among pregnant women with health periodontium.

Keywords: Pregnant Women. Diabetes Mellitus. Periodontitis. Gingivitis. Hypertension.

Lista de gráficos

Capítulo 3

Gráfico 1. Prevalência da alteração glicêmica entre as gestantes dos 3 grupos de condição periodontal (saudável, gengivite e periodontite). Araçatuba/Birigui, SP, 2009. 73

Lista de tabelas

Capítulo 2

Tabela 1. Distribuição numérica e percentual das gestantes, segundo a presença doença periodontal. Araçatuba/Birigui, SP, 2008. 54

Tabela 2. Distribuição numérica e percentual das gestantes, segundo a presença de alteração de glicemia no momento do exame. Araçatuba/Birigui, SP, 2008. 54

Tabela 3. Distribuição das 86 gestantes, segundo o status de glicemia alterada e a presença ou ausência de doença periodontal. Araçatuba/Birigui, SP, 2008. 55

Capítulo 3

Tabela 1. Iniciadores específicos utilizados nos ensaios de PCR convencional. 69

Tabela 2. Distribuição numérica e percentual das gestantes, segundo a presença doença periodontal. Araçatuba/Birigui, SP, 2009. 70

Tabela 3. Valores de glicemia e pressão arterial (mm/Hg) e ocorrência de *P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia* e *P. intermédia*, em gestantes com as diferentes condições periodontais. Araçatuba/Birigui, SP, 2009. 71

Tabela 4. Ocorrência de: *P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, e complexo vermelho de Socranky em gestantes com e sem doença periodontal, Araçatuba/Birigui, 2009. 75

Lista de abreviaturas

CCD – Centro para Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos da América

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana

AIDS - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

DNA - ácido desoxirribonucleico

VHB – Hepatite B

FOICRUZ - Fundação Oswaldo Cruz

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

FDA – Food and Drug Administration

NIDCR – The National Institute of Dental and Craniofacial Research

SUS – Sistema Único de Saúde

PAISM – Programa de Atenção Integral à Saúde da Mulher

GTDG – Grupo de Trabalho da Diabetes Gestacional

UBS – Unidades Básicas de Saúde

IPC – Índice Periodontal Comunitário

OMS – Organização Mundial de Saúde

WHO – World Health Organization

Sumário

Introdução Geral	24
Capítulo 1 - Saliva o Reflexo do Corpo.	
2.1 Resumo	28
2.2 Abstract	29
2.3 Introdução	30
2.4 Revisão de Literatura	32
2.5 Discussão	40
2.6 Conclusões	41
2.7 Referência	42
Capítulo 2 - Doença periodontal, diabete mellitus e hipertensão em gestantes usuárias do Sistema Único de Saúde (SUS).	
3.1 Resumo	48
3.2 Abstract	49
4.3 Introdução	50
3.4 Material e Métodos	52
3.5 Resultados	54
3.6 Discussão	56
3.7 Conclusão	58
3.8 Referências	59
Capítulo 3 - Ocorrência do complexo vermelho de Socransky em gestantes com e sem doença periodontal.	
4.1 Resumo	62
4.2 Abstract	63
4.3 Introdução	64
4.4 Material e Métodos	67
4.5 Resultados	70
4.6 Discussão	76
4.7 Conclusões	81
4.8 Referências	82
Anexos	88

Introdução geral



*“Sabedoria é vencer a si mesmo;
ignorância é ser vencido por si mesmo”*

Sócrates

Introdução Geral

A análise salivar vem se tornando um importante recurso para avaliar as implicações fisiológicas e patológicas de um indivíduo, sendo um instrumento útil no diagnóstico de doenças, devido principalmente à sua origem, composição, funções e interação com os sistemas orgânicos. Além disso, apresenta um método simples e não invasivo de coleta, um armazenamento fácil e de baixo custo se comparada à coleta de sangue. Aliada à adição de técnicas modernas e aparelhos de instrumentação química observa-se a ascensão do seu uso para investigações laboratoriais com aplicabilidade em finalidades básicas e clínicas das áreas médica e odontológica.

O valor dessa secreção como meio de diagnóstico de doenças bucais e sistêmicas tem sido objeto de estudo de diversos pesquisadores, com o intuito de acrescentar uma possibilidade de exame complementar. Assim, tem sido utilizada no diagnóstico de diversas enfermidades como: doenças infecciosas, neoplásicas malignas, cardiovasculares, doenças auto-imunes, bem como no diagnóstico de drogas ilícitas, análise forense entre outros.

Estrógenos também podem ser verificados na saliva e a predição do parto prematuro realizado pela medida salivar do estradiol é um teste aprovado pela FDA (Food and Drug Administration). Alterações hormonais podem levar a distúrbios sistêmicos como a diabetes mellitus, e esta doença pode contribuir para o quadro de periodontite devido às mudanças vasculares, disfunção de neutrófilos, síntese de colágenos e pela predisposição genética, além de mudanças na microbiota gengival, favorecendo assim a colonização de bactérias Gram-negativas como *Prevotella* e *Porphyromonas* que na gestação estão relacionadas a partos prematuros.

Durante a gestação as variações hormonais podem acentuar o quadro clínico da inflamação gengival, alterar a resposta tecidual ao biofilme ou influenciar a composição do mesmo. Tais variações podem estimular a síntese de citocinas inflamatórias, como as prostaglandinas, que podem dar origem, agravar ou dificultar o controle das periodontopatias e de algumas doenças sistêmicas, o que pode complicar o período gestacional.

Nesse sentido, vários estudos foram realizados a fim de verificar associação entre a doença periodontal com pré-eclâmpsia, diabetes mellitus gestacional, partos prematuros, bebês de baixo peso ao nascer, dentre outros.

Com o intuito de elucidar a patogênese desses processos infecciosos, Socrasky e colaboradores em 1998 descreveram seis complexos microbianos que se instalam no biofilme subgingival de indivíduos adultos. Os complexos amarelo, azul, verde e violeta constituindo a base da pirâmide do biofilme: são os colonizadores iniciais da superfície dental e não se relacionam com a doença periodontal sendo muitos deles considerados até benéficos. Esses complexos basais fornecem receptores e criam condições ecológicas para a implantação de bactérias do complexo laranja, implicadas com a patogênese das doenças periodontais e entre essas bactérias *Prevotella intermedia* está presente. O complexo laranja precede e cria condições para a implantação do complexo vermelho e este é formado pelas espécies: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia*, aceitas como agentes etiológicos da periodontite crônica, além disso, esses microrganismos estão relacionados com o aumento de profundidade de bolsa e com a presença de sangramento à sondagem.

No Brasil, a disseminação, de forma mais ampla, do programa de atenção pré-natal ocorreu com a implantação do Programa de Atenção Integral à Saúde da Mulher (PAISM), em meados da última década de 80. Desde esse período, têm ocorrido mudanças significativas quanto ao aumento da cobertura e da média do número de consultas, bem como quanto ao início mais precoce do pré-natal. Pensando em melhorar ainda mais a atenção à mulher o Ministério da Saúde criou as Diretrizes Básicas de Atendimento Pré-Natal na rede de atenção primária à Saúde, e entre as ações desenvolvidas durante o pré-natal está o atendimento odontológico.

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a associação entre doença periodontal, diabetes mellitus e hipertensão arterial em gestantes usuárias do Sistema Único de Saúde (SUS) que realizaram pré-natal nos Municípios de Araçatuba-SP e Birigui-SP, bem como verificar a ocorrência do complexo vermelho de Socransky e de *Prevotella intermedia* por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) e suas possíveis associações com doença periodontal, pressão arterial e diabetes mellitus.

A dissertação foi dividida em três capítulos, sendo:

1. Saliva: O Reflexo do Corpo.
2. Doença periodontal, diabetes mellitus e hipertensão em gestantes usuárias do Sistema Único de Saúde (SUS).

3. Ocorrência do complexo vermelho de Socransky em gestantes com e sem doença periodontal.

Capítulo 1



***"Há homens que lutam um dia e são bons.
Há outros que lutam um ano e são melhores.
Há os que lutam muitos anos e são muito bons.
Porém, há os que lutam toda a vida.
Esses são os imprescindíveis."
Bertolt Brecht.***

Saliva: O reflexo do corpo

Saliva: reflection of the body.

2.1 Resumo

A saliva tem se tornado um importante recurso para avaliar condições fisiológicas e patológicas em humanos. O uso de saliva tem muitas vantagens, incluindo ser um método de coleta simples, fácil, não invasivo e de baixo custo de armazenagem. Com a adição de técnicas modernas e equipamentos de instrumentação químicos, houve um aumento no seu uso para investigações laboratoriais, aplicável para análises clínicas e básicas nas áreas médica e odontológica. O valor desses métodos de secreção para o diagnóstico de doenças sistêmicas e orais tem sido objeto de estudo de vários pesquisadores com o objetivo de aumentar seu uso com exames complementares.

Palavras-chaves: Saliva; Diagnóstico; Doenças bucais; Doenças sistêmicas.

2.2 Abstract

Saliva has become an important resource for evaluating physiological and pathological conditions in humans. The use of saliva has many advantages, including a simple and non-invasive method of collection and easy, low-cost storage. With the addition of modern techniques and chemical instrumentation equipment, there has been an increase in its use for laboratory investigations, applicable for basic and clinical analyses in medical and dental areas. The value of these secretion methods for oral and systemic disease diagnostics has been the object of study for several researchers with the aim to increase its use with complementary exams.

Keywords: Saliva; Diagnostic; Oral diseases; Systemic diseases.

2.3 Introdução

A saliva é uma secreção aquosa encontrada na boca, representada por uma complexa mistura de produtos secretórios (orgânicos e inorgânicos) de glândulas salivares e de outras substâncias provenientes da mucosa da orofaringe, vias áreas superiores, refluxo gastrintestinal, fluido do sulco gengival, restos alimentares e componentes derivados do sangue.^{1,2}

Caracteriza-se por ser um dos mais complexos, versáteis e importantes fluidos do corpo, suprimindo um largo espectro de necessidades fisiológicas. No trato digestório, a saliva tem importante papel na fisiologia esofágica, na digestão e na proteção das células gástricas. Na boca participa efetivamente na mastigação, fala, deglutição, sensibilidade gustativa, lubrificação dos tecidos, proteção das mucosas contra a invasão de diversas substâncias, atividade antibacteriana, antifúngica e antivirótica, maturação pós-eruptiva e regulação do balanço iônico na remineralização do esmalte, deposição da película adquirida e limitação da difusão de ácidos.^{3,4,5}

A água é o componente salivar em maior quantidade, representando 99% de sua constituição. Os componentes sólidos, moléculas inorgânicas e orgânicas, encontram-se dissolvidos no constituinte aquoso e varia amplamente de um indivíduo para outro e no mesmo indivíduo diversas vezes durante o dia. A parte inorgânica é composta por íons fracos e fortes sendo que os mais importantes são: Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca²⁺, HCO₃⁻, Mg²⁺, NH₃. Dentre os componentes orgânicos, destacam-se produtos de secreção corporal (uréia, ácido úrico e a creatinina); produtos de putrefação (putrecinas, cadaverinas; lipídeos como colesterol e ácidos graxos); e proteínas, sendo que mais de 400 tipos já foram identificadas. As mais relevantes são de origem glandular (α -amilase, histatinas, cistatinas, lactoferrinas, lisozimas, mucinas e PRPs) e derivadas do plasma (albuminas, IgAs, transferinas).⁶

A análise salivar vem se tornando um importante recurso para avaliar as condições com implicações fisiológicas e patológicas. Sendo um instrumento útil no diagnóstico de doenças, principalmente a sua origem, composição, funções e interação com os sistemas orgânicos. Além do fato de possuir um método simples e não invasivo de coleta, um armazenamento fácil e de baixo custo se comparada à coleta de sangue. Aliado a adição de técnicas modernas e aparelhos de instrumentação química observam-se, atualmente, a ascensão do seu uso para investigações laboratoriais com aplicabilidade em finalidades básicas e clínicas das áreas médica e odontológica. O valor dessa secreção como meio de diagnóstico de doenças orais e sistêmicas tem sido

objeto de estudo de diversos pesquisadores com o intuito de acrescentar uma possibilidade de exame complementar.^{7, 8, 9, 10}

A apreciação crescente da saliva como um espelho que possa refletir as características internas normais e os estados de doença de um indivíduo é ainda recente⁷. A possibilidade da utilização desse importante fluido corporal como um espécime para a realização de diagnósticos deve-se a permuta existente com substâncias que compõem o líquido plasmático. Tal mecanismo ocorre basicamente devido à existência de uma fina camada de células epiteliais separando os ductos salivares da circulação sistêmica fazendo com que as substâncias possam ser transferidas para a saliva através de transporte ativo, difusão pelos poros das membranas (ultrafiltração) ou por difusão passiva a favor de gradiente de concentração.¹¹

A habilidade de usá-la para monitorar o estado da saúde e da doença de um indivíduo é um objetivo altamente desejável para a promoção da saúde e a pesquisa de cuidado em saúde. Os recentes avanços científicos e tecnológicos estão produzindo melhoras continuadas em aspectos como a determinação dos componentes salivares, a obtenção de amostras comparativas e o aumento da especificidade e da sensibilidade dos procedimentos utilizados. Estes progressos apontam para uma nova era, em que o diagnóstico molecular na cavidade bucal terá grande importância.¹² Nesse sentido, o presente trabalho tem por objetivo discorrer sobre atuais estudos na literatura científica envolvendo a saliva como recurso auxiliar como ferramenta de diagnóstico.

2.4 Revisão de Literatura:

Doenças infecciosas

Os anticorpos, produzidos devido à resposta imunológica a infecções, são a base de muitos testes de diagnóstico em virologia. Estas moléculas estão presentes na saliva oriundas das glândulas salivares e do soro sanguíneo. Há a predominância de imunoglobulina A (IgA) secretora, derivada dos plasmócitos das glândulas salivares e representa o principal mecanismo de resposta imune específica da saliva.¹³ Por outro lado, as imunoglobulinas M (IgM) e G (IgG) são derivadas do soro através do fluido crevicular gengival. Os anticorpos que agem contra microrganismos e seus componentes podem ser detectados na saliva e assim representam um importante meio para diagnóstico de infecções virais agudas e infecções congênitas.¹⁴

A cárie dentária é uma doença infecciosa caracterizada pela destruição localizada dos tecidos dentais devido à ação das bactérias na qual atinge um grande número de indivíduos no mundo. Nas últimas décadas, um grande interesse tem sido colocado na utilização da saliva em testes bacteriológicos visando à indicação do risco de cárie.^{15, 16} Estes testes se baseiam na identificação e quantificação na saliva de espécies bacteriológicas de *Lactobacilos* (LB) e *Streptococcus mutans*, uma vez que estes desempenham um papel significativo no desenvolvimento dessa doença. Identificando os indivíduos mais susceptíveis a essa doença através de testes salivares, poderia fortalecer as medidas preventivas a fim de evitar que essa enfermidade se instale.¹⁷ Outra doença infecciosa da cavidade oral que pode ser diagnosticada por esta via é a candidose através da presença de *Candida* spp na saliva.¹⁸

A utilização da saliva como meio de diagnóstico da doença periodontal, bem como de sua evolução e monitoramento, tem sido cada vez mais estudado.¹⁹ Essa entidade patológica é causada por grupos microbianos específicos que envolvem os tecidos periodontais de suporte e proteção; tendo, como consequência, a degradação do colágeno tecidual, resultando na destruição progressiva do ligamento periodontal e osso alveolar.²⁰ Vários estudos já correlacionaram o aumento dos níveis de imunoglobulinas, com a presença de patógenos em pacientes com doença periodontal.^{21, 22} Além dessas moléculas, as análises compreendem: enzimas, constituintes do fluido gengival, componentes bacterianos e seus produtos, compostos voláteis e características fenotípicas. Todorovic e colaboradores²³ analisando a saliva de pacientes com periodontite, demonstraram aumentos significativos da atividade de enzimas (aspartato e alanina aminotransferase, lactato desidrogenase, creatina quinase, fosfatase ácida e

alcalina, γ -glutamyl transferase) associadas com injúria e morte celular tecidual, concluindo que a atividade das enzimas salivares, como marcadores bioquímicos, pode ser úteis no diagnóstico, prognóstico e evolução da doença periodontal. Pesquisa realizada por Takane e colaboradores²⁴ analisou a substância 8-OHdG relacionada com a destruição de tecidos periodontais em amostras de saliva de 78 pacientes com tal enfermidade, antes e após o tratamento. Conclui-se que esse marcador indicou a real condição periodontal dos sujeitos pesquisados.

Estudos que utilizam a saliva para o diagnóstico da AIDS utilizando anticorpos específicos como marcadores biológicos,^{25, 26} tem demonstrado sucesso e reprodutibilidade. Esse mecanismo possibilitou a realização do primeiro teste rápido para a detecção da infecção HIV-1, sendo utilizado até hoje em pesquisas, mostrando elevada sensibilidade e especificidade, 99,4% e 99,4%, respectivamente.²⁵ Em Cuba ano de 2007, comparou-se o diagnóstico de HIV-I, utilizando a saliva, em 125 pacientes soros positivos, com o exame sorológico. A sensibilidade e especificidade foram de 100% apontando essa ferramenta como alternativa na confirmação de anticorpos contra o HIV-I.²⁷

Neste sentido, o Centro para Controle e Prevenção de Doenças dos EUA (CCD) vem utilizando esse mesmo princípio para detecção do vírus da AIDS, disponibilizando o resultado em apenas 20 minutos. Tal situação tem sido extremamente importante uma vez que foi observada uma maior probabilidade dos indivíduos se submeterem ao exame devido ao fato do mesmo ser fácil e o resultado rápido. Desta forma, estudos mostraram que quando os testes convencionais são usados, o que exige normalmente que os pacientes retornem em duas semanas para buscar o resultado, aproximadamente um terço das pessoas testadas nunca retornam. No Brasil, a Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) aprovou recentemente o teste de detecção de HIV por via oral utilizando a saliva. O exame é capaz de detectar o HIV tipos 1 e 2 com 99% de precisão. Este teste será usado em centros de saúde, hospitais, clínicas e laboratórios. A rápida detecção também ajuda na prevenção da doença já que a maioria das pessoas que fica sabendo que estão infectadas pelo HIV toma cuidados para evitar a transmissão e obtém cuidados de saúde que podem prolongar a qualidade de sua vida.²⁸ Através de entrevista com usuários de drogas injetáveis, população especialmente vulnerável à infecção por HIV, verificou-se que os participantes são receptivos à possibilidade de realizar o teste rápido e consideraram este método como a melhor opção aos testes convencionais disponíveis. Adicionalmente, o fato do método não requerer coleta de

sangue via venosa foi considerado uma vantagem, especialmente para aqueles que têm veias lesadas em decorrência da injeção de droga, que referiram medo de agulha ou de retirar sangue da veia.²⁹

A hepatite, doença que causa inflamação no fígado, quando de etiologia viral, pode ser diagnóstica pela saliva. Van der Eijk e colaboradores,³⁰ elaboraram o primeiro relatório quantitativo preciso de medições de níveis de DNA do vírus da Hepatite B (VHB) na saliva e comparou com os níveis no sangue. E os resultados do estudo mostraram que a saliva é uma fonte de VHB. Em 2000, Zhevachevsky e colaboradores,³¹ já haviam realizado a mesma observação. Ao analisar o valor do diagnóstico, através da saliva, de pacientes com Hepatite B, comprovando seu papel como um elemento investigativo. Um método desenvolvido pelo Instituto de Pesquisa Brasileiro (FIOCRUZ–Fundação Oswaldo Cruz) identifica casos de Hepatite A mesmo em pessoas infectadas que se encontram no período de janela imunológica. Isso é possível graças à utilização da PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) em amostras de saliva. A eficiência do método foi comprovada demonstrando que o fluido oral apresenta maior viremia do que as amostras de sangue: a frequência de vírus nas amostras de saliva foi de 37%, enquanto a análise de soro indicou uma taxa de 32%. Esse teste mostrou-se muito importante com aplicabilidade para a detecção precoce do vírus e para controle de possíveis surtos.³²

O uso da saliva como meio para diagnóstico da infecção por *Helicobacter pylori* (espécie de bactéria que infecta o revestimento mucoso do estômago humano podendo causar úlceras pépticas, gastrite e cancro) parece ser uma possibilidade atrativa para estudos epidemiológicos da infecção em crianças quando se considera a natureza não invasiva do exame. É rotina se utilizar testes para identificação de *Helicobacter pylori* a partir de amostras de biópsias gástricas. Porém métodos invasivos demandam altos custos, além de serem mais difíceis. A tecnologia da PCR também nesse caso, provou ser altamente sensível e específico sendo considerado como escolha para detectar o DNA do *Helicobacter pylori* na boca utilizando os marcadores biológicos encontrados na saliva.³³

Amostras de saliva também podem ser utilizadas no diagnóstico laboratorial de rubéola através da detecção de imunoglobulina M específica (IgM). Oliveira e colaboradores,³⁴ em 2000, mostraram que anticorpos IgM, específicos contra rubéola, foram encontrados em 84,4% das amostras salivar e a especificidade do teste foi de 96%. Nokes e colaboradores,³⁵ analisaram amostras de sangue e saliva de 853

indivíduos de todas as faixas etárias de uma comunidade rural da Etiópia para detectar anticorpos específicos para rubéola e demonstraram uma sensibilidade e especificidade de 79% e 90%, respectivamente, das provas realizadas com saliva em comparação ao sangue. Estes resultados indicam que a utilização da saliva pode ser uma alternativa válida para obtenção de espécimes clínicos na investigação de casos recentes dessa doença, especialmente nas atividades de vigilância epidemiológica e controle da virose.

Dengue é uma doença virótica transmitida pelo mosquito *Aedes aegypti* e a infecção primária do vírus pode conduzir a uma doença febril autolimitante, e a infecção secundária pode causar complicações sérias como febre de hemorrágica ou síndrome de choque de dengue.³⁶ Níveis salivares de anticorpos específico para dengue (IgM e IgG) demonstraram sensibilidade de 92% e especificidade de 100% no diagnóstico de infecção primária e secundária, além de os níveis salivares de IgG serem úteis para a diferenciação entre a infecção primária e secundária.³⁷ Pesquisa realizada na Índia também comprovou a mesma situação. O estudo em 80 pacientes com suspeita de dengue e 25 controles mostrou uma boa correlação entre o diagnóstico utilizando a saliva e o exame convencional (através do uso de sangue venoso), concluindo que a saliva possui marcadores efetivos para o diagnóstico da dengue.³⁸ Analisando-se a cinética de três marcadores sorológicos (IgM, IgA e IgG), saliva e urina em amostras de pacientes adultos com infecção primária ou secundária de dengue, Vazquez et al. concluíram que a IgE específica poderia desempenhar um papel como um marcador sorológico em infecções secundárias.³⁹

Doenças neoplásicas malignas

O DNA humano tem-se revelado ser útil como marcador biológico e sua utilização tem sido estudada para a detecção de alguns tipos de neoplasias. A maioria dos espécimes utilizados para a investigação desse tipo de enfermidade é identificada através de biópsias invasivas e geralmente quando é possível a análise, o tumor já está instalado ou mesmo em processo metastático. Isto sugere uma necessidade imperativa em desenvolver ferramentas novas de diagnóstico que possibilitem a descoberta precoce. A identificação de marcadores moleculares em fluidos corporais que predizem o desenvolvimento de câncer em sua fase mais primária ou pré-cancerígena constituiria tal ferramenta.⁴⁰ E neste sentido, alterações mitocondriais no DNA humano têm sido descritas em tumores. Um relatório recente sugere que o carcinoma de cabeça e pescoço pode ser detectado utilizando DNA derivado da exfoliação de amostras de células da

mucosa oral colhidas na saliva.⁴¹ Franzmann e colaboradores⁴² avaliaram o gene CD44 solúvel na saliva como um potencial marcador molecular para câncer de cabeça e pescoço. Concluíram que o exame pode ser efetivo para detectar esse tipo de câncer em todos os estágios. Li e colaboradores,⁴⁰ divulgaram que tumores malignos localizados na região de cabeça e pescoço podem ser diagnosticados pela saliva com uma precisão de 91% sendo importante para o diagnóstico precoce aumentando a probabilidade de sucesso no tratamento. O diagnóstico de câncer de mama via amostra salivar já possui estudos avançados e Streckfus e colaboradores,⁴³ analisando amostras salivares de 30 pacientes, identificaram 49 proteínas que diferenciavam pacientes saudáveis daquele com diagnósticos de câncer de mama. A pesquisa demonstrou que a presença desse tipo de tumor produz uma mudança na quantidade e nas características das proteínas encontradas nas glândulas salivares. A análise das proteínas da saliva também permitiu distinguir se os tumores nos seios das pacientes eram ou não malignos.

Análise forense

A capacidade de detectar o DNA humano na saliva também tem sido útil na área forense. A saliva pode ser encontrada em várias situações dentro da cena de um crime como as marcas de mordidas deixadas em objetos ou em vítimas de crimes violentos, cigarros, selos postais, envelopes e outros objetos.⁴⁴ Foi demonstrado que a saliva pode ser potencialmente recuperada nessas ocorrências. Estudo realizado por Anzai-Kanto e colaboradores,⁴⁵ obteve a saliva de voluntários depositada na pele, recuperada para extração e tipagem do DNA por PCR, para a posterior avaliação de sua utilização e sua contribuição na odontologia legal. Os resultados indicaram que procedimentos padronizados utilizados para coleta e extração de DNA salivar podem ser utilizados como um método para recuperar DNA em casos forenses, desde que haja quantidades adequadas. Este estudo sugere que a análise de saliva depositada sobre a pele pode ser incorporada ao conjunto de provas de um inquérito criminal já que possui um grande poder discriminatório.

Investigação de drogas farmacêuticas e drogas ilícitas

A difusão de substâncias entre líquidos corporais e a saliva proporciona a utilização desta para monitorar níveis de medicamentos farmacêuticos (lítio, carbamacepina, barbitúricos, benzodiazepínicos, fenitoína, teofilina e ciclosporina drogas lícitas (álcool e tabaco) e ilícitas (maconha, cocaína e anfetaminas).⁴⁶

O lítio, medicamento utilizado como escolha para o tratamento dos transtornos de humor bipolar, com índices terapêuticos estreitos exige um monitoramento constante de suas concentrações no plasma para conseguir um melhor efeito terapêutico e reduzir efeitos adversos e seu monitoramento através da saliva seria uma alternativa.⁴⁷ Além de ser medido no soro, o lítio também pode ser determinado na saliva e nas hemácias. Nesses casos, a sua representação numérica é feita em relação à concentração encontrada no plasma ou no soro. A relação saliva-plasma de lítio varia de 3 a 13, onde as concentrações são bem mais elevadas na saliva.⁴⁸

No caso de drogas lícitas e ilícitas, sabe-se que o uso indiscriminado dessas substâncias em diversos segmentos da sociedade é um fenômeno mundial que tem causado grande preocupação por parte de especialistas. Diferenças quanto ao padrão de uso e ao tipo de droga podem ser observadas de país para país, entretanto, os impactos sobre a saúde pública, a segurança individual e a estrutura social são universalmente negativos. Drogas lícitas como o álcool e o tabaco, e ilícitas, como a maconha, a cocaína e as anfetaminas, são utilizadas por milhões de pessoas em todo o mundo, geralmente com graves conseqüências para o usuário e a sociedade. Fatalidades ocorrem não somente em virtude da intoxicação aguda ou crônica, mas também devido às alterações comportamentais e psicomotoras que essas substâncias provocam em usuários. Nos últimos anos, tem se observado um crescente interesse mundial do uso da saliva para monitorar o uso de drogas por motoristas. A vantagem do uso da saliva está no fato desse fluido oral ser facilmente coletado de forma não-invasiva e sob observação direta, o que dificulta a possibilidade de adulteração da amostra pelo doador. Alternativamente ao sangue, a detecção na saliva poderia indicar, em poucos minutos, se um motorista estaria dirigindo sob a influência de drogas.⁴⁹

Análise Hormonal

O conhecimento de que há hormônios esteróideais na saliva, e que podem ser medidos, está sendo usado por mais de 30 anos. Mas só recentemente a tecnologia alcançou essa informação, tornando possível a determinação exata dos níveis dos hormônios da saliva. As avaliações são realizadas em amostras de sangue, mas a coleta tem suas limitações. A maioria dos hormônios do sangue (aproximadamente 95%) é limitada às proteínas específicas que os carregam pela corrente sangüínea e podem ser consideradas as frações de armazenamento de hormônio. Os outros 5% representam hormônios livres - aqueles disponíveis para mover-se facilmente para seus órgãos alvo e

para cumprir suas funções. A saliva contém estes hormônios livres que podem facilmente ser medido para dar um retrato exato daqueles que estão prontamente disponíveis no tecido humano. Assim a detecção de alguns deles é importante, pois sua variação na saliva pode ser indicativa de progressão cancerígena ou suspeita de, por exemplo, a Síndrome de Cushing, enfermidade que resulta da hipersecreção contínua de cortisol endógeno, gerando clinicamente, fraqueza da musculatura proximal, osteoporose, equimoses espontâneas e hipocalcemia. Estrógenos também podem ser verificados na saliva e a predição do parto prematuro realizado pela medida salivar do estradiol é um teste aprovado pela FDA (Food and Drug Administration). O aumento desse hormônio também é indicativo de que a mulher encontra-se em período fértil e realizando um auto-teste com um dispositivo comercialmente distribuído a mulher tem a capacidade de monitorar o seu ciclo de fertilidade.⁵⁰ Além disso, sabe-se que alterações hormonais podem levar a distúrbios sistêmicos como o diabete mellitus, e esta doença pode contribuir para o quadro de periodontite devido às mudanças vasculares, disfunção de neutrófilos, síntese de colágenos e pela predisposição genética, além de mudanças na microbiota gengival, favorecendo assim a colonização de bactérias Gram-Negativas como a *Prevotella* e *Phorphyromonas* que na gestação estão correlacionados a partos prematuros.⁵¹⁻⁵³

Doenças auto-ímmunes

A síndrome de Sjögren é uma doença auto-ímmune crônica, caracterizada por disfunções nas glândulas salivares e lacrimais, ceratoconjuntivite seca, xerostomia, além de anormalidades sorológicas. Alguns procedimentos para o diagnóstico dessa síndrome incluem: sialografia, cintilografia salivar, biópsias e testes sorológicos. Embora sejam úteis, esses exames são invasivos, caros e nem sempre conclusivos.⁵⁴ Pesquisadores têm mensurado concentrações específicas de citocinas (grupo de moléculas envolvidas na emissão de sinais entre as células durante o desencadeamento das respostas imunes) na saliva de pacientes com síndrome de Sjögren para a sua eventual utilidade em diagnóstico. A interleucina (grupo de citocina) 2 e a 6 apresentam-se, significativamente, elevados nos indivíduos que sofrem dessa doença. Assim, alterações nos perfis salivar dessas citocinas podem ser úteis no diagnóstico da Síndrome de Sjögren como no monitoramento de sua progressão.⁵⁵

Doenças Cardiovasculares

Doenças Cardiovasculares são as maiores causa de morte em todo mundo.⁵⁵ Marcadores presentes na saliva, como a amilase, foram utilizados para o acompanhamento pós-operatório de pacientes submetidos à cirurgia cardiovascular. Trabalho de Adam e colaboradores⁵⁶ indicou que a amilase salivar em níveis baixos em pré-operatório de pacientes com aneurisma da aorta está associada com o aumento da mortalidade. Outro como o de Samaranayake em 2007⁵⁷ constatou que a atividade salivar (alfa) amilase pode ser utilizada como um bom marcador de catecolaminas durante a avaliação de pacientes em várias situações estressantes. Essas investigações indicam a possibilidade da utilização da saliva para avaliar a saúde geral do organismo, no entanto, são trabalhos em fase inicial de desenvolvimento com necessidade de confirmação da sua utilidade geral.

2.5 Discussão

As vantagens da utilização da saliva para realização de diagnósticos em relação a outros espécimes biológicos estão na fácil disponibilidade, uma coleta simples e não invasiva, podendo ser realizada pelo próprio indivíduo, além de possuir um armazenamento fácil e de baixo custo. Adicionalmente a essas vantagens, destaca-se a indicação de seu uso em pacientes geriátricos, pediátricos, obesos, com deficiência mental, presos entre outros visto que a coleta da saliva oferece uma alternativa não dolorosa, eliminando o estresse que o paciente possa sofrer.¹⁰

O inconveniente principal da utilização da saliva como líquido de diagnóstico é o fato de que algumas substâncias submetidas à análise encontram-se geralmente em quantidades mais baixas do que no sangue. A concentração bioquímica dos compostos na circulação sangüínea é documentada, regularizada e definida em escalas de variação com valores de referência. O plasma possui escalas estreitas com pouca variação.⁷ Entretanto, com novas técnicas altamente sensíveis, o nível mais baixo dos compostos analisados na saliva já não é uma limitação. Alguns elementos que podem ser medidos no sangue podem ser mensurados na saliva devido ao desenvolvimento da nanotecnologia, que permite aos cientistas manipularem matérias em escala atômica.⁴⁰

O NIDCR (The National Institute of Dental and Craniofacial Research) desenvolve programas utilizando a saliva como ferramenta de diagnóstico visando tornar esse sistema uma tecnologia viável que a conduzirá para a comercialização. No ano de 2003 esse instituto financiou uma pesquisa visando identificar o “DNA salivar”- uma espécie de tabela periódica dos componentes salivares - através da catalogação detalhada das proteínas salivares humanas das três glândulas principais. Este seria um recurso fundamental para elucidação de patogênias de doenças além de avaliar a influência de medicações na estrutura, composição, e na secreção de todos os constituintes salivares.⁵⁸

O desafio em fazer com que o diagnóstico com a utilização da saliva torne-se uma realidade clínica está em estabelecer uma fundamentação científica e validações clínicas necessárias para posicioná-la como uma tecnologia altamente exata e praticável atingindo uma avaliação definitiva.

2.6 Conclusões

1. A saliva é um fluido corporal com elevada importância para situações fisiológicas e patológicas do organismo humano;
2. Em várias situações a saliva já contribui na investigação laboratorial, dentre elas, o diagnóstico de doenças com envolvimento de agentes biológicos infecciosos, neoplasias malignas, monitoramento drogas farmacêuticas e drogas ilícitas, doenças auto-imunes, análise hormonal e no auxílio da medicina legal;
3. A vantagem da utilização salivar em diagnósticos laboratoriais reside no fato da sua disponibilidade, coleta fácil, não invasiva, armazenamento simplificado e de baixo custo;
4. O inconveniente no seu uso está no fato de que as concentrações dos seus marcadores biológicos se encontram em níveis mais baixos em relação ao plasma e ainda não há valores de referência. O desenvolvimento de alta tecnologia (nanotecnologia) está sanando tal situação.

2.7 Referências

1. Dodds MW, Jonson DA, Yeh CK. Health benefits of saliva: a review. *J Dent* 2005; **33**: 223-33.
2. Douglas CR. Tratado de fisiologia aplicada à saúde. São Paulo: *Robe Editotial*; 2002.
3. Mandel ID. The role of saliva in maintaining oral homeostasis. *J Am Dent Assoc* 1989; **119**: 298–304.
4. Sreebny L. Saliva: its role in health and disease. *Int Dent J* 1992; **42**: 291–304.
5. Denny PC, Denny PA, Klauser DK, Hong SH, Navazesh M, Tabak LA. Age-related changes in mucins from human whole saliva. *J Dent Res* 1991; **70**: 1320–1327.
6. Hofman LF. Human saliva as a diagnostic specimen. *J Nutr* 2001; **131**:16215-55.
7. Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, De Palo EF. Saliva specimen: A new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clin Chim Acta* 2007; **383**(1-2):30-40. Epub 2007; 25.
8. Moura SAB, Medeiros AMC, Costa FRH, Moraes PH, Oliveira Filho SA. Valor diagnóstico da saliva em doenças orais e sistêmicas: uma revisão de literatura. *Pesqui Bras Odontopediatr Clin Integr* 2007; **7**: 187-94.
9. Medina ML, Merino LA, Gorodner JO. Utilidad de la saliva como fluido diagnóstico. *Bol Inst Patol Reg* 2004; (n.esp): 78-88.
10. Gilks CF, Balbirnie E. Testing sputum samples for HIV antibodies using a rapid, saliva-card test system. *Ann Trop Med Parasitol* 1997; **91**: 115-7.
11. Garrett JR, Ekstrom J, Anderson LC. Glandular mechanism of salivary secretion. *Basel: Karger-Switzerland*; 1998.
12. Slavkin HC. El futuro del diagnóstico molecular en la cavidad oral. *JADA* 1999; **2**: 65-70.
13. Nair PNR, Schroeder HE. Duct associated lymphoid tissue (DALT) of minor salivary glands and mucosal immunity. *Immunology* 1986; **57**: 171-80.
14. Mortimer PP, Parry JV. The use of saliva for viral diagnosis and screening. *Epidemiol Infect* 1988; **101**(2): 197-201.
15. Byun R, Nadkarni MA, Chhour KL, Martin FE, Jaques NA, Hunter N. Quantitative analysis of diverse *Lactobacillus* species present in advanced dental caries. *J Clin Microbiol* 2004; **42**: 3128–36.

16. Sanchez GS, Gutierrez-Venegas G, Juarez-Cedillo T, Reyes-Morales H, Solorzano-Santos F, Garcia-Peña C. Simplified caries risk test in stimulated saliva from elderly patients. *Gerodontology* 2008; **25**:26-33.
17. Lenander Lumikari M, Loimaranta V. Saliva and dental caries. *Advances in Dental Res* 2000; 14: 40-7.
18. Lena-Puy C. The rôle of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006; **11**:E449-55.
19. Kaufman E, Lamster IB. Analysis of saliva for periodontal diagnosis: a review. *J Clin Periodontol* 2000; **27**: 453–465.
20. Newmann MG, Take HH, Carranza FA. Periodontia clínica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
21. Sandholm L, Gronblad E. Salivary immunoglobulins in patients with juvenile periodontitis and their healthy siblings. *J Periodontol* 1984; **55**: 9-12.
22. Taubman MA, Ebersole JL, Smith DJ. Association between systemic and local antibody and periodontal disease. In: Genco RJ, Mergenhagen SE, editors: Host parasite interactions in periodontal diseases. *Washington: American Society for Microbiology*; 1982; p. 283-98.
23. Todorovic T, Dozic I, Vicente-Barrero M, Ljuskovic B, Pejovic J, Marjanovic M, et al. Salivary enzymes and periodontal disease. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006;**11**:E 115-9.
24. Takane M, Sugano N, Iwasaki H, Iwano Y, Shimizu N, Ito K. New biomarker evidence of oxidative DNA damage in whole saliva from clinically healthy and periodontally diseased individuals. *Periodontol* 2002; **73**: 551-4.
25. Burgess-Casseler A, barriga Angulo G, Wade SE, Castilho Torres P, Schramm W. A field-test for the detection of antibodies to HIV-1/2 in serum or plasma. *Clin Diagn Lab Immunol* 1996; **3**: 480-82.
26. Holm-Hansen C, Constantine NT. Saliva and HIV testing. *Lancet* 1993; **341**:382-3.
27. Sui OC, Guevara MTP, Caballero ALL, Tamayo LM, Cabrera ES. Fluido oral y orina como muestras alternativas en el diagnóstico confirmatorio de la infección por VIH-1 Lic. *Rev Cubana Med Trop* 2007; **59**(2).
28. Agencia Fiocruz de Noticiais. Testes rápidos de Aids ajudam mais pessoas a conhecerem seu status sorológico [Accessed August 2008] Available at: <http://www.fiocruz.br/ccs/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infolid=1022&sid=9&tpl=printerview>.

29. Telles-Dias PR, Westman S, Fernandez AE, Sanches M. Impressões sobre o teste rápido para o HIV entre usuários de drogas injetáveis no Brasil. *Rev Saúde Pública* 2007; **41**: 94-100.
30. Van de Eijk AA, Niester HG, Gotz HM, Janssen HL, Schalm SW, Osterhaus AD, et al. Paired measurements of quantitative hepatitis B virus DNA in saliva and serum of chronic hepatitis B patients: implications for saliva as infectious agent. *Clin Virol* 2004, **29**: 92-4.
31. Zhevachevsky NG, Nomokonova NY, Beklemishev AB, Belov GF. Dynamic study of HBsAg and HBeAg in saliva samples from patients with hepatitis B infection: diagnostic and epidemiological significance. *J Med Virol* 2000; **61**: 433-8.
32. Agência Fiocruz de Notícias. Hepatite A: vírus pode ser detectado por análise da saliva, permitindo o diagnóstico precoce da doença. [Accessed Augst 2008] Available at: <http://www.news.med.br/>
33. Berroteran A, Perrone M, Correnti M, Cavazza ME, Tombazzi C, Goncalvez R, et al. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in the oral cavity and gastroduodenal system of a Venezuelan population. *J Med Microbiol* 2002; **51**: 764-70.
34. Oliveira AS, Siqueira MM, Brown DWE, Litton P, Camacho LA, Castro ST, et al. Diagnóstico laboratorial da rubéola através da detecção de imunoglobulina M específica em amostras de saliva. *Rev Soc Bras Med Trop* 2000; **33**: 335-9.
35. Nokes DJ, Enqselassie FN, Negatu W, Vyse AJ, Cohen, BJ Brown DW, et al. Has oral fluid the potential to replace serum for the evaluation of population immunity levels a study of measles, rubella, and hepatitis B in rural Ethiopia. *Bull World Health Organ* 2001; **79**: 588-95.
36. Burke DS, Nisalak A, Johnson DE, Scott RM . A prospective study of dengue infection in Bangkok. *Am J Trop Med* 1988;**38**:172-80.
37. Cuzzubbo AJ, Vaughn DW, Nisalak A, Suntayakorn S, Aaskov J, Devine PL. Detection of specific antibodies in saliva during dengue infection. *J Clin Microbiol* 1998; **36**:3737-39.
38. Chakravarti A, Matiani M. Immunodiagnosis of dengue virus infection using saliva. *Curr Microbiol* 2007; **55**:461-4.
39. Vazquez S, Cabezas S, Pérez AB, Pupo M, Ruiz D, Calzada N, et al. Kinetics of antibodies in sera, saliva, and urine samples from adult patients with primary or secondary dengue 3 virus infections. *Int J Infect Dis* 2007; **11**: 256-62.

40. Li Y, ST John MA, Zhou X, Kim Y, Sinha U, Jordan RC, et al. Salivary Transcriptome Diagnostics for Oral Cancer Detection. *Clin Cancer Res* 2004; **10**: 8442-50.
41. Jiang WW, Masayeva B, Zahurak M, Carvalho AL, Rosenbaum E, Mambo E, et al. Increased mitochondrial DNA content in saliva associated with head and neck cancer. *Clin Cancer Res* 2005; **11**: 2486-91.
42. Franzmann EJ, Reategui EP, Carraway KL, Hamilton KL, Weed DT, Goodwin WJ. Salivary soluble CD44: a potential molecular marker for head and neck cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; **14**: 735-9.
43. Streckfus C, Bigler L, Dellinger T, Dai X, Kingman A, Thiapen JT. The presence of soluble cerbB-concentrations in the saliva and serum among women with breast carcinoma: a preliminary study. *Clin Cancer Res* 2000; **6**: 2363-70.
44. Silveira EMSZSF. Odontologia legal: a importância do DNA para as perícias e peritos. *Saúde, Ética Justiça*, 2006; **11**: 12-8.
45. Anzai-Kanto E, Hirata MH, Hirata RDC, Nunes FD, Melani RFH, Oliveira RN. DNA extraction from human saliva deposited on skin and its use in forensic identification procedures. *Pesqui Odontol Bras*; **19**:216-22
46. Navazesh M, Denny P, Sobel S. Saliva: A fountain of opportunity. *J Calif Dent Assoc* 2002; **30**:783-8.
47. Passarelli MM, Moraes ECF. Saliva como amostra para o controle terapêutico do lítio. *Rev Farm Bioquim Uni Sao Paulo* 1989; **25**: 71-85
48. Fischbach FT. A manual of laboratory and diagnostic tests. Philadelphia: *Lippincott Williams & Wilkins*; 2004.
49. Yonamine M. A saliva como espécime biológico para monitorar o uso de álcool, anfetamina, metanfetamina, cocaína e maconha por motoristas profissionais[tese] Universidade de São Paulo; 2004.
50. Kiess W, PFAEFFLE R. Steroid analysis in saliva: a noninvasive tool for pediatric research and clinical practice. *J Pediatr*. 2007; **83**: 97-9.
51. Brondani MA, Brondani AR, Bós AJG. Diabete e periodontite: a hora e a vez da medicina periodontal. *J Bras Med* 2002; **82**: 32-34.
52. Madianos PN, Lieff S, Murtha AP, Boggess KA, Auten RL Jr, Beck JD, et al. Maternal periodontitis and prematurity. Part II: Maternal infection and fetal exposure. *Ann Periodontol* 2001; **6**:175-82.

53. Santos–Pereira AS, Giraldo PC, Saba-Chujfi E, Amaral RL, Morais SS, Fachini AM, et al. Chronic periodontitis and pre-term labour in Brazilian pregnant women: an associatin to be analysed. *J Clin Periodontol*. 2007; **34**: 208-13.
54. Gotoh S, Watanabe Y, Fujibayashi T. Validity of stimulated whole saliva collection as a sialometric evaluation for diagnosing Sjogren’s syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; **99**: 299-302.
55. Tishler M, Yaron I, Shirazi I, Yaron M. Salivary and serum hyaluronic acid concentrations in patients with Sjögren.s syndrome. *Ann Rheum Dis* 1998; **57**: 506-8.
56. Adam DJ, Milne AA, Evans SM, Roulston JE, Lee AJ, Rucklcy CV, et al. Serum amylase isoenzymes in patients undergoing operation for ruptured and non-ruptured abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg* 1999;**30**: 229-35
57. Samaranayake L. Saliva as a diagnostic fluid. *Int Dent J* 2007; **57**: 295-299.
58. Li Y, Denny P, Ho CM, MontemaenoC, Shi W, Qi F, et al. The Oral Fluid MEMS/NEMS Chip (OFMNC): diagnostic and translational applications. *Adv Dent Res* 2005; **18**: 3–5.

Capítulo 2



*“Procurando o bem para o nossos semelhantes
encontramos o nosso.”*

Platão

Doença periodontal, diabete mellitus e hipertensão em gestantes usuárias do Sistema Único de Saúde (SUS).

Periodontal disease, diabetes mellitus and hypertension in pregnant women, users of Brazilian Health System (SUS).

3.1 Resumo

Objetivo - avaliar a associação entre doença periodontal, diabete mellitus e hipertensão arterial em gestantes usuárias do Sistema Único de Saúde (SUS). Métodos – a amostra consistiu de 86 mulheres, com idade gestacional entre o 4º e o 7º mês, submetidas ao atendimento pré-natal em Unidades Básicas de Saúde (UBS). A condição periodontal foi avaliada por 2 pesquisadores calibrados (Kappa = 0,91) pelo do Índice Periodontal Comunitário (IPC). A aferição da pressão arterial foi realizada por profissionais das próprias UBS, utilizando-se esfigmomanômetro e o teste de glicemia foi realizado a partir de amostra de sangue colhida do dedo médio, com lanceta descartável adaptada a um lancetador (Accu-Chek Softclix Pro; Roche, USA), para a aferição utilizou-se um monitor de glicemia (Accu-Chek Advantage II, Roche, USA). Os dados foram anotados em ficha numerada, não permitindo a identificação das pacientes. Posteriormente, os mesmos passaram por análise estatística, sendo aplicado o teste Exato de Fisher para avaliar a existência de associação entre as variáveis glicemia e doença periodontal. No teste foi adotado o nível de significância de 0,05. Resultados – A maioria das gestantes apresentaram saúde periodontal (58,1%), 41,9% dos sujeitos da pesquisa mostraram pelo menos um sinal de doença periodontal, sendo que 31,4% apresentaram gengivite e 10,5% periodontite. A hiperglicemia foi detectada em 51,2 % e não foi encontrado valor de pressão arterial superior ao considerado normal. Conclusão - não se verificou associação significativa entre a presença de doença periodontal, alteração de glicemia e hipertensão arterial nas gestantes participantes da pesquisa.

Palavras-chaves: Doença periodontal; Gestação; Diabete mellitus; Hipertensão arterial.

3.2 Abstract

Purpose: To evaluate the association among periodontal disease, diabetes mellitus and arterial hypertension in pregnant women users of the Brazilian Health System (SUS). **Methods:** The sample consisted of 86 women, with pregnant age between the 4th and 7th month, submitted to pre-natal attendance in Health Basic Unities (HBUs). Periodontal condition was evaluated by 2 calibrated researchers (Kappa = 0.91) through the Community Periodontal Index (CPI). A sphygmomanometer was used to check the arterial pressure, what was accomplished by the professionals from the HBUs; glycemia test was accomplished through a blood sample collected from the middle finger with a disposable lancet adapted to a lance device (Accu-Chek Softclix Pro; Roche, USA), and for checking the glycemia level, a glycemia monitor was used (Accu-Chek Advantage II, Roche, USA). Data were written on a numbered register form, avoiding patient identification. After, the same data were statistically analyzed through the Fisher Exact Test, in order to evaluate the existence of association between the variables blood glucose and periodontal disease. In this test, a significance level of 0,05 was adopted. **Results –** Most of the pregnant woman presented periodontal health (58,1%); 41,9% of the research subjects showed at least one sign of periodontal disease, with 31,4% presenting gingivitis and 10,5% periodontitis. Hyperglycemia was detected in 51,2% and it was not found a value of arterial pressure higher than what is considered to be normal. **Conclusion:** it was not verified a significant association among the presence of periodontal disease, glycemia alteration and arterial hypertension in pregnant women who comprised this research.

Key words: Periodontal diseases; Pregnancy; Diabetes mellitus; Hypertension.

3.3 Introdução

No Brasil, a disseminação, de forma mais ampla, do programa de atenção pré-natal ocorreu com a implantação do Programa de Atenção Integral à Saúde da Mulher (PAISM), em meados da última década de 80. Desde esse período, têm ocorrido mudanças significativas quanto ao aumento da cobertura e da média do número de consultas, bem como quanto ao início mais precoce do pré-natal.¹ Entretanto, verifica-se que ainda ocorre um número elevado de mortes de mulheres e crianças por complicações durante gestação e o parto.^{2, 3} As causas mais frequentes de morte materna estão associadas à hipertensão arterial própria da gravidez (eclâmpsia), hemorragia, infecção e aborto, sendo em sua grande maioria passíveis de serem prevenidas e /ou controladas.^{2, 4}

Desta forma, visando um o melhor atendimento à gestante o Ministério da Saúde criou as Diretrizes Básicas de Atendimento Pré-Natal na rede de atenção primária à Saúde, e entre as ações desenvolvidas durante o pré-natal está o atendimento odontológico.⁵

O pré-natal compreende um conjunto de atividades que visa à promoção da saúde das mulheres em período gestacional e dos recém-nascidos e o estabelecimento de ações adequadas à prevenção, ao diagnóstico e ao manuseio clínico de problemas obstétricos que venham a ocorrer, ou de enfermidades previamente existentes. Assim, a assistência pré-natal tem ocupado historicamente um espaço relevante na atenção à saúde da população.⁶

Há evidências de que os níveis de mortalidade materna e perinatal são influenciados pelas condições de vida e pela qualidade da assistência obstétrica e pré-natal.⁵ Pesquisas sugerem que a assistência pré-natal pode contribuir para a redução da ocorrência de prematuridade e do baixo peso ao nascer.^{7, 8}

A ocorrência de doença periodontal, ou seja, a inflamação dos tecidos de suporte dos dentes, durante a gestação pode estar associada à pré-eclâmpsia⁶ e constitui um fator de risco significativo para o nascimento de crianças prematuras de baixo peso ao nascer⁹ além de ser um fator de risco para doenças cardiovasculares, diabetes e infecções respiratórias.^{10, 11}

Na gestação, as doenças hipertensivas, com números superiores a 130/90 mmHg, continuam sendo as maiores causas de mortalidade materno-fetal nos países em desenvolvimento e são responsáveis por 60% das mortes maternas obstétricas diretas.¹²

Entre os tipos presentes na gravidez destacam-se as manifestações específicas, isto é, a pré-eclâmpsia e a hipertensão gestacional.¹³

De grande relevância também, o diabetes mellitus pode ser responsável por complicações neonatais como: membrana hialina, macrosomia, hipocalcemia, hiperbilirrubinemia, policitemia e hipomagnesemia em até 25% dos recém-nascidos de mães portadoras de diabetes, além de malformações congênitas que superam em quase três vezes aquelas observadas na população geral destacando-se como a principal causa de mortalidade perinatal.¹⁴

Para o controle do diabetes mellitus, o Grupo de Trabalho do Diabetes Gestacional (GTDG) do Brasil, reconhecendo a facilidade do rastreamento pela glicemia de jejum, sugere a realização desse exame a partir da 20ª semana de gestação, tendo como ponto de corte 85 mg/dL. Destaca, ainda, a importância do mesmo já na primeira consulta de pré-natal, em portadoras de fatores de risco para o diabetes melito.^{15, 16}

O objetivo do presente estudo foi avaliar a associação entre doença periodontal, diabetes mellitus e hipertensão arterial em gestantes usuárias do Sistema Único de Saúde (SUS) que realizam pré-natal.

3.4 Material e Métodos

Trata-se de um estudo caso controle, realizado nos municípios de Araçatuba e Birigui, SP, Brasil. A amostra consistiu de mulheres, gestantes, com idade gestacional entre o 4º e o 7º mês, submetidas ao atendimento pré-natal nas Unidades Básicas de Saúde (UBS) entre 06 de dezembro de 2007 e 17 de junho de 2008, perfazendo um total de 86 pacientes.

Os dados foram anotados em ficha numerada, não permitindo a identificação da paciente.

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNESP-FOA sob nº 2007-02032 tendo participado as gestantes que livremente consentiram após serem esclarecidas quanto aos objetivos e métodos da mesma.

Avaliação da condição periodontal

Foi avaliada a condição periodontal utilizando-se o índice IPC (Índice Periodontal Comunitário), proposto pela Organização Mundial da Saúde (OMS) ¹⁷ para levantamentos epidemiológicos de saúde bucal, classificando como: ausente, leve (presença de sangramento gengival) e severo (presença de bolsa periodontal). O exame foi realizado por 2 pesquisadores previamente calibrados (Kappa = 0,91), com as gestantes sentadas em cadeira comum sob iluminação natural, utilizando a sonda periodontal modelo da OMS e espelho clínico.

Os pesquisadores seguiram os critérios adotados pela OMS, 1987, no qual a boca foi dividida em sextantes definidos pelos dentes: 18-14, 13- 23, 24-28, 38-34, 33-43 e 44-48. A presença de dois ou mais dentes sem indicação para exodontia (por exemplo, comprometimento de furca, mobilidade e outros problemas) foi pré-requisito ao exame do sextante. Os procedimentos do exame foram iniciados pela área distovestibular passando-se pela área média então para a área mésiovestibular. A sonda foi introduzida levemente no sulco gengival ou na bolsa periodontal, ligeiramente inclinada em relação ao longo eixo do dente, seguindo a configuração anatômica da superfície radicular. Os dados coletados durante o exame periodontal foram registrados no formulário específico.

Os códigos utilizados no IPC são ¹⁸:

0 - Sextante hígido;

- 1 - Sextante com sangramento (observado diretamente ou com espelho, após sondagem);
- 2 - Cálculo (qualquer quantidade, mas com toda a área preta da sonda visível);
- 3 - Bolsa de 4mm a 5mm (margem gengival na área preta da sonda);
- 4 - Bolsa de 6mm ou mais (área preta da sonda não está visível);
- X - Sextante excluído (menos de dois dentes presentes);
- 9 - Sextante não examinado.

Avaliação da glicemia capilar

Em seguida foi realizado o exame para verificação dos níveis de glicemia no sangue. Para tanto, obteve-se uma amostra de sangue (uma gota), colhida do dedo médio, utilizando-se uma lanceta descartável adaptada a um lancetador (Accu-Chek Softclix Pro; Roche, EUA), próprios para uso hospitalar, que evitam o risco de contaminação tanto do paciente quanto do profissional que realizou a coleta. A glicemia foi aferida utilizando um monitor de glicemia (Accu-Chek Advantage II, Roche, USA). Gestantes que apresentaram os valores glicêmicos a cima de 85 mg/dL, foram consideradas com valores alterados.^{15, 16}

Avaliação da pressão arterial

Para a aferição da pressão arterial foi utilizado esfigmomanômetro e realizada por profissionais de enfermagem da própria UBS Sendo adotado o valor de normalidade para hipertensão medidas inferiores a 130/90 mmHg.¹³

Quando se verificava que as pacientes apresentavam doença periodontal, hiperglicemia e/ou hipertensão, os pesquisadores entravam em contato com o médico da UBS para que as gestantes fossem encaminhadas para tratamento.

Análise estatística

A análise estatística utilizada para avaliar a existência de associação entre as variáveis glicemia e doença periodontal foi o teste Exato de Fisher. No teste foi adotado o nível de significância de 0,05.

3.5 Resultados

Entre as 86 gestantes que constituíram a amostra do estudo, verificou-se que 36 (41,9%) apresentaram pelo menos um sinal de doença periodontal. (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição numérica e percentual das gestantes, segundo a presença doença periodontal. Araçatuba/Birigui, SP, 2008.

Doença Periodontal	n	%
Ausente	50	58,1
Sangramento (leve)	27	31,4
Presença de bolsa superficial/ Profunda (severo)	09	10,5
Total	86	100,0

Durante a realização do exame nenhuma das 86 gestantes apresentou aumento da pressão arterial acima de 130/90mmHg

A Tabela 2 mostra a distribuição de glicemia alterada. A hiperglicemia foi detectada em 51,2 % das gestantes no momento do exame realizado.

Tabela 2. Distribuição numérica e percentual das gestantes, segundo a presença de alteração de glicemia no momento do exame. Araçatuba/Birigui, SP, 2008.

Alteração de Glicemia	n	%
Presente	44	51,2
Ausente	42	48,8
Total	86	100,0

A tabela 3 mostra a classificação das 86 gestantes, segundo o status de presença de alteração de glicemia e a presença ou ausência de doença periodontal no momento da

realização do exame. Não houve associação estatisticamente significativa entre as proporções ($p= 0,3440$).

Tabela 3. Distribuição das 86 gestantes, segundo o status de glicemia alterada e a presença ou ausência de doença periodontal. Araçatuba/Birigui, SP, 2008.

Variáveis	Glicemia alterada		Glicemia sem alteração		Amostra (n)
	n	%	n	N	
Condição periodontal					
Com doença	17	38,7	19	45,3	36
Sem doença	27	61,3	23	54,7	50
Total	44	100%	86	100%	86

$p=0,3440$

3.6 Discussão

Nas últimas décadas a saúde da mulher tem sido alvo de atenção específica, prova disso é a implantação do Programa de Assistência Integral à Saúde da Mulher (PAISM), implantado em meados dos anos 80, com o intuito de atender à mulher de forma irrestrita. Entre seus objetivos estão a redução dos riscos referentes ao pré-natal e ao parto.¹

Os resultados do presente estudo ratificam a importância e a eficiência do PAISM uma vez que a maioria das gestantes não apresentou alterações da pressão arterial nem de glicemia, dois grandes problemas que costumam ocorrer durante a gestação, já que são contempladas com a assistência prestada pelo Programa de Assistência Integral à Saúde da Mulher.

O atendimento odontológico foi inserido entre as ações propostas pelo Ministério da Saúde, através da criação das Diretrizes Básicas de Atendimento Pré-Natal, na rede de atenção primária à Saúde, dada a necessidade de cuidados bucais durante a gestação.⁵

Essa necessidade baseia-se em dois motivos principais: as gestantes devem se alimentar corretamente e, por isso, não seria admissível que apresentassem dor e/ou mobilidade dentária, e infecções periodontais poderiam se disseminar pela corrente sanguínea e estimular a produção de citocinas inflamatórias.¹⁹ Esse tipo de atendimento ocorre nas Unidades Básicas de Saúde-UBS de Araçatuba e Birigüi, SP, mostrando que os municípios acompanham as políticas de saúde coletiva.

A prevalência da doença periodontal na gravidez foi observada em alguns estudos,^{20,21} variando de 61,7% a 97,8%, valor muito acima dos 41,9% encontrado nesse trabalho, indicando que a assistência odontológica clínica e a educação em saúde bucal, durante a gestação, podem interferir diretamente na melhora das condições de saúde dentária e periodontal, uma vez que as gestantes participantes do estudo assistiam palestras de orientação de saúde bucal nas Unidades Básicas de Saúde ou nas dependências da Faculdade de Odontologia de Araçatuba-FOA-UNESP e se submetiam a consulta odontológica nas UBSs.

Estudos realizados como de Kunnen et al.⁽²¹⁾ e Vergnes⁽²²⁾ afirmam que a doença periodontal, durante a gestação pode estar associada a pré-eclâmpsia. Por outro lado, em pesquisa reunindo 345 pacientes (115 casos e 230 controles) não se encontrou sustentação para a relação de risco, sugerindo que outros estudos talvez tenham falhas metodológicas, como tamanho amostral inadequado e análises estatísticas

inapropriadas.²³ Da mesma forma, o presente estudo não conseguiu observar essa associação, uma vez que não foi encontrada alteração de pressão arterial em nenhuma das gestantes pacientes com doença periodontal.

Também não foi encontrada associação estatística entre a presença de doença periodontal e diabetes mellitus (alteração glicêmica), o que está de acordo com os resultados de Novak et al.²⁴ que suportam a hipótese de que mulheres com diabetes gestacional podem estar em maior risco de desenvolver doenças periodontais mais severas do que as mulheres grávidas sem diabetes gestacional.

Estudo realizado por Chapper et al.²⁵ demonstrou que pacientes com diabetes gestacional e obesidade pré-gestacional apresentaram significativamente mais gengivite e perda de inserção periodontal que aquelas com IMC (Índice de Massa Corpórea) pré-gestacional normal, ressaltando ainda que o tratamento periodontal deva ser considerado na determinação de futuras recomendações de controle metabólico para esse grupo especial de pacientes.

Há evidências de que os níveis de mortalidade materna e perinatal são influenciados pelas condições de vida e pela qualidade da assistência obstétrica e pré-natal.²⁰ Esses fatores foram determinantes para a implantação das Diretrizes Básicas de Atendimento Pré-natal e a inserção do atendimento odontológico.

Todas as gestantes examinadas eram participantes de programas de pré-natal, o que poderia justificar a não ocorrência de hipertensão decorrente da gravidez, a baixa ocorrência de diabetes gestacional e doença periodontal, além disso, não houve associação estatística entre doença periodontal e glicemia alterada.

3.7 Conclusão

Com base na metodologia adotada e nos resultados obtidos, a hipertensão arterial decorrente da gestação não foi observada em nenhuma das mulheres participantes da pesquisa, a prevalência de doença periodontal foi baixa, não havendo associação significativa entre a existência da doença periodontal e alteração de glicemia nas gestantes participantes da pesquisa.

3.8 Referências

1. Delfino MRR, Patrício ZM, Martins AS, Silvério MR. O processo de cuidar participante com um grupo de gestantes: repercussões na saúde integral individual-coletiva. *Cienc Saúde Coletiva* 2004; 9: 1057-66.
2. Ribeiro AF. Mortalidade materna no município de São Paulo: análise segundo diferentes fontes, 1994 e 1995 [dissertação mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo; 1999.
3. Costa AAR, Ribas MSSS, Amorim MMR, Santos LC. Mortalidade materna na cidade do Recife. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2002; 24: 455-62.
4. Carvalho VCP, Araújo TVB. Adequação da assistência pré-natal em gestantes atendidas em dois hospitais de referência para gravidez de alto risco do Sistema Único de Saúde, na cidade de Recife, Estado de Pernambuco *Rev. Bras. Saúde Matern Infant* 2007; 7: 309-17.
5. Programa de Saúde da Mulher. Disponível em URL: http://ped.linkway.com.br/cpub/media/1104351183--Saude_da_Mulher.pdf [2008 set 26].
6. Coutinho T, Teixeira MTB, Dain S, Sayd JD, Coutinho LM. Adequação do processo de assistência pré-natal entre as usuárias do Sistema Único de Saúde em Juiz de Fora - MG. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2003; 25: 717-24.
7. Low S, Batista Filho M, Souza AI. Assistência pré-natal no estado de Pernambuco. Recife: Bagaço; 2001.
8. Albuquerque WA, Menezes SS, Santana HS. Análise do perfil das mães dos nascidos vivos em Carbotina, Minas Gerais, no ano de 1999, pelo estudo dos dados do "SINASC". *Rev Bras Saúde Matern Infant* 2001; 1: 137-43.
9. Offenbacher S, Beck JD, Lieff S, Slade G. Role of periodontitis in systemic health: spontaneous preterm birth. *J Dent Educ* 1998; 62:852-8.
10. Boggess KA. Society for Maternal-Fetal Medicine Publications Committee. Maternal oral health in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2008; 111:976-86.
11. Carvalho RCM, Campos HH, Bruno ZV, Mota RMS. Fatores preditivos de hipertensão gestacional em adolescentes primíparas: Análise do Pré-natal, da MAPA e da microalbuminúria. *Arq Bras Cardiol* 2006; 87: 487-95.
12. Leeman M. Arterial hypertension in pregnancy. *Rev Med Brux* 2008; 29: 340-5.

13. Rosenn B, Miodovnick M, Combs CA, Khoury J, Siddiqi T. A. Pre-conception management of insulin- dependent diabetes: improvement of pregnancy outcome. *Obstet Gynecol* 1991; 77: 846-9.
14. Reichelt AJ, Oppermann MLR, Schmidt MI. Recomendações da 2ª. reunião do grupo de trabalho em diabetes e gravidez. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2002; 46: 574-81.
15. Cypryk K, Szymczak W, Czupryniak L, Sobczak M, Lewiński A. Gestational diabetes mellitus - an analysis of risk factors. *Endokrynol Pol* 2008; 59:393-7.
16. Passini Júnior R, Nomura ML, Politano GT. Doença periodontal e complicações obstétricas: há relação de risco? *Rev Bras Ginecol Obstet* 2007; 29:370-5.
17. OMS – Organização Mundial de Saúde. Levantamento epidemiológico básico de saúde bucal: manual de instruções. 4. ed. São Paulo: Ed. Santos, 1999.
18. Pereira AC et al. *Odontologia em saúde coletiva*. São Paulo: Artmed, 2003. 440p.
19. Kornman KS, Loesche NJ. The subgingival microbial flora during pregnancy. *J Periodontal Res* 1980; 15:111-22.
20. Louro PM, Fiori HH, Louro Filho P, Steibel J, Fiori R M. Doença periodontal na gravidez e baixo peso ao nascer. *J Pediatr* 2001; 77: 23.
21. Kunnen A, Blaauw J, van Doormaal JJ, van Pampus MG, van der Schans CP, Aarnoudse JG, Van Winkelhff AJ, Abbar F. Women with a recent history of early-onset pre-eclampsia have a worse periodontal condition. *J Clin Periodontol* 2007; 34: 202-7.
22. Vergnes JN. Studies suggest an association between maternal periodontal disease and pre-eclampsia. *Evid Based Dent* 2008; 9:46-7.
23. Khader YS, Jibreal M, Al-Omiri M, Amarin Z. Lack of association between periodontal parameters and preeclampsia. *J Periodontol* 2006; 77:1681-7.
24. Novak KF, Taylor GW, Dawson DR, Ferguson JE 2nd, Novak MJ. Periodontitis and gestational diabetes mellitus: exploring the link in NHANES III. *J Public Health Dent* 2006; 66: 163-8.
25. Chapper A, Munch A, Schermann C, Piacentini CC, Fasolo MTM. Obesity and periodontal disease in diabetic pregnant women. *Braz Oral Res* 2005; 19: 83-7.

Capítulo 3



*“O poder nasce do querer.
Sempre que o homem aplicar a veemência e
perseverante enegia de sua alma a um fim,
vencerá os obstáculos, e, se não atingir o alvo fará,
pelo menos, coisas admiráveis”.*

Dale Carnegi

Ocorrência do complexo vermelho de Socransky em gestantes com e sem doença periodontal.

Occurrence of Socransky red complex in pregnant women with and without periodontal disease.

4.1 Resumo

A doença periodontal é complexa, multifatorial, sua patogênese está associada a microrganismos específicos e em sua maioria, anaeróbios obrigatórios Gram-negativos. Fatores moduladores como alterações hormonais durante a gravidez podem agravar essa doença. Assim, o objetivo deste estudo foi verificar a presença do complexo vermelho de Socransky (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia*) e *P. intermedia* pela reação em cadeia da polimerase (PCR) em gestantes com e sem doença periodontal, bem como sua relação com a pressão arterial e glicemia capilar. Participaram deste estudo caso controle 86 gestantes, sendo 50 com periodonto saudável, 27 com gengivite e 9 com periodontite. A pressão arterial e glicemia foram avaliadas e devidamente registradas. Os espécimes clínicos do sulco gengival ou bolsa periodontal foram coletados por meio de cones de papel absorvente esterilizados. A extração de DNA foi realizada pelo kit Easy-DNA e a presença das bactérias foi detectada por PCR com iniciadores e sondas específicas para cada microrganismo. Os dados obtidos mostraram que a pressão arterial de todas as gestantes estava em níveis normais, 51% apresentou hiperglicemia e essas duas variáveis não estavam associadas às condições periodontais e/ou presença de microrganismos. O complexo vermelho de Socransky não estava presente em gestantes com periodonto sadio, entretanto, estava presente nas gestantes com gengivite 3,7% e em maior porcentagem em gestantes com periodontite 33,3%.

Palavras Chaves: Complexo Vermelho de Socransky; Gestação; Doença Periodontal

4.2 Abstract

Periodontal disease is complex, multifactorial, and its pathogenesis is associated to specific microorganisms, most of them strictly anaerobic Gram-negative. Modulating factors such as hormonal alteration during pregnancy may aggravate this disease. Thus, the purpose of this study was to verify the presence of the Socransky red complex (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* and *Tannerella forsythia*) and *P. intermedia* by polymerase chain reaction (PCR) in periodontally healthy pregnant women and pregnant women with periodontal disease, as well as its relation with arterial blood pressure and capillary glycemia. This case control study included 86 pregnant women, being 50 pregnant women with healthy periodontium, 27 with gingivitis and 9 with periodontitis. Arterial pressure and glycemia were evaluated and orderly recorded. Clinical specimens from the gingival crevice or periodontal pocket were gathered with sterilized absorbent paper cones. DNA extraction was accomplished through the Easy-DNA Kit test and the presence of bacteria was detected by PCR with primers and specific probes for each microorganism. The obtained data showed that the arterial pressure of all pregnant women was found in normal levels, 51% presented hyperglycemia and these two variables were not associated to periodontal conditions and/or presence of microorganisms. The Socransky red complex was not present in pregnant women with healthy periodontium; however, it was present in pregnant women with gingivitis (3,7%) and in a higher percentage in pregnant women with periodontitis (33,3%).

Keywords: Socransky Red Complex, Pregnancy, Periodontal Disease.

4.3 Introdução

As doenças periodontais são, geralmente, desordens infecciosas crônicas de caráter endógeno e vários microrganismos estão envolvidos em sua patogênese, em especial, bactérias anaeróbias estritas Gram-negativas.^{1, 2, 3} Essas entidades patológicas complexas e multifatoriais podem se apresentar na forma de processos inflamatórios destrutivos contribuindo para destruição progressiva dos tecidos de suporte dos elementos dentais, culminando com a perda destes.^{2, 4, 5, 6}

A AMERICAN ASSOCIATION OF PUBLIC HEALTH DENTISTS SUBCOMMITTEE OF PREVENTIVE PERIODONTOLOGY, em 1984, considerou as doenças periodontais como as principais causas da perda de elementos dentais na população adulta e um dos mais sérios problemas sócio-econômicos e de saúde pública mundiais, tais considerações são enfatizadas por Albandar 2002²; Bronw e colaboradores 2002⁷ e Petersen e colaboradores 2005⁸. Segundo Bodet e colaboradores 2007⁹, o desenvolvimento da doença periodontal depende tanto da virulência das bactérias envolvidas, bem como do nível da resposta imune do hospedeiro. Vários autores relatam que as doenças periodontais estão associadas ao biofilme dental e a sua evolução depende de fatores intrínsecos e extrínsecos, tais como condições sistêmicas, uso de drogas antimicrobianas, stresse, tabagismo, higienização, entre outros e sua progressão pode acelerar com o decorrer do tempo.^{2, 9, 10} Esses fatores intrínsecos e extrínsecos são também denominados de fatores moduladores ou de risco e estão sendo estudados arduamente para que se possam esclarecer os mecanismos de patogênese e assim adotar estratégias preventivas adequadas.^{2, 11}

Há mais de 500 espécies bacterianas presentes na cavidade oral¹² e os microrganismos anaeróbios obrigatórios constituem o grupo numericamente mais significativo da microbiota autóctone do homem^{13, 14} e cumprem um importante papel em muitas infecções monomicrobianas e mistas, dentre elas, as doenças periodontais.

A presença de um biofilme com potencial patogênico é essencial para o desenvolvimento dessa doença, bem como para a sua evolução. Nesse sentido, alguns autores relataram que as periodontopatias nos humanos e em outros mamíferos estão, predominantemente, associadas a microrganismos anaeróbios Gram-negativos.^{10, 15}

Com o intuito de verificar a colonização dos biofilmes bucais e elucidar a patogênese desses processos infecciosos, Socrasky e colaboradores 1998¹⁶ e Socransky e Haffajee 2002¹⁷ descreveram seis complexos microbianos que se instalam no biofilme subgingival de indivíduos adultos. Esses autores verificaram que os complexos

amarelo, azul, verde e violeta são constituídos por grupamentos de bactérias que têm capacidade de aderir à superfície dental, constituindo a base da pirâmide do biofilme e são os colonizadores iniciais da superfície dental e não se relacionam com a doença periodontal, sendo muitos deles considerados até benéficos. Segundo os autores, esses complexos basais fornecem receptores e criam condições ecológicas para a implantação das bactérias do complexo laranja implicadas com a patogênese das doenças periodontais e entre essas bactérias está *Prevotella intermedia*. O complexo laranja precede e cria condições para a implantação do complexo vermelho que é formado pelas espécies de *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia*, aceitas como agentes etiológicos da periodontite crônica, relacionados com o aumento de profundidade de bolsa e com a presença de sangramento à sondagem.

As espécies correspondentes aos gêneros *Prevotella* e *Porphyromonas* caracterizam-se por serem bastonetes anaeróbios obrigatórios, Gram-negativas, pleomórficos, imóveis e não esporuladas, podendo ser sacarolíticas ou assacarolíticas, respectivamente. Em meio sólido, formam colônias lisas, brilhantes, convexas, circulares e podem produzir pigmentação escura, o seu período de incubação está entre 07 a 14 dias.¹⁸ Esses microrganismos têm sido observados em processos extrabuciais, como infecção naso-faríngea, pulmonar, apendicite, peritonite intra-abdominal^{19, 20}, doença periodontal crônica, gengivite úlcero-necrosante, gengivite gravídica²¹ e correlacionados a partos prematuros.^{22, 23}

Treponema denticola é uma espiroqueta móvel, anaeróbia obrigatória Gram-negativa, altamente proteolítica, que foi descrita por Brumpt em 1925.²⁴ Esse microrganismo está associado à gengivite ulceronecrosante, periodontite, pericoronarite aguda, abscesso perirradicular agudo^{25, 26, 27} compondo, juntamente com *P. gingivalis* e *T. forsythia* o complexo vermelho de Socransky.^{16, 28} *T. denticola* também foi detectada em lesões arterioscleróticas, infecções pulmonares e endodônticas.^{29, 30, 31, 32}

Tannerella forsythia foi relatada por Tanner e colaboradores, em 1979³³, como sendo uma bactéria Gram-negativa, fusiforme, frequentemente encontrada em conjunto com *P. gingivalis* em casos de periodontite crônica.²⁸ Segundo Kadowaki e colaboradores 2004³⁴, essa bactéria tem uma ocorrência maior em adultos e está presente em número elevado em sítios com sangramento à sondagem daqueles que não apresentam sangramento. Além desses aspectos, Sharma e colaboradores 2005³⁵ relatam que *T. forsythia* está associada à perda de osso alveolar.

Durante a gestação, algumas mulheres podem desenvolver a diabetes gestacional que também é um fator modulador da doença periodontal.^{36, 37, 38} Segundo Xiong e colaboradores 2006³⁹ a diabetes gestacional pode aumentar o risco de eclâmpsia, parto prematuro e até mesmo causar injúrias ao bebê.

Logo, verifica-se que a gestante apresenta alterações fisiológicas que podem favorecer a colonização e implantação do complexo vermelho de Socransky e de *Prevotella intermédia*, microrganismos que estão intimamente associados a diversas modalidades de doença periodontal, como a gengivite e doença periodontal crônica.^{2, 4, 5, 21}

A reação em cadeia da polimerase (PCR) está sendo muito utilizada como ferramenta para detecção de microrganismos exigentes como aqueles do complexo vermelho de Socransky, bem como para a caracterização e identificação desses.⁴⁰

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar a ocorrência do complexo vermelho de Socransky bem como de *P. intermedia* em gestantes com e sem doença periodontal por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) e verificar associação entre esses microrganismos à alteração de glicemia e/ou pressão arterial.

4.4 Material e Métodos

Trata-se de um estudo caso controle, realizado nos municípios de Araçatuba e Birigui, SP, Brasil. A amostra consistiu de 86 mulheres, gestantes, com idade gestacional entre 4º e o 7º mês, submetidas ao atendimento pré-natal nas Unidades Básicas de Saúde (UBS) dos municípios de Araçatuba-SP e Birigui-SP, perfazendo um total de 86 pacientes.

Avaliação da condição periodontal

Foi avaliada a condição periodontal utilizando-se o índice IPC (Índice Periodontal Comunitário), proposto pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para levantamentos epidemiológicos de saúde bucal, classificando como: ausente, leve (presença de sangramento gengival) e severo (presença de bolsa periodontal). O exame foi realizado por 2 pesquisadores previamente calibrados ($Kappa = 0,91$), com as gestantes sentadas em cadeira comum sob iluminação natural, utilizando a sonda periodontal modelo da OMS e espelho clínico.

Os pesquisadores seguiram os critérios adotados pela OMS, 1987, no qual a cavidade bucal foi dividida em sextantes definidos pelos dentes: 18-14, 13- 23, 24-28, 38-34, 33-43 e 44-48. A presença de dois ou mais dentes sem indicação para exodontia (por exemplo, comprometimento de furca, mobilidade e outros problemas) foi pré-requisito ao exame do sextante. Os procedimentos do exame foram iniciados pela área distovestibular passando-se pela área média e então para a área mésiovestibular. A sonda foi introduzida levemente no sulco gengival ou na bolsa periodontal, ligeiramente inclinada em relação ao longo eixo do dente, seguindo a configuração anatômica da superfície radicular. Os dados coletados durante o exame periodontal foram registrados na ficha clínica da paciente.

Os códigos utilizados no IPC são:

- 0 - Sextante hígido;
- 1 - Sextante com sangramento (observado diretamente ou com espelho, após sondagem);
- 2 - Cálculo (qualquer quantidade, mas com toda a área preta da sonda visível);
- 3 - Bolsa de 4mm a 5mm (margem gengival na área preta da sonda);
- 4 - Bolsa de 6mm ou mais (área preta da sonda não está visível);
- X - Sextante excluído (menos de dois dentes presentes);
- 9 - Sextante não examinado.

Avaliação da pressão arterial

Para a aferição da pressão arterial foi utilizado esfigmomanômetro e realizada por profissionais de enfermagem da própria UBS. Sendo adotado o valor de normalidade para hipertensão medidas inferiores a 130/90 mmHg.⁴¹

Avaliação da glicemia

O exame de glicemia foi realizado a partir de uma amostra de sangue (uma gota) que foi colhida do dedo médio, utilizando-se uma lanceta descartável adaptada a um lancetador (Accu-Chek Softclix Pro; Roche, EUA), próprios para uso hospitalar, que evitam o risco de contaminação tanto do paciente quanto do profissional que realizou a coleta. A glicemia foi aferida utilizando um monitor de glicemia (Accu-Chek Advantage II, Roche, EUA). Gestantes que apresentaram os valores glicêmicos a cima de 85 mg/dL, foram consideradas com valores alterados.^{42,43}

Coleta dos espécimes clínicos

Para a coleta dos espécimes clínicos do sulco gengival ou bolsa periodontal foi realizada a antissepsia do elemento dental com clorexidina (0,12%), seguida do isolamento relativo com roletes de algodão. Os espécimes clínicos foram coletados com o auxílio de três cones de papéis absorventes esterilizados (N^o. 30, Endopoints Ind. Com. Ltda., RJ.), introduzidos no sulco gengival ou na bolsa periodontal, onde permaneceram por 10 segundos.⁴⁴ Em seguida, os cones foram transferidos para criotubos com alíquotas de 0,3 ml de água ultra-pura. Os tubos foram mantidos em nitrogênio líquido até o momento do processamento laboratorial.

Deteção dos microrganismos

A extração do DNA da espécie em estudo foi realizada utilizando-se o kit Easy-DNA (Invitrogen, SP).

A detecção foi realizada por PCR utilizando-se iniciadores específicos. A amplificação do DNA foi realizada em volumes de 25 µl, contendo 2,5 µl de 10 X de tampão PCR, 1,25 µl de MgCl₂ (50 mM), 2,0 µl de dNTP (10 mM) (Invitrogen), 0,25 µl de Platinum Taq DNA polimerase (0,5 U) (Invitrogen), 1,0 µl de cada iniciador (0,4 µM), 7 µl de água ultra-pura Milli-Q esterilizada e 10 µl de DNA (ng). A amplificação foi realizada em termociclador (Perkin Elmer, GeneAmp PCR System 2400)

programado para: 1 ciclo de 94°C (5 min.); 35 ciclos de 94°C (1 min.), 52°C (1 min.), 72°C (1 min.) e 1 ciclo de 72°C (5 min.).

Os iniciadores e a temperatura de anelamento utilizados, descritos por Ashimoto e colaboradores 1996⁴⁵, estão na tabela abaixo relacionada.

Tabela 1. Iniciadores específicos utilizados nos ensaios de PCR convencional.

Iniciadores específicos	Oligonucleotídeos	Temp.de anelamento*
<i>P. gingivalis</i>	5'-TGTAGATGATCATCTGATGGTGAAACC-3' 5'-ACGTCATCGGCTACCCACCTTCCTC-3'	60°C
<i>P. intermedia</i>	5'-TTTGTTGGGTGACCCAGTAAAGCGGG-3' 5'-TTCAACCGATCTCTGTATCCCCTGCGT-3'	55°C
<i>T. denticola</i>	5'-TAACCGACTTCGTTATGTGCTCATTACAT-3' 5'-CAAAGAAGCATAATCGCCTCTTCTTCTTA-3'	55°C
<i>T. forsythia</i>	5'-GCGTATGTAAATCGGAACCTGCCCGCA-3' 5'-TGCACTACGTTTCAGTGTCAGTTATACCT-3'	60°C

Em todas as reações foram utilizadas como controles positivos, às cepas ATCC 25611 e como controles negativos a mistura dos reagentes com água ultra-pura. Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1%, corados com brometo de etídio (0,5 µg/ml) e fotografados sobre transiluminador com luz UV com câmara Kodak (Eletrophoresis Documentation and Analyses System 120).

Análise estatística

Para a análise dos resultados foram aplicados testes não paramétricos, levando-se em consideração a natureza das variáveis estudadas.

Em todos os testes fixou-se em 0,05 ou 5% o nível para a rejeição da hipótese de nulidade, assinalando-se com um asterisco os valores significantes.

Foi realizado o teste Exato de Fisher para verificar se alterações de glicemia e/ou pressão arterial foram significativas entre as gestantes, suas diferentes condições periodontais, bem como para verificar a presença do Complexo Vermelho de Socransky e de *Prevotella intermedia* nessas condições.

4.5 Resultados

Entre as 86 gestantes que constituíram a amostra do estudo, verificou-se que 50 (58,1%) não apresentaram sinais de doença periodontal, 27 (31,4%) apresentaram gengivite e 09 (10,5%) apresentaram a periodontite. (Tabela 2).

Tabela 2. Distribuição numérica e percentual das gestantes, segundo a presença doença periodontal. Araçatuba/Birigui, SP, 2009.

Doença Periodontal	n	%
Ausente	50	58,1
Leve/ presença de sangramento gengival	27	31,4
Severo/ presença de bolsa periodontal	09	10,5
Total	86	100,0

Em relação à pressão arterial, verificou-se que todas as gestantes estavam com a pressão arterial nos índices de normalidade. (Tabela 3).

Tabela 3. Valores de glicemia e pressão arterial (mm/Hg) e ocorrência de: *P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *P. intermedia* em gestantes com as diferentes condições periodontais, Araçatuba, Birigui, SP 2009.

Condição periodontal	PA	Glicemia	<i>P. gingivalis</i>	<i>T. denticola</i>	<i>T. forsythia</i>	<i>P. intermedia</i>
GS1	100 x 60	77	0	0	0	0
GS2	90 x 60	76	0	1	0	1
GS3	100 x 70	74	0	0	1	0
GS4	100 x 70	76	0	0	0	0
GS5	100 x 60	65	0	0	0	1
GS6	90 x 60	64	1	0	0	0
GS7	90 x 60	86	0	0	0	0
GS8	100 x 60	67	0	0	1	0
GS9	90 x 60	87	0	0	0	1
GS10	110 x 70	87	0	1	0	1
GS11	90 x 60	89	1	0	0	0
GS12	110 x 70	77	0	0	0	1
GS13	90 x 60	81	0	0	0	0
GS14	90 x 60	72	0	0	0	0
GS15	100 x 70	71	0	0	0	0
GS16	130 x 80	97	0	1	0	0
GS17	90 x 60	119	0	0	0	0
GS18	100 x 60	72	0	0	0	0
GS19	90 x 60	122	0	1	0	1
GS20	90 x 60	71	0	0	0	0
GS21	120 x 80	88	0	0	0	0
GS22	110 x 70	98	1	0	0	0
GS23	110 x 70	103	0	0	0	0
GS24	110 x 70	102	0	0	0	0
GS25	100 x 60	107	0	0	0	0
GS26	100 x 60	128	0	0	0	0
GS27	100 x 60	82	0	0	0	0
GS28	110 x 60	97	0	0	0	1
GS29	100 x 70	76	0	0	0	1
GS30	90 x 70	84	0	0	0	0
GS31	110 x 70	90	0	0	1	0
GS32	90 x 60	83	1	0	1	0
GS33	120 x 80	95	0	0	0	0
GS34	120 x 80	88	0	1	0	0
GS35	100 x 60	86	0	0	0	0
GS36	110 x 80	98	0	0	0	0
GS37	110 x 80	81	0	0	0	0
GS38	110 x 60	73	0	0	0	0
GS39	120 x 70	77	0	0	0	0
GS40	120 x 80	86	0	0	0	0
GS41	110 x 60	82	0	1	0	0
GS42	130 x 70	72	0	0	0	1
GS43	110 x 80	108	0	0	0	1
GS44	120 x 70	63	0	0	1	0
GS45	120 x 80	66	0	0	0	0

GS46	100 x 60	82	1	0	0	0
GS47	120 x 80	109	0	0	0	0
GS48	110 x 80	89	1	0	0	0
GS49	120 x 80	82	1	0	1	1
GS50	110 x 70	94	0	0	0	0
GG1	100 x 70	59	0	0	0	0
GG2	120 x 80	90	0	0	0	0
GG3	90 x 60	82	0	0	1	0
GG4	100 x 70	89	0	0	1	0
GG5	100 x 60	86	0	0	0	0
GG6	90 x 60	87	0	0	0	0
GG7	100 x 70	108	0	0	0	1
GG8	100 x 60	106	1	0	0	1
GG9	110 x 70	84	0	1	1	0
GG10	90 x 50	93	0	0	0	0
GG11	90 x 50	86	0	0	1	1
GG12	100 x 70	92	0	1	0	0
GG13	110 x 70	76	1	0	0	0
GG14	100 x 60	87	1	1	0	0
GG15	100 x 70	82	0	1	0	0
GG16	120 x 80	93	0	0	0	0
GG17	110 x 80	63	0	0	1	1
GG18	100 x 70	74	1	1	0	0
GG19	120 x 60	97	0	0	0	0
GG20	120 x 80	83	0	0	0	1
GG21	120 x 80	89	0	0	1	0
GG22	100 x 60	79	0	0	0	0
GG23	120 x 80	87	0	0	0	0
GG24	110 x 80	77	1	1	1	0
GG25	100 x 60	79	1	0	0	1
GG26	100 x 60	76	0	1	0	0
GG27	100 x 60	67	0	1	1	0
GP1	130 x 80	105	1	0	0	0
GP2	100 x 70	66	0	0	1	1
GP3	110 x 70	80	1	1	0	0
GP4	120 x 80	91	1	1	1	1
GP5	120 x 80	71	0	0	0	1
GP6	120 x 80	72	1	1	1	1
GP7	120 x 80	80	1	0	1	1
GP8	120 x 80	77	0	1	1	1
GP9	120 x 80	89	1	1	1	1

GS=gestante com periodonto sadio

GG=gestante com gengivite

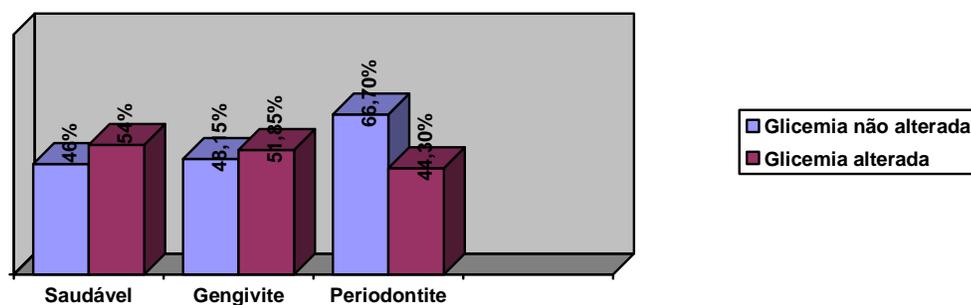
GP=gestante com periodontite

0= ausente

1= presente

A Tabela 3 mostra os valores da glicemia e o Gráfico 1 demonstra a ocorrência da alteração glicêmica entre as gestantes participantes da pesquisa, sendo que das 50 gestantes com peridodonto sadio, 23 (46%) não apresentaram glicemia alterada, enquanto que das 27 gestantes com gengivite, 13 (48,15%) não apresentaram alteração glicêmica e das 9 gestantes com periodontite 6 (66,7%) não apresentaram alteração glicêmica no momento do exame. Neste trabalho não foi encontrada associação estatística significativa entre a glicemia alterada e doença periodontal.

Gráfico 1. Ocorrência da alteração glicêmica entre as gestantes dos 3 grupos de condição periodontal (saudável, gengivite e periodontite). Araçatuba/Birigui, SP, 2009.



Verificou-se, também, que não houve associação estatisticamente significativa entre alteração glicêmica e ocorrência de *Porphyromonas gingivalis* nas condições de periodonto saudável, gengivite e periodontite ($p= 0,5466$; $p= 0,2188$; $p= 0,75$), respectivamente, assim como não existiu também diferença estatística entre glicemia e presença de *Treponema denticola* nas mesmas condições, (peridodonto sadio, gengivite e periodontite, respectivamente $p= 0,1562$; $p= 0,3918$; $p= 0,5105$). Da mesma forma, não se verificou essa associação para *Tannerella forsythia* (periodonto saudável, gengivite e periodontite, respectivamente $p= 0,4056$; $p= 0,5$; $p= 0,6573$), *Prevotella intermedia* (periodonto saudável, gengivite e periodontire, respectivamente, $p= 0,5605$; $p= 0,5570$; $p= 0,5833$) e Complexo vermelho de Socranky ($p= 1$; $p= 1$; $p= 0,5$).

No que se refere somente à ocorrência dos microrganismos, notou-se que *P. gingivalis* esta estava presente em 7 (14%) mulheres grávidas sem doença periodontal, 6 (22,2%) com gengivite e em 6 (66,7%) gestantes com doença periodontal (Tabela 4). E porcentagens semelhantes foram encontradas para *T. denticola* e *T. forsythia*, respectivamente, 12% e 12% de gestantes com saúde periodontal, 29,7% e 29,6% de gestantes com gengivite, e 55,5% e 66,7% de gestantes com periodontite (Tabela 4). *P.*

intermedia foi encontrada em 11 (22%) gestantes com condição periodontal saudável, 6 (22.2%) mulheres grávidas com gengivite e 7 (77.8%) com periodontite (Tabela 4) e o complexo vermelho de Socransky (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia*) não foi encontrado em nenhuma mulher grávida com periodonto saudável participante da pesquisa, estava presente em apenas uma (3,7%) gestante com gengivite e em 3 (33,3%) gestantes com periodontite (Tabela 4).

Desta forma, verificou-se que não houve diferença significativa entre ocorrência de *P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *P. intermedia* e complexo vermelho de Socransky entre as gestantes com periodonto sadio e com gengivite ($p=0,27$; $p=0,05$; $p=0,05$; $p=0,59$; $p=0,35$), respectivamente. Por outro lado há diferença altamente significativa quando se compara a ocorrência de *P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *P. intermedia* e complexo vermelho de Socransky entre gestantes com saúde periodontal e periodontite (** $p=0,0022$; ** $p=0,0078$; ** $p=0,0013$; ** $p=0,0022$; ** $p=0,0026$), respectivamente. E há diferença significativa entre gestantes com gengivite e periodontite para *P. gingivalis* (* $p=0,02$) e para o complexo vermelho de Socransky (* $p=0,040$). Constatou-se que não há diferença estatística entre gestantes com periodonto sadio e com gengivite para *T. denticola* e *T. forsythia* ($p=0,15$; $p=0,058$), respectivamente. Entretanto, há diferença altamente significativa entre a ocorrência de *P. intermedia* entre as gestantes com gengivite e periodontite (** $p=0,0049$). E todas as mulheres grávidas que apresentaram o complexo vermelho de Socransky apresentavam também, *P. intermedia*.

Tabela 4. Ocorrência de: *P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, e complexo vermelho de Socranky em gestantes com e sem doença periodontal, Araçatuba, 2009.

Condição periodontal Bactéria	Saudável (n=50)	Gengivite (n=27)	Periodontite (n=9)
<i>P. gingivalis</i>	7 (14,0%)	6 (22,2%)	6 (66,7%)
<i>T. denticola</i>	6 (12,0%)	8 (29,6%)	5 (55,5%)
<i>T. forsythia</i>	6 (12,0%)	8 (29,6%)	6 (66,7%)
<i>P. intermedia</i>	11 (22,0%)	6 (22,2%)	7 (77,8%)
Complexo Vermelho	0 (0%)	1 (3,7%)	3 (33,3%)

* $p < 0.05$ = significante

** $p < 0.01$ = altamente significante

4.6 Discussão

As doenças periodontais afetam toda a população mundial, sem distinção de sexo, idade ou etnia. Estão associadas ao biofilme dental e a sua evolução depende de fatores intrínsecos e extrínsecos, tais como condições sistêmicas, uso de drogas antimicrobianas, resposta do hospedeiro, higienização, entre outros.¹⁰ Segundo Brown e colaboradores 2002⁷, as periodontopatias estão entre as endemias humanas e se manifestam de forma diferente entre os países desenvolvidos e os em desenvolvimento, visto que os serviços odontológicos, em especial, os periodontais são escassos nestes últimos. Nesse sentido, Albandar e Rams 2002¹¹ relataram que a população de baixo poder aquisitivo, geralmente, não tem acesso ao serviço odontológico e seus hábitos de higiene bucal são precários, além disso, observaram que as periodontopatias têm uma prevalência maior em africanos, seguidos dos hispânicos e asiáticos, embora acometam todas as etnias.

Taani e colaboradores 2003⁴⁶ estudaram as condições periodontais de gestantes relacionado-as com condições sociodemográficas e variáveis clínicas, como índice de placa, índice gengival, profundidade de bolsa periodontal e nível de inserção. Esses autores verificaram que os sintomas das periodontopatias se agravaram durante a gestação e estavam relacionados com baixo nível de instrução, ressaltando a importância de programas preventivos e educativos para gestantes.

É sabido que as condições sistêmicas podem agravar as doenças periodontais, recentemente, alguns pesquisadores sugeriram que o contrário pode ocorrer, ou seja, que a doença periodontal pode acarretar alterações sistêmicas, como no caso de gestantes que desenvolvem a pré eclampsia.^{47, 48} Nesse sentido, estudos afirmam que a doença periodontal constitui um fator de risco significativo para o nascimento de crianças prematuras de baixo peso ao nascer^{23, 49, 50}, além de ser um fator de risco para doenças cardiovasculares, diabete e infecções respiratórias.^{39, 51, 52}

Neste trabalho, verificou-se que 50 (58,1%) gestantes não apresentaram sintomas de doença periodontal, 27 (31,4%) apresentaram gengivite e 09 (10,5%) periodontite, discordando dos resultados de Louro e colaboradores 2001⁵³ e Kunnen e colaboradores 2007⁵⁴ que encontraram valores bem maiores de ocorrência de periodontite, 61,7% a 97,8%, valores muito acima dos 10,5% encontrado nesse trabalho. Por outro lado, Pitiphat e colaboradores 2008⁵⁵, baseando-se em respostas de um questionário aplicado e radiografias apresentadas pelas gestantes participantes do Projeto Viva, relataram que somente 3,7% apresentaram periodontite, possivelmente,

essa baixa incidência ocorreu devido ao fato de que as gestantes estavam inseridas em um programa de atenção e educação à saúde e não foi realizado um estudo clínico para verificar a ocorrência de gengivite.

Cabe ressaltar que Albandar e colaboradores 1998⁵⁶ relataram que mais de 82% de toda população norte-americana apresentava gengivite, porém, os valores encontrados neste trabalho são inferiores (31,4%), sendo que essa porcentagem foi observada em gestantes, as quais seriam mais susceptíveis a essas doenças. Uma possível explicação para tal achado seria a participação das gestantes em programas de pré-natal.

Quanto a periodontite, Pitiphat e colaboradores 2008⁵⁵ encontraram uma porcentagem baixa (3,8%), entretanto, neste estudo, foi observada uma porcentagem maior (10,5%), a qual poderia estar relacionada com a resposta imune do hospedeiro e com sua etnia, pois Albandar e Rams 2002¹¹ relataram que os africanos, hispânicos e asiáticos seriam mais susceptíveis do que os caucasianos, e a população brasileira tem uma descendência variada, sendo predominantemente africana.

Neste estudo, a baixa ocorrência e progressão dessas periodontopatias podem ser explicadas pelo fato das Unidades Básicas de Saúde participantes da pesquisa oferecerem programas preventivos, como palestras de orientação em saúde bucal e atendimento odontológico durante a gestação, que segundo Taani e colaboradores 2003⁴⁶ são importantes para o controle dessas doenças. Essas UBSs estão inseridas no Programa de Atenção Integral à Saúde da Mulher (PAISM), programa que compreende um conjunto de atividades que visa à promoção da saúde das mulheres em período gestacional, dos recém-nascidos e o estabelecimento de ações adequadas à prevenção, ao diagnóstico e ao manuseio clínico de problemas obstétricos que venham a ocorrer, ou de enfermidades previamente existentes; este tem favorecido muito a população de baixo poder aquisitivo.⁵⁷

Nesta pesquisa não se observou relação entre a pressão arterial e saúde periodontal, gengivite e/ou periodontite, visto que todas as gestantes apresentam pressão arterial de acordo com os índices de normalidade, fato que pode ser atribuído ao programa de atenção pré-natal, pois todas as mulheres grávidas participantes da pesquisa faziam acompanhamento pré-natal nas UBSs, ou seja, estavam inseridas no PAISM.

Em relação à ocorrência de doença periodontal e diabete gestacional (intolerância a glicose durante a gravidez), verificou-se que esta ocorreu na maioria das

pacientes (51,2%), indo de encontro com os relatos de Friedlander e colaboradores 2007³⁷ os quais mostram que atualmente, a diabetes gestacional ocorre em 7% das gestantes norte-americanas, mas está aumentando devido à obesidade, a qual está intimamente relacionada com a diabetes e é epidêmica nos Estados Unidos. Pesquisa realizada por Dasanayake e colaboradores 2008⁵⁸ mostrou a prevalência de 8,3% de diabetes gestacional entre as pacientes examinadas e verificou que essa doença se apresentava em maiores proporções em mulheres com idade avançada que apresentavam um índice de massa corporal mais elevado antes da gestação, corroborando com os dados de Friedlander e colaboradores 2007.³⁷

Estudo, realizado por Chapper e colaboradores, 2005⁵⁹, demonstrou que pacientes com diabetes gestacional e obesidade pré-gestacional apresentaram significativamente mais gengivite e perda de inserção periodontal daqueles com IMC (Índice de Massa Corpórea) pré-gestacional normal, ressaltando ainda que o tratamento periodontal deva ser considerado na determinação de futuras recomendações de controle metabólico para esse grupo de pacientes, pois há evidências de que os níveis de mortalidade materna e perinatal são influenciados pelas condições de vida e pela qualidade da assistência obstétrica e pré-natal.

Diante do disposto, verificou-se que neste estudo a diabetes gestacional apresentou uma ocorrência maior do que a encontrada no estudo de Friedlander e colaboradores 2007.³⁷ Entretanto, esses autores relataram que a diabetes está aumentando nos últimos anos. A discrepância entre os resultados de Friedlander e colaboradores 2007³⁷ e desta pesquisa poderia ser explicada por vários fatores, dentre os quais os níveis de normalidade de tolerância à glicose que diminuiram, a falta de informação da população e a dificuldade de acesso ao serviço de saúde adequado.

Conquanto a porcentagem de diabetes gestacional tenha sido elevada neste estudo não foi observada nenhuma relação entre essa entidade patológica e as condições periodontais (saúde periodontal, gengivite e periodontite), possivelmente porque as gestantes estavam sob controle e se submeteram ao programa pré-natal, incluindo o tratamento odontológico.

Em estudo de Makiura e colaboradores 2008⁶⁰, verificou-se que os pacientes com periodontite e diabetes mellitus apresentaram alta porcentagem de *P. gingivalis* (53,3%), *T. forsythia* (86,7%), *T. denticola* (63,3%) e *P. intermedia* (33,3%). Observou-se, também, que as cepas de *P. gingivalis* possuidoras da fímbria tipo II estavam associadas com o nível glicêmico.

Neste trabalho, não foi observada associação entre alteração glicêmica e ocorrência de *Porphyromonas gingivalis* nas condições de periodonto saudável, gengivite e periodontite (p= 0,5466; p= 0,2188; p= 0,75), respectivamente. A ausência de associação também ocorreu com *Treponema denticola* nas mesmas condições, (periodonto sadio, gengivite e periodontite, respectivamente p= 0,1562; p= 0,3918; p= 0,5105). Da mesma forma, não houve relação entre a hiperglicemia com *Tannerella forsythia* (periodonto saudável, gengivite e periodontite, respectivamente p= 0,4056; p= 0,5; p= 0,6573), *Prevotella intermedia* (periodonto saudável, gengivite e periodontite, respectivamente, p= 0,5605; p= 0,5570; p= 0,5833) e complexo vermelho de Socransky (p= 1; p= 1; p= 0,5), concordando com os dados de Dasanayake e colaboradores (2008)⁵⁵.

É interessante destacar que Makiura e colaboradores (2008)⁶⁰ constataram a associação entre hiperglicemia e a presença desses microrganismos em gestantes com periodontite, e nesta pesquisa não se pode observar tal fato, pois a maioria das gestantes apresentou gengivite e aquelas com periodontite constituíram o grupo com menor número de voluntárias.

O presente estudo detectou o complexo vermelho de Socransky (*P. gingivalis* e *T. forsythia* em 66,7% das gestantes com periodontite e *T. denticola* em 55,5%) e *P. intermedia* (77,9%) por PCR, a partir de amostras coletadas com cones de papel absorvente, os quais se mostraram apropriados para tal finalidade, e também para a coleta de microrganismos de canal radicular.⁴⁰ Assim, os dados deste trabalho são corroborados pelo de Makiura e colaboradores 2008⁵⁹, que coletaram material de bolsa periodontal com curetas e detectaram os microrganismos pela PCR, embora a forma de coleta tenha sido diferente, os resultados foram muito próximos.

Estudos de Kaufman e Lamster 2000⁶¹, Könönen e colaboradores 2007⁶², Kulekci e colaboradores 2008⁶³ obtiveram bons resultados na detecção de microrganismos periodontopatogênicos a partir de amostras de saliva. Neste trabalho, optou-se pela coleta com cones de papel absorventes porque esse tipo de coleta mostrou-se rápida, segura e facilitava o posterior processamento, uma vez que a coleta de saliva exigiria frascos esterilizados previamente, aumentando assim, as fases de processamento e conseqüentemente as possíveis falhas. Além disso, a coleta de saliva é realizada, em aproximadamente, 5 minutos, sendo mais demorada quando comparada com a coleta com cones de papel absorvente. Outra forma rápida de coleta seria com a utilização de Salivette[®], mas este dificultaria o processamento e é mais caro do o que o

uso de cones de papel absorvente. Adicionalmente, poderia haver diferenças entre a saliva estimulada e não-estimulada, e acreditou-se que a coleta a partir do biofilme subgingival refletiria melhor a composição da microbiota desse sítio.

Embora não se tenha observado relação entre hipertensão e hiperglicemia com as condições de saúde periodontal nem presença dos microrganismos, verificou-se que a ocorrência desses peridontopatógenos estava relacionada com a condição periodontal das gestantes.

A íntima relação desses microrganismos com a gengivite e periodontite pode ser demonstrada neste estudo, onde *P. gingivalis* estava presente em 7 (14%) mulheres grávidas sem doença periodontal, 6 (22,2%) com gengivite e em 6 (66,7%) gestantes com doença periodontal, *T. denticola* estava presente em porcentagens semelhantes (12% em gestantes com saúde periodontal, 29,7% em gestantes com gengivite e 55,5% em gestantes com periodontite), bem como *T. forsythia* (12% em gestantes com periodonto sadio, 29,6% em gestantes com gengivite e 66,7% em gestantes com periodontite), e *P. intermedia* foi detectada em 22% de gestantes com condição periodontal saudável, 22,2% em mulheres grávidas com gengivite e 77,8% em gestantes com periodontite. Esses resultados mostraram que esses microrganismos aumentavam de proporções conforme a gravidade da doença periodontal, o complexo vermelho de Socranky (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia*), foi detectado em apenas uma gestante com gengivite (3,7%) e em 3 (33,3%) gestantes com periodontite.

Assim, os resultados microbiológicos deste estudo corroboram com os resultados de Griffen e colaboradores 1998⁶⁴, Socrasky e colaboradores 1998¹⁶, Socransky e Haffajee 2002¹⁷, Holt e Ebersole 2005⁶⁵, Houde e colaboradores 2006⁴ e Bodet e colaboradores 2008⁶ os quais observaram a alta ocorrência desses microrganismos nas periodontopatias. Além de sugerirem que o complexo vermelho estaria presente em maiores proporções em sítios com periodontite em progressão e maior severidade, indicando que essas bactérias formam um consórcio com potencial altamente patogênico.

4.7 Conclusões

a) Não houve associação entre as condições periodontais e/ou pressão arterial e hiperglicemia;

b) Não houve associação entre os microorganismos detectados e a pressão arterial e/ou hiperglicemia;

c) O complexo vermelho de Socransky foi encontrado somente nos casos de doença periodontal e não está relacionado com a pressão arterial e/ou hiperglicemia;

d) *P. intermedia* foi encontrada em maior número em pacientes com gengivite e periodontite do que em condições de peridonto saudável.

4.8 Referências

1. Listgrtner MA. The structure of dental plaque. *Periodontol 2000* 1994; 5: 52-65.
2. Albandar JM. Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2002; 29:177-206.
3. Khlgatian M, Nassar H, Chou HH, Gibson III FC, Genco CA. Fimbria-dependent activation of cell adhesion molecule expression in *Porphyromonas gingivalis*-infected endothelial cells. *Infect. Immun.* 2002; 70:257-267.
4. Houde V, Grenier D, Chandad F. Protective effects of grape seed proanthocyanidins against oxidative stress induced by lipopolysaccharides of periodontopathogens. *J Periodontol* 2006; 77: 1371-9.
5. Petersen PE, Bourgeois D, Ogawa H, Estupinan-Day S, NDIAYE, C. The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bull World Health Organ* 2005; 83: 661-9.
6. Bodet C La VD, Gafner S, Bergeron C, Grenier D. A licorice extract reduces lipopolysaccharide-induced proinflammatory cytokine secretion by macrophages and whole blood. *J Periodontol* 2008; 79: 1752-61.
7. Brown LJ, Johns BA, Wall TP. The economics of periodontal diseases. *Periodontol 2000* 2002; 29:223-34.
8. Petersen PE, Bourgeois D, Ogawa H, Estupinan-Day S, Ndiaye C. The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bull World Health Organ* 2005; 83:661-9.
9. Bodet C, Chandad F, Grenier D. Pathogenic potential of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* and *Tannerella forsythia*, the red bacterial complex associated with periodontitis. *Pathologie Biologie* 2007; 55:154–62.
10. Clark WB, Loe H. Mechanisms of initiation and progression of periodontal disease. *Periodontol 2000* 1993; 2: 72-82.
11. Albandar JM, Rams TE. Risk factors for periodontitis in children and young persons. *Periodontol 2000* 2002; 29:207-22.
12. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, et al. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol* 2001; 183: 3770–83.
13. Finegold SM. Anaerobic bacteria in human disease. New York: Academic Press; 1977.

14. Isenberg HD, D'amato RF. Indigenous and pathogenic microorganisms of human. In: Murray PR, editor. Manual of clinical microbiology. Washington: ASM Press, 1995. p. 5-18.
15. Slots J, Genco RJ. Black pigmented *Bacteroides* species and *Capnocytophaga* species and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease; virulence factors in colonization, survival and tissue destruction. J Dent Res 1984; 63: 412-21.
16. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. J Clin Periodontol 1998; 25:134-44.
17. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. Periodontol 2000 2002; 28:12-55.
18. Shah HN, Collins DM. *Prevotella*, a new genus to include *Bacteroides melaninogenicus* and related species formerly classified in the genus *Bacteroides* Int J Syst Bacteriol 1990; 40:205-8.
19. Beck J, Garcia R, Heiss G, Vokonas OS, Offenbacher S. Periodontal disease and cardiovascular disease. J Periodontol 1996; 67: 1123-37.
20. Tanner A, Maiden MF, Lee K, Shulman LB, Weber HP. Dental implant infections. Clin Infect Dis 1997; 25: 5213-7.
21. Kuniyoshi A, Okamoto Y, Tamagawa T, Matsuyama Y, FUKU H. A thymidine to cytosine substitution for codon 26 of exon 3 of apolipoprotein C-II gene in a patient with apolipoprotein C-II deficiency. Intern Med 1999 ;38:140-4.
22. Madianos PN, Lieff S, Murtha AP, Boggess KA, Auten RL Jr, Beck JD, Offenbacher S. Maternal periodontitis and prematurity. Part II: Maternal infection and fetal exposure. Ann Periodontol 2001; 6:175-82.
23. Santos-Pereira SA, Giraldo PC, Saba-Chujfi E, Amaral RL, Morais SS, Fachini AM, et al. Chronic periodontitis and pre-term labour in Brazilian pregnant women: an association to be analysed. J Clin Periodontol 2007; 34:208-13.
24. Chan EC, Siboo R, Keng T, Psarra N, Hurley R, Cheng SL, et al. *Treponema denticola* (ex Brumpt 1925) sp. nov., nom. rev., and identification of new spirochete isolates from periodontal pockets. Int J Syst Bacteriol 1993; 43:196-203.
25. Rôças I N, Siqueira Jr JF, Favieri A, Santos KRN. Detecção de *Treponema denticola* em casos de abscesso perirradicular agudo. Pesqui Odontol Bras 2000; 14: 209-12.

26. Asai Y, Jinno T, Igarashi H, Ohyama Y, Ogawa T. Detection and quantification of oral treponemes in subgingival plaque by real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3334 – 40.
27. Sela MN. Role of *Treponema denticola* in periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med* 2001; 12:399-413.
28. Holt SC, Ebersole JL. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the "red complex", a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol* 2000 2005; 38:72-122.
29. Okuda K, Ishihara K, Nakagawa T, Hirayama A, Inayama Y, Okuda K. Detection of *Treponema denticola* in atherosclerotic lesions. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 1114-7.
30. Kimizuka R, Kato T, Ishihara K, Okuda K. Mixed infections with *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola* cause excessive inflammatory responses in a mouse pneumonia model compared with mono-infections. *Microbes Infect* 2003; 5: 1357-62.
31. Foschi F, Izard J, Sasaki H, Sambri V, Prati C, Müller R, et al. *Treponema denticola* in disseminating endodontic infections. *J Dent Res* 2006; 85:761-5.
32. Gomes BP, Montagner F, Jacinto RC, Zaia AA, Randi Ferraz CC, Souza-Filho FJ. Polymerase chain reaction of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia* in primary endodontic infections. *J of Endod* 2007:1049-52.
33. Tanner AC, Haffer C, Bratthall GT, Visconti RA, Socransky SS. A study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man. *J Clin Periodontol* 1979; 6:278-307.
34. Kadowaki T, Baba A, Abe N, Takii R, Hashimoto M, Tsukuba T, et al. Suppression of pathogenicity of *Porphyromonas gingivalis* by newly developed gingipain inhibitors. *Mol Pharmacol* 2004; 66:1599-606.
35. Sharma A, Inagaki S, Honma K, Sfintescu HC, Baker PJ, Evans RT. *Tannerella forsythia*-induced Alveolar Bone Loss in Mice Involves Leucine-rich-repeat BspA Protein. *J Dent Res* 2005; 84:462-7.
36. Buchanan TA, Xiang AH. Gestational diabetes mellitus. *J Clin Invest* 2005; 115:485-91.
37. Friedlander AH, Chaudhuri G, Altman L. A past medical history of gestational diabetes: its medical significance and its dental implications. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 103:157-63.

38. Clothier B, Stringer M, Jeffcoat MK. Periodontal disease and pregnancy outcomes: exposure, risk and intervention. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2007; 21:451-66.
39. Xiong X, Buekens P, Vastardis S, Pridjian G. Periodontal disease and gestational diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 195:1086-9.
40. Tomazinho LF, Avila-Campos MJ. *Detection of Porphyromonas gingivalis, Porphyromonas endodontalis, Prevotella intermedia, and Prevotella nigrescens in chronic endodontic infection.* *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 103: 285-8.
41. Rosenn B, Miodovnick M, Combs CA, Khoury J, Siddiqi TA. Pre-conception management of insulin- dependent diabetes: improvement of pregnancy outcome. *Obstet Gynecol* 1991; 77: 846-9.
42. Cypryk K, Szymczak W, Czupryniak L, Sobczak M, Lewiński A. Gestational diabetes mellitus - an analysis of risk factors. *Endokrynol Pol* 2008; 59:393-7.
43. Passini JR, Nomura ML, Politano GT. Doença periodontal e complicações obstétricas: há relação de risco? *Rev Bras Ginecol Obstet* 2007; 29: 372-7.
44. Avila-Campos MJ, Carvalho MAR, Zelante F. Distribution of biotypes and antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Oral Microbiol Immunol* 1995; 10, 382-4.
45. 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; 11:266-73.
46. Taani DQ, Habashneh R, Hammad MM, Batieha A. The periodontal status of pregnant women and its relationship with socio-demographic and clinical variables. *J Oral Rehabil* 2003; 30:440-5.
47. Canakci V, Canakci CF, Yildirim A, Ingec M, Eltas A, Erturk A. Periodontal disease increases the risk of severe pre-eclampsia among pregnant women. *J Clin Periodontol* 2007; 34:639-45.
48. Ruma M, Boggess K, Moss K, Jared H, Murtha A, Beck J, Offenbacher S. Maternal periodontal disease, systemic inflammation, and risk for preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198:389.e1-5.

49. Offenbacher S, Katz V, Fertik G, Collins J, Boyd D, Maynor G, et al. Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. *J Periodontol* 1996; 67:1103-13.
50. Radnai M, Gorzó I, Urbán E, Eller J, Novák T, Pál A. Possible association between mother's periodontal status and preterm delivery. *J Clin Periodontol* 2006; 33:791-6.
51. Beck J, Garcia R, Heiss G, Vokonas PS, Offenbacher S. Periodontal disease and cardiovascular disease. *J Periodontol* 1996; 67:1123-37.
52. Jeffcoat MK, Geurs NC, Reddy MS, Goldenberg RL, Hauth JC. Current evidence regarding periodontal disease as a risk factor in preterm birth. *Ann Periodontol* 2001; 6:183-8.
53. Louro PM, Fiori HH, Louro FP, Steibel J, Fiori RM. Doença periodontal na gravidez e baixo peso ao nascer. *J. Pediatr* 2001 ; 77: 23.
54. Kunnen A, Blaauw J, Van Doormaal JJ, Van Pampus MG, Van Der Schans CP, Aarnoudse JG, et al. Women with a recent history of early-onset pre-eclampsia have a worse periodontal condition. *J Clin Periodontol* 2007; 34: 202-7.
55. Pitiphat W, Joshipura KJ, Gillman MW, Williams PL, Douglass CW, Rich-Edwards JW. Maternal periodontitis and adverse pregnancy outcomes. *Community Dent Oral Epidemiol* 2008; 36:3-11.
56. Albandar JM, Kingman A, Brown LJ, Löe H. Gingival inflammation and subgingival calculus as determinants of disease progression in early-onset periodontitis. *J Clin Periodontol* 1998; 25:231-7.
57. Coutinho T, Teixeira MTB, Dain S, Sayd JD, Coutinho LM. Adequação do processo de assistência pré-natal entre as usuárias do sistema único de saúde em Juiz de Fora - MG. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2003; 25: 717-24.
58. Dasanayake AP, Chhun N, Tanner AC, Craig RG, Lee MJ, Moore AF, et al. Periodontal pathogens and gestational diabetes mellitus. *J Dent Res* 2008; 87:328-33.
59. Chapper A, Munch A, Schermann C, Piacentini CC, Fasolo MT. Obesity and periodontal disease in diabetic pregnant women. *Braz Oral Res* 2005; 19: 83-7.

60. Makiura N, Ojima M, Kou Y, Furuta N, Okahashi N, Shizukuishi S, et al. Relationship of *Porphyromonas gingivalis* with glycemic level in patients with type 2 diabetes following periodontal treatment. *Oral Microbiol Immunol*. 2008; 23: 348-51.
61. Kaufman E, Lamster IB. Analysis of saliva for periodontal diagnosis--a review. *J Clin Periodontol* 2000; 27:453-65.
62. Könönen E, Paju S, Pussinen PJ, Hyvönen M, Di Tella P, Suominen-Taipale L, et al. Population-based study of salivary carriage of periodontal pathogens in adults. *J Clin Microbiol* 2007; 45:2446-51.
63. Kulekci G, Leblebicioglu B, Keskin F, Ciftci S, Badur S. Salivary detection of periodontopathic bacteria in periodontally healthy children. *Anaerobe* 2008; 14:49-54.
64. Griffen AL, Becker MR, Lyons SR, Moeschberger ML, Leys EJ. Prevalence of *Porphyromonas gingivalis* and periodontal health status. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 3239-42.
65. Holt SC, Ebersole JL. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the "red complex", a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol* 2000 2005;38:72-122.

5 Anexos



Anexo A

Comitê de Ética



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP-

OF. 122/2007
CEP
SFCD/bri

Araçatuba, 27 de setembro de 2007.

Referência Processo FOA 2007-02032

O Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa desta Unidade, tendo em vista o parecer favorável da relatora que analisou o projeto "AVALIAÇÃO DE ESTRESSE E GLICEMIA CAPILAR EM GESTANTES COM E SEM DOENÇA PERIODONTAL DE UM MUNICÍPIO DO INTERIOR DE SÃO PAULO-BRASIL" expede o seguinte parecer:

Aprovado:

Informamos a Vossa Senhoria que de acordo com as normas contidas na resolução CNS 215, deverá ser enviado relatório parcial em 27/09/2008 e o relatório final em 27/09/2009.

[Handwritten Signature]
Prof. Dr. Stefan Fiuza de Carvalho Dekon
Coordenador do CEP

Ilma. Senhora
Dr^a. DÓRIS HISSAKO SUMIDA
Araçatuba-SP-

Ciente.De acordo.

01/10/07

[Handwritten Signature]
Dr^a. Dóris Hissako Sumida

Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária –
Rua José Bonifácio, 1193 CEP 16015-050 Araçatuba – SP
Tel (18) 620-3203 E-mail: diretor@foa.unesp.br

Anexo B

The International Journal of Infectious Diseases- Intruções aos autores

Guide for Authors

Official Publication of the International Society for Infectious Diseases

Please click [here](#), to submit your manuscript through our online submission system.

If you have any problem submitting your paper online please contact Annette Fowler at IJID@elsevier.com

The *International Journal of Infectious Diseases* (IJID) is published bimonthly by the International Society for Infectious Diseases. *IJID* welcomes manuscripts in the following categories. **Please note that from May 2009 all accepted papers to the International Journal of Infectious Diseases will be published online only due to the volume of manuscripts received:**

Original articles on infectious disease topics of broad interest. We particularly welcome papers that discuss epidemiological aspects of international health, clinical reports, clinical trials and reports of laboratory investigations. Original articles should not exceed 5000 words in length.

Reviews on topics of importance to readers in diverse geographic areas. These should be comprehensive and fully referenced. Maximum length 6000 words.

Perspectives are papers that advance a hypothesis or represent an opinion relating to a topic of current interest or importance. They should be fully referenced, and should not exceed 2000 words in length.

Correspondence relating to papers recently published in the Journal, or containing brief reports of unusual or preliminary findings. Maximum length 400 words, one table or figure and a maximum of 10 references.

Case Reports must be carefully documented and must be of importance because they illustrate or describe unusual features or have important therapeutic implications. They should also include a brief but complete review of the relevant literature. Maximum length 2000 words, should include an abstract and a maximum of 2 tables or figures.

Medical Imagery: We would like to invite authors to submit interesting images with a maximum of 500 words of explanation of the image and 10 references. Please note that it is imperative that appropriate permissions have been sought from subjects for the image to be used.

Manuscript Submission

Manuscripts should be submitted online at: <http://ees.elsevier.com/ijid>

Covering letter: Manuscripts must be accompanied by a covering letter signed by ALL the authors stating that the current "Instructions to Authors" have been read, thereby indicating compliance with those instructions and acceptance of the conditions posed. The letter should state that the authors have seen and agreed to the submitted version of the paper, that all who have been acknowledged as contributors or as providers of personal communications have agreed to their inclusion, that the material is original and that it has been neither published elsewhere nor submitted for publication simultaneously. In addition the letter should state that if accepted, the paper will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, without written consent of the copyright holder.

A scanned image of the signed covering letter should be submitted via the online submission system. If this is not possible the letter should be posted or faxed to the Editorial Office.

It is strongly advised for Authors to suggest three non-conflicted peer reviewers with expertise as much for content as for methodology of their submission, with contact details including email address. This will significantly help the editorial office in facilitating timely external peer review.

Conflict of Interest: manuscripts cannot be published until we have received a signed Conflict of Interest Declaration form. You may obtain a Conflict of Interest Declaration document to be completed from the link below or upon request from the IJID Editorial Office IJID@elsevier.com. You are strongly advised to provide the declaration at the time you first submit your paper. A scanned image of the signed declaration should be submitted via the online submission system. If this is not possible the declaration should be posted or faxed to the Editorial Office.

[Conflict of Interest Declaration](#) (pdf format) [To read the PDF file you must have Adobe Acrobat Reader installed on your system. [Download a free copy of Adobe Acrobat Reader.](#)
<http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>]

Upon acceptance for publication, manuscripts will become the permanent property of the International Society for Infectious Diseases and may not be published elsewhere without the permission of the Society.

Manuscript format

General: The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the wordprocessor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. Do not embed 'graphically designed' equations or tables, but prepare these using the wordprocessor's facility.

When preparing tables, preferably use a table grid and use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts. Do not import the figures into the text file but instead, indicate their approximate locations directly in the electronic text. Each figure must be submitted separately as requested at the file upload stage of submission. For further information on the preparation of electronic illustrations, please refer to the "Tables and Figures" section.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spellchecker' function of your wordprocessor.

The entire manuscript, including the abstract, acknowledgements, references, tables, figures, and legends, must be double spaced, with a margin of at least 2.5 cm. On assignment to an editor, each manuscript will be assigned a number, which will be provided to the author. The author should refer to this number in all ensuing correspondence. All manuscripts (including correspondence) will be subject to peer review. A rapid response to the authors will be more feasible if the manuscript is prepared as stipulated in the Instructions to Authors. Expressions of Latin origin, for example, *in vivo*, *et al.*, *per se* should not be in italics.

Articles must be written in English. Authors may consider using a language editing service to improve English language usage and written quality of a paper. A number of editing companies will provide their services to our authors at competitive rates at www.elsevier.com/locate/languagepolishing. Authors in Japan kindly note that, upon request, Elsevier Japan will provide a list of people who can check and improve the English of an article before submission. Contact our Tokyo office: Elsevier Japan, 4F Higashi-Azabu, 1-Chome Bldg, 1-9-15 Higashi-Azabu, Minato-ku, Tokyo 106-0044, Japan, Tel.: (+81) (3) 5561 5037; Fax: (+81) (3) 5561 5047; e-mail: jp.info@elsevier.com

Numbers and measurements: Use decimal points (not commas); use a space for thousands (10 000 and above).

Title Page: The title page must include each author's full name and academic affiliations. The author to whom correspondence concerning the manuscript and to whom requests for reprints should be directed must be designated, as well as the corresponding address, telephone, fax, and e-mail. Manuscripts that were presented as part of a meeting must include the title, location, and date of the meeting on the title

page. *Abstract*: A structured abstract of 150 to 200 words must be provided as part of each manuscript, except correspondence. The abstract should consist of four paragraphs, labelled with the following headings: objectives, design or methods, results, conclusions, or alternative headings appropriate to the format of the paper. The abstract should not refer to footnotes or references.

Keywords: Immediately after the abstract, provide a maximum of six keywords, avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be used.

Acknowledgements: Place acknowledgements, including information on grants received, before the references, in a separate section, and not as a footnote on the title page.

References: Indicate references by superscript numbers in the text.

Number the references in the list in the order in which they appear in the text.

Examples:

Reference to a journal publication:

1. Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *J Sci Commun* 2000;163:51-9.

Reference to a book:

2. Strunk Jr W, White EB. *The elements of style*. 3rd ed. New York: Macmillan; 1979. Reference to a chapter in an edited book:

3. Mettam GR, Adams LB. How to prepare an electronic version of your article. In: Jones BS, Smith RZ, editors. *Introduction to the electronic age*, New York: E-Publishing Inc; 1999, p. 281-304.

Note shortened form for last page number. e.g., 51-9, and that for more than six authors the first six should be listed followed by 'et al.' For further details you are referred to "Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals" (*J Am Med Assoc* 1997;277:927-934) (see also <http://www.nejm.org/general/text/requirements/1.htm>) References to personal communications and to unpublished material must be incorporated, in parentheses, at the appropriate place in the text. References to congress abstracts should be cited in the reference section if they have been published previously in an official book of abstracts from the congress; otherwise they should be incorporated in the text. The author is responsible for the accuracy and completeness of the references.

Citing and listing of web references: Such article citations should include the DOI (digital object identifier).

For example:

Boutayeb A, Twizell EH, Achouayb K, Chetouani A. A mathematical model for the burden of diabetes and its complications. *Biomed Eng Online* 2004;3:20. doi:10.1186/1475-925X-3-20. The DOI is a persistent identifier, which remains with the article even after it is published in print. See  <http://www.doi.org> for details.

If the reference does not have a DOI, the full URL should be given. Any further information, if known (author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given.

Style: For stylistic questions, authors are referred to the Chicago Manual of Style, 14th Edition, 1993, published by the University of Chicago Press.

Abbreviations: Abbreviations in the text are discouraged. If a term appears repeatedly, however, an abbreviation may be introduced parenthetically at the initial mention of the term and used thereafter in place of the term. Abbreviations of conventional or SI units of measurement may be used without introduction.

References to drugs: The generic name of a drug should be used as a general rule; however, the full name or the commercial name of the drug, as well as the name and location of the supplier, may be given in addition if appropriate.

Tables and Figures: Data reported either in a table or in a figure should be illustrative of information reported in the text, but should not be redundant with the text. Each table must be presented at the end of the manuscript on a separate page and numbered in order of appearance in the text. The title of the table must appear after the number. Each table must include appropriate headings. Footnotes, when necessary, must be identified by letters. Units of measurement must be clearly indicated.

Figures should not be imported into the manuscript text file but submitted separately as requested at the file upload stage of submission. A short detailed legend should be provided for each figure. All legends must be collected together on a separate page following the body of the manuscript.

If, together with your accepted article, you submit usable colour figures then we will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in colour on the web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in colour in the printed version. For colour reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. For further information on the preparation of electronic artwork, please see  <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications which can arise by converting colour figures to 'grey scale' (for the printed version should you not opt for colour in print) please submit in addition usable black and white prints corresponding to all the colour illustrations.

Photomicrographs should include a micron bar or other appropriate scale marking.

Bacterial nomenclature: Microbes should be referred to by their scientific names according to the binomial system used in the latest edition of *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (The Williams and Wilkins Co.). When first mentioned, the name should be in full and written in italics. Thereafter, the genus should be abbreviated to its initial letter, e.g. '*S. aureus*' not '*Staph. Aureus*'. If abbreviation is likely to cause confusion or render the intended meaning(s) unclear the names of organisms should be given in full. Only those names included in the Approved Lists of Bacterial Names (*Int J Syst Bacteriol* 1980; 30: 225-420) and/or which have been validly published in the *Int J Syst Bacteriol* since January 1980 are acceptable. If there is a good reason to use a name that does not have standing in nomenclature, it should be enclosed in quotation marks and an appropriate statement concerning its use made in the text (e.g. *Int J Syst Bacteriol* 1980; 30: 547-556).

Symbols for units of measurement must accord with the Système International (SI): However, blood pressure should be expressed in mmHg and haemoglobin as g/dl.

GenBank/DNA sequence linking: Many Elsevier journals cite "gene accession numbers" in their running text and footnotes. Gene accession numbers refer to genes or DNA sequences about which further information can be found in the databases at the National Center for Biotechnical Information (NCBI) at the National Library of Medicine. Elsevier authors wishing to enable other scientists to use the accession numbers cited in their papers via links to these sources, should type this information in the following manner:

For *each and every* accession number cited in an article, authors should type the accession number in **bold, underlined text**. Letters in the accession number should always be capitalised. (See example below). This combination of letters and format will enable Elsevier's typesetters to recognise the relevant texts as accession numbers and add the required link to GenBank's sequences.

Example: "GenBank accession nos. **AI631510**, **AI631511**, **AI632198**, and **BF223228**), a B-cell tumor from a chronic lymphatic leukemia (GenBank accession no. **BE675048**), and a T-cell lymphoma (GenBank accession no. **AA361117**)".

Authors are encouraged to check accession numbers used very carefully. **An error in a letter or number can result in a dead link.** In the final version of the *printed article*, the accession number text will not appear bold or underlined. In the final version of the *electronic copy*, the accession number text will be

linked to the appropriate source in the NCBI databases enabling readers to go directly to that source from the article.

Supplementary material submission. Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, movies, animation sequences, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please ensure that data is provided in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. Upon acceptance of an article, authors will be asked to transfer copyright (for more information on copyright see <http://www.elsevier.com/wps/find/authorsview.authors/copyright>). This transfer will ensure the widest possible dissemination of information. A letter will be sent to the corresponding author by email, confirming receipt of the manuscript, together with a form facilitating the transfer of copyright. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases : contact Elsevier's Rights Department, Philadelphia, PA, USA: Tel. (+1) 215 238 7869; Fax (+1) 215 238 2239; e-mail healthpermissions@elsevier.com. Requests may also be completed online via the Elsevier homepage (<http://www.elsevier.com/locate/permissions>).

Ethical Consideration. Work on human beings that is submitted to *International Journal of Infectious Diseases* should comply with the principles laid down in the Declaration of Helsinki; Recommendations guiding physicians in biomedical research involving human subjects. Adopted by the 18th World Medical Assembly, Helsinki, Finland, June 1964, amended by the 29th World Medical Assembly, Tokyo, Japan, October 1975, the 35th World Medical Assembly, Venice, Italy, October 1983, and the 41st World Medical Assembly, Hong Kong, September 1989. The manuscript should contain a statement that the work has been approved by the appropriate ethical committees related to the institution(s) in which it was performed and that subjects gave informed consent to the work. Studies involving experiments with animals must state that their care was in accordance with institution guidelines.

Studies on patients or volunteers require ethics committee approval and informed consent which should be documented in your paper. Patients have a right to privacy. Therefore identifying information, including patients' images, names, initials, or hospital numbers, should not be included in videos, recordings, written descriptions, photographs, and pedigrees unless the information is essential for scientific purposes and you have obtained written informed consent for publication in print and electronic form from the patient (or parent, guardian or next of kin where applicable). If such consent is made subject to any conditions, Elsevier must be made aware of all such conditions. Written consents must be provided to Elsevier on request. Even where consent has been given, identifying details should be omitted if they are not essential. If identifying characteristics are altered to protect anonymity, such as in genetic

pedigrees, authors should provide assurance that alterations do not distort scientific meaning and editors should so note. If such consent has not been obtained, personal details of patients included in any part of the paper and in any supplementary materials (including all illustrations and videos) must be removed before submission.

Randomised Controlled Trials. All randomised controlled trials submitted for publication in *International Journal of Infectious Diseases* should include a completed Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT) flow chart. Please refer to the CONSORT statement website at <http://www.consort-statement.org/?0=1001> for more information. *International Journal of Infectious Diseases* has adopted the proposal from the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) which require, as a condition of consideration for publication of clinical trials, registration in a public trials registry. Trials must register at or before the onset of patient enrolment. The clinical trial registration number should be included at the end of the abstract of the article. For this purpose, a clinical trial is defined as any research project that prospectively assigns human subjects to intervention or comparison groups to study the cause-and-effect relationship between a medical intervention and a health outcome. Studies designed for other purposes, such as to study pharmacokinetics or major toxicity (e.g. phase I trials) would be exempt. Further information can be found at www.icmje.org.

Conflicts of Interest. At the end of the text, under a subheading "Conflict of interest statement" all authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organisations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding.

Authorship. All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

Acknowledgement. All contributors who do not meet the criteria for authorship as defined above should be listed in an acknowledgements section. Examples of those who might be acknowledged include a person who provided purely technical help, writing assistance, or a department chair who provided only general support. Authors should disclose whether they had any writing assistance and identify the entity that paid for this assistance.

Role of the Funding Source. All sources of funding should be declared as an acknowledgement at the end of the text. Authors should declare the role of study sponsors, if any, in the study design, in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the manuscript; and in the decision to submit the manuscript for publication. If the study sponsors had no such involvement, the authors should so state.

Proofs. One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding author, to be checked for typesetting/editing. No changes in, or additions to, the accepted (and subsequently edited) manuscript will be allowed at this stage. Proofreading is solely the responsibility of the author. A form with queries from the copyeditor may accompany your proofs. Please answer all queries and make any corrections or additions required.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>

Anexo C

Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil - Instruções aos autores

Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil é uma publicação trimestral (março, junho, setembro e dezembro) cuja missão é a divulgação de artigos científicos englobando o campo da saúde materno infantil. As contribuições devem abordar os diferentes aspectos da saúde materna, saúde da mulher e saúde da criança, contemplando seus múltiplos determinantes biomédicos, socioculturais e epidemiológicos. São aceitos trabalhos nas seguintes línguas: português, espanhol e inglês. A seleção baseia-se no princípio da avaliação pelos pares (*peer review*) - especialistas nas diferentes áreas da saúde da mulher e da criança.

Direitos autorais

Os trabalhos publicados são propriedade da Revista, vedada a reprodução total ou parcial e a tradução para outros idiomas, sem a autorização da mesma. Os trabalhos deverão ser acompanhados da Declaração de Transferência dos Direitos Autorais, assinada pelos autores. Os conceitos emitidos nos trabalhos são de responsabilidade exclusiva dos autores.

Comitê de Ética

A declaração de Helsinki de 1975, em 2000 deve ser respeitada.

Também serão exigidos para os artigos nacionais a Declaração de Aprovação do Comitê de Ética conforme as diretrizes da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) e, para os artigos do exterior a Declaração de Aprovação do Comitê de Ética do local onde a pesquisa tiver sido realizada.

Critérios para aprovação e publicação de artigo

Além da observação das condições éticas da pesquisa, a seleção de um manuscrito levará em consideração a sua originalidade, prioridade e oportunidade. O *rationale* deve ser exposto com clareza exigindo-se conhecimento da literatura relevante e adequada definição do problema estudado. Dois revisores externos serão consultados para avaliação do mérito científico. No caso de discordância entre eles, será solicitada a opinião de um terceiro revisor. A partir de seus pareceres e do julgamento do Comitê Editorial, o manuscrito receberá uma das seguintes classificações: 1) aceito; 2) recomendado, mas com alterações; 3) não aprovado. Na classificação 2 os pareceres serão enviados aos(s) autor(es), que terão oportunidades de revisão; na condição 3, o manuscrito será devolvido ao(s) autor(es); no caso de aceite, o artigo será publicado de acordo com o fluxo dos manuscritos e o cronograma editorial da Revista.

Seções da Revista

Editorial

Revisão apresentação do histórico da evolução científica e avaliação crítica de um tema, tendo como suporte para a investigação a literatura considerada relevante. Revisões sistemáticas são recomendadas quando oportunas e terão prioridade frente a revisões narrativas.

Artigos Originais divulgam os resultados de pesquisas inéditas e permitem a reprodução destes resultados dentro das condições citadas no mesmo. Para os artigos originais recomenda-se seguir a estrutura convencional: *Introdução*: onde se apresenta a relevância do tema, as hipóteses iniciais, a justificativa para a pesquisa e o objetivo, que deve ser claro e breve; *Métodos*: descreve a população estudada, os critérios de seleção e exclusão da amostra, define as variáveis utilizadas e informa a maneira que permite a reprodutividade do estudo, em relação a procedimentos técnicos e instrumentos utilizados, além da análise estatística; *Resultados*: são apresentados de forma concisa, clara e objetiva, em seqüência lógica e apoiados nas ilustrações: tabelas e figuras - gráficos, desenhos, fotografias; *Discussão*: interpreta os resultados obtidos e verifica a compatibilidade entre estes resultados e os citados na literatura, ressaltando aspectos novos e importantes, vinculando as conclusões aos objetivos do estudo. Aceitam-se outros formatos, quando pertinente, de acordo com a natureza do trabalho. Os trabalhos deverão ter no máximo 25 páginas e recomenda-se citar até 30 referências bibliográficas.

Notas de Pesquisa relatos concisos sobre um tema original (máximo de cinco páginas).

Ponto de Vista opinião qualificada sobre saúde materno-infantil (a convite dos editores).

Resenhas crítica de livro publicado nos últimos dois anos ou em redes de comunicação on line (máximo de cinco páginas).

Cartas crítica a trabalhos publicados recentemente na Revista (máximo de três páginas).

Artigos especiais textos cuja temática seja considerada de relevância pelos Editores e que não se enquadrem nas categorias acima mencionadas.

Forma e preparação de manuscritos

Apresentação dos manuscritos

Os manuscritos encaminhados à Revista deverão ser digitados no programa Microsoft Word for Windows, em fonte Times New Roman, tamanho 12, em espaço duplo, impresso em duas vias, acompanhados por um CD-Rom; podem também, ser enviados via *e-mail*.

Estrutura do manuscrito

Página de identificação título do trabalho: em português ou no idioma do texto e em inglês, nome e endereço completo dos autores e respectivas instituições; indicação do autor responsável pela troca de correspondência; fontes de auxílio: citar o nome da agência financiadora e o tipo de auxílio recebido.

Página dos Resumos deverão ser elaborados dois resumos para os Artigos Originais, Notas de Pesquisa e Artigos de Revisão sendo um em português ou no idioma do texto e outro em inglês, o abstract. Os resumos dos Artigos Originais e Notas de Pesquisa deverão ter no máximo 250 palavras e devem ser estruturados: Objetivos, Métodos, Resultados, Conclusões. Nos Artigos de Revisão o formato narrativo dispensa o uso de resumo estruturado o qual deverá ter no máximo 150 palavras.

Palavras-chave para identificar o conteúdo dos trabalhos os resumos deverão ser acompanhados de três a dez palavras-chave em português e inglês. A Revista utiliza os *Descritores em Ciências da Saúde* (DECS) da Metodologia LILACS, e o seu correspondente em inglês o Medical Subject Headings (MESH) do MEDLINE, adequando os termos designados pelos autores a estes vocabulários.

Página das Ilustrações as tabelas e figuras (gráficos, desenhos, mapas, fotografias) deverão ser inseridas em páginas à parte.

Página da Legenda as legendas das ilustrações deverão seguir a numeração designada pelas tabelas e figuras, e inseridas em folha à parte.

Agradecimentos à colaboração de pessoas, ao auxílio técnico e ao apoio econômico e material, especificando a natureza do apoio.

Referências devem ser organizadas na ordem em que são citadas no texto e numeradas consecutivamente; não devem ultrapassar o número de 30 referências. A Revista adota as normas do Committee of Medical Journals Editors (Grupo de Vancouver), com algumas alterações; siga o formato dos exemplos:

Artigo de revista

Lopes MCS, Ferreira LOC, Batista Filho M. Uso diário e semanal de sulfato ferroso no tratamento de anemia em mulheres no período reprodutivo. *Cad Saúde Pública* 1999; 15: 799-808.

Livro

Alves JGB, Figueira F. *Doenças do adulto com raízes na infância*. Recife: Bagaço; 1998.

Editor ou Compilador como autor

Norman IJ, Redfern SJ, editors. *Mental health care for elderly people*. New York: Churchill Livingstone; 1996.

Capítulo de livro

Timmermans PBM. Centrally acting hipotensive drugs. In: Van Zwieten PA, editor. *Pharmacology of antihypertensive drugs*. Amsterdam: Elsevier; 1984. p. 102-53

Congresso considerado no todo

Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North Holland; 1992.

Trabalho apresentado em eventos

Bengtson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, editors. MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North Holland; 1992. p. 1561-5

Dissertação e Tese

Pedrosa JIS. Ação dos autores institucionais na organização da saúde pública no Piauí: espaço e movimento [dissertação mestrado]. Campinas: Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas; 1997.

Diniz AS. Aspectos clínicos, subclínicos e epidemiológicos da hipovitaminose A no estado da Paraíba [tese doutorado]. Recife: Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco; 1997.

Documento em formato eletrônico

Pellegrini Filho A. La BVS y la democratización del conocimiento y la información en salud. 1999. Disponível em URL: [Http://www.bireme.br/bvs/reunião/doc/pellegrini.htm](http://www.bireme.br/bvs/reunião/doc/pellegrini.htm) [2000 Jan 16]

Envio de manuscritos

Os trabalhos deverão ser encaminhados para:

Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil

Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira – IMIP

Secretaria Executiva

Rua dos Coelhos, 300. Boa Vista

Recife, PE, Brasil CEP 50.070-550

Tel / Fax: +55 +81 2122.4141

E mail: revista@imip.org.br

Site: www.imip.org.br

Livros Grátis

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

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)