



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

FRANCISCO ARTUR FORTE OLIVEIRA

**ANÁLISE MOLECULAR DE BACTÉRIAS ORAIS EM PLACA DENTAL, SALIVA E
VÁLVULAS CARDÍACAS DE PACIENTES COM DOENÇA CARDIOVASCULAR**

FORTALEZA

2013

FRANCISCO ARTUR FORTE OLIVEIRA

**ANÁLISE MOLECULAR DE BACTÉRIAS ORAIS EM PLACA DENTAL, SALIVA E
VÁLVULAS CARDÍACAS DE PACIENTES COM DOENÇA CARDIOVASCULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como um dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Clínica Odontológica

**Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula
Negreiros Nunes Alves**

FORTALEZA

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

O47a

Oliveira, Francisco Artur Forte.

Análise molecular de bactérias orais em placa dental, saliva e válvulas cardíacas de pacientes com doença cardiovascular/ Francisco Artur Forte Oliveira. – 2013.

49 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem. Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Fortaleza, 2013.

Área de Concentração: Clínica odontológica.

Orientação: Profa. Dra. Ana Paula Negreiros Nunes Alves.

1. Valvas Cardíacas. 2. Cárie Dentária. 3. Periodontite. 4. Streptococcus mutans. 5. Prevotella intermedia. 6. Porphyromonas gingivalis. 7. Treponema denticola. 8. Placa Dentária. 9. Saliva. 10. DNA. 11. Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real. I.Título.

CDD 617.632

FRANCISCO ARTUR FORTE OLIVEIRA

**ANÁLISE MOLECULAR DE BACTÉRIAS ORAIS EM PLACA DENTAL, SALIVA E
VÁLVULAS CARDÍACAS DE PACIENTES COM DOENÇA CARDIOVASCULAR**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Aprovada em:

BANCA EXAMINADORA

Profª. Dra. Ana Paula Negreiros Nunes Alves (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Carlos Roberto Martins Rodrigues Sobrinho
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Danilo Lopes Ferreira Lima
Universidade de Fortaleza - Unifor

*A **Deus**, por traçar em minha vida um caminho
de conhecimento, amor e honestidade.*

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, **Sônia**, ao meu pai, **William**, aos meus irmãos **William Filho** e **Emanuela**, pela educação, amor e carinho.

À minha noiva, **Clarissa**, pela grande parceria, pessoal e profissional, que foi imprescindível para superação de momentos difíceis e construção do conhecimento. A seus pais, **Rosa** e **Luiz**, seus irmãos, **Gabriela** e **Luiz Eduardo**, pelo amor, carinho e acolhimento.

À minha orientadora, **Professora Ana Paula Negreiros Nunes Alves**, pelos grandes ensinamentos científicos, éticos e morais transmitidos, fazendo-me ter profunda admiração profissional e pessoal. Também sou imensamente grato pela sua disponibilidade e palavras de incentivo. Agradeço a oportunidade que me foi dada, de viver dois anos dos mais importantes da minha vida.

Ao meu coorientador **Professor Fabrício Bitu Sousa**, ao qual devo grande parte da minha formação profissional, pela antiga parceria científica. Obrigado pela confiança, oportunidades, carinho e momentos de alegria.

Ao meu coorientador **Mário Rogério Lima Mota**, pela oportunidade de conviver ao lado de um ser humano inteligente, simples e acessível, não medindo esforços para transmitir toda a sua sabedoria.

À minha coorientadora **Raquel Carvalho Montenegro**, pelo imenso prazer em conhecê-la, pela hospitalidade, em Belém do Pará, pelos ensinamentos e auxílio na realização das análises moleculares.

Ao meu coorientador **Carlos Roberto Martins Rodrigues Sobrinho**, por ter cedido o espaço e permitido o acesso, aos pacientes com doença valvar, no HUWC.

À equipe médica, de enfermagem e de secretárias, especialmente **Socorro** e **Fátima**, do Hospital de Messejana, pelo acolhimento, respeito e ajuda na realização da pesquisa.

Aos meus **colegas** do curso de mestrado, em especial, **Renato, Phelype, Jorgiana, Bruna, Jandenilson, Nicolly, Adriana, Clarissa, Carolina, Malena, Thales, Paulo, Filipe, Galyléia, Dennys, André e Renata**, pela amizade, companhia e troca de experiências.

Aos integrantes do **Núcleo de Estudos em Pacientes Especiais (NEPE)**, **monitores de patologia bucal** e **alunos de iniciação científica**, pelo carinho, experiência e aprendizado.

Aos colegas da Universidade Federal do Pará (UFPA), em especial, aos Professores **Raquel, Rommel e André**, e aos alunos, **Aline, Michelle, Camile, Carol e Taissa**, pelo acolhimento e auxílio na realização da análise molecular da pesquisa.

Ao **Programa de Pós-graduação em Odontologia da UFC**, pela honra de eu ter feito parte e lutado pelo seu crescimento e reconhecimento.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (**FUNCAP**) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**), pela concessão da bolsa de estudos.

“A dúvida é o começo da sabedoria.”

(Segurs)

RESUMO

Atualmente, cada vez mais se tem evidências do efeito da condição oral na saúde geral dos indivíduos, através de uma série de estudos epidemiológicos e biológicos que mostram uma relação entre a boca e diversas doenças, incluindo as doenças cardiovasculares. Desordens estruturais e nas funções das válvulas cardíacas representam uma importante causa de morbidade e mortalidade cardiovascular no Brasil, sendo alguns processos, como a estenose aórtica degenerativa, mais recentemente associados a agentes infecciosos. O objetivo desta pesquisa foi identificar bactérias cariogênicas e periodontopatogênicas na placa dental, saliva e válvulas cardíacas, sem endocardite clínica, de pacientes com doença valvar, correlacionando esses achados à condição bucal dos indivíduos. Avaliação, quanto às doenças cárie e periodontal, foi realizada, através dos índices CPO-D (Dentes Permanentes Cariados, Perdidos e Obturados) e PSR (Registro Periodontal Simplificado), respectivamente. Amostras de placa dental supragengival, subgengival, saliva e válvula cardíaca foram coletadas para investigação da presença de DNA, através de PCR (Reação em Cadeia de Polimerase) em tempo real, de *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*), *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) e *Treponema denticola* (*T. denticola*). Um total de 114 amostras foi coletado de 42 pacientes com média de idade de 55.6 ± 13.8 anos. A média de dentes perdidos devido à cárie, por paciente, foi em torno de 23.52 ± 9.41 e, segundo o maior grau de doença periodontal observado no indivíduo, excluindo-se os pacientes desdentados totais (44.0%), bolsa superior a 4 mm (43.4%) e o cálculo dental (34.7%) esteve presente em um maior número de pacientes. A análise molecular das amostras bucais revelou alta frequência de *S. mutans* e *P. intermedia* nas placas supragengival, subgengival e saliva de pacientes dentados e desdentados (variando entre 60.0% e 100.0%), enquanto que *P. gingivalis* e *T. denticola* estiveram presentes em menor número de amostras bucais (variando entre 17.6% e 64.0%). O micro-organismo mais frequentemente encontrado nas amostras valvares foi o *S. mutans* (89.3%), seguido da *P. intermedia* (19.1%), *P. gingivalis* (4.2%) e *T. denticola* (2.1%). Diferença significativa foi encontrada entre a presença de *P. intermedia*, *P. gingivalis* e *T. denticola* na válvula e na placa dental, diferentemente do *S. mutans*. A identificação de bactérias orais, principalmente *S. mutans*, em válvulas cardíacas de pacientes com elevada experiência prévia de cárie e ocorrência de gengivite/periodontite, sugere o possível envolvimento desses patógenos nas doenças valvares.

Palavras-chave: Valvas Cardíacas. Cárie Dentária. Periodontite. Streptococcus mutans. Prevotella intermédia. Porphyromonas gingivalis. Treponema denticola. Placa Dentária. Saliva. DNA. Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real.

ABSTRACT

Over the past few years, there has been increasing evidence of the effect of the oral health over the general health of individuals, supported by a series of biological and epidemiological studies that show a relation between the mouth and many diseases, including cardiovascular diseases. Structural deficiencies and functional abnormalities of heart valves represent an important cause of cardiovascular morbidity and mortality in Brazil, and a few defects have been recently associated with infectious agents. The aim of this study was to identify cariogenic and periodontopathogenic bacteria in dental plaque, saliva and heart valves, without clinical endocarditis, of patients with heart valve diseases, and correlate these findings with the oral health status of the patients. Oral exams using the DMTF (decayed, missing and filled teeth) and PSR (Periodontal Screening and Recording) indexes to evaluate caries and periodontal disease, respectively, were performed. Samples of supragingival and subgingival dental plaque, saliva and cardiac valves were evaluated, through Real Time Polymerase Chain Reaction, for the presence of DNA of *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*), *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) and *Treponema denticola* (*T. denticola*). A total of 114 samples were collected from 42 patients with a mean age of 55.6 ± 13.8 years. The average number of missing teeth due to caries was 23.52 ± 9.41 teeth per patient, and according to the highest score of periodontal disease observed for each patient, excluding edentulous patients (44.0%), periodontal pockets over 4mm (43.4%) and dental calculus (34.7%) were detected in a higher number of patients. The molecular analysis of the oral samples revealed high frequency of *S. mutans* and *P. intermedia* in supragingival dental plaques, subgingival dental plaques and saliva of dentate and edentulous patients (variation 60.0% - 100.0%), while *P. gingivalis* and *T. denticola* were detected in a smaller number of oral samples (variation 17.6% - 64.0%). The microorganism most frequently detected in heart valve samples was the *S. mutans* (89.3%), followed by *P. intermedia* (19.1%), *P. gingivalis* (4.2%) e *T. denticola* (2.1%). Significant difference was observed between the frequency of *P. intermedia*, *P. gingivalis* and *T. denticola* in the heart valve and dental plaque, as opposed to *S. mutans*. The identification of oral bacteria, especially *S. mutans*, in heart valves of patients with a previous history of dental caries and gingivitis/periodontitis suggests the possible involvement of these pathogens in the etiopathogenesis of heart valve diseases.

Keywords: Heart Valves. Dental Caries. Periodontitis. Streptococcus mutans. Prevotella intermedia. Porphyromonas gingivalis. Treponema denticola. Dental Plaque. Saliva. DNA. Real-time Polymerase Chain Reaction.

LISTA DE ABREVIATURAS

CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CPO-D	Dentes Cariados, Perdidos e Obturados
CTAB	Brometo de Cetiltrimetilamônio
DCV	Doença Cardiovascular
DCVs	Doenças Cardiovasculares
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DP	Desvio-Padrão
EPM	Erro Padrão da Média
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HUWC	Hospital Universitário Walter Cantídeo
IL-1	Interleucina 1
IL-10	Interleucina 10
IL-6	Interleucina 6
IPC	Controle Positivo Interno
MCP-1	Proteína de Quimioatração dos Monócitos
NI	Não Informado
<i>P. gingivalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>P. intermedia</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
PBS	Tampão Fosfato Salino
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
Pg	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
Ph	Potencial hidrogeniônico
Pi	<i>Prevotella intermedia</i>
PSR	Registro Periodontal Simplificado
RNA	Ácido Ribonucleico
<i>S. mutans</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
Sm	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>T. denticola</i>	<i>Treponema denticola</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
Td	<i>Treponema denticola</i>

TNF

Fator de Necrose Tumoral

VCAM-1

Molécula de Adesão da Célula Vascular 1

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 PROPOSIÇÃO.....	16
2.1 Objetivo Geral.....	16
2.2 Objetivos Específicos.....	16
3 CAPÍTULO.....	17
4 CONCLUSÃO GERAL.....	38
REFERÊNCIAS.....	39
APÊNDICES.....	43
ANEXOS.....	48

1 INTRODUÇÃO GERAL

Atualmente, cada vez mais se tem evidências do efeito da condição oral na saúde geral dos indivíduos, através de uma série de estudos epidemiológicos e biológicos que mostram uma relação entre a boca e diversas doenças sistêmicas. Doença Cardiovascular (DCV) é uma delas e, sem dúvida, está entre as mais estudadas (CULLINAN; FORD; SEYMOUR, 2009; VIDAL *et al.*, 2009).

Desordens estruturais e nas funções das válvulas cardíacas (estenose, insuficiência ou ambas) são um tipo de DCV e representam uma importante causa de morbidade e mortalidade cardiovascular. Febre reumática permanece como causa importante de lesões valvares que resultam em cirurgia cardíaca nos países em desenvolvimento, como o Brasil, todavia, nas últimas décadas, com a redução na incidência global dessa doença, o aumento da expectativa de vida e o avanço tecnológico, novas causas para as doenças das válvulas cardíacas têm emergido (FERNANDES *et al.*, 2012; BOUDOLAS, 2002).

Por muitos anos, a estenose da válvula aórtica, por exemplo, era considerada como sendo um quadro degenerativo, advindo com o avanço da idade, e causado pelo acúmulo passivo de cálcio na superfície do folheto da válvula. Todavia, estudos recentes têm demonstrado que é resultado de uma formação óssea ativa, a qual pode ser mediada através de um processo de diferenciação osteoblástica-like nesses tecidos. Achados histológicos sugerem que lesões iniciais nas válvulas aórticas não representam apenas um processo secundário à idade, mas um processo celular ativo, de forma semelhante ao que ocorre na formação da placa de ateroma (GINGHINA *et al.*, 2009; YETKIN; WALTENBERGER, 2009; RAJAMANNAN *et al.*, 2008).

Ao longo dos anos, têm surgido evidências indicando que a inflamação desempenha papel importante na patogênese dessa doença, sendo a atividade e progressão da doença valvar aórtica imunomodulada por marcadores biológicos, como IL-1, Proteína C-Reativa, MCP-1 (Proteína de Quimioatração dos Monócitos), IL-10, fibrinogênio e osteopontina (RAJAMANNAN *et al.*, 2008; ZERNECKE; WEBER, 2005). Agentes infecciosos têm sido associados a esse processo inflamatório, mais recentemente, e *Chlamydomphila pneumoniae* tem sido encontrada em alta frequência em válvulas aórticas estenóticas, levemente ou severamente afetadas, e associada à intensidade da fibrose e calcificação da válvula (YETKIN; WALTENBERGER, 2009).

Estudos têm demonstrado que doenças infecciosas crônicas, como gastrite, por *Helicobacter pylori*, pneumonia, por *Chlamydomphila pneumoniae* e *Mycoplasma pneumoniae*,

assim como algumas doenças bucais, como a cárie dentária e doença periodontal, estão sendo cada vez mais relacionados ao aumento do risco para algumas doenças cardiovasculares (PUCAR *et al.*, 2007; PIERRE *et al.*, 2006; MUSSA *et al.*, 2006; NAKANO *et al.*, 2006; ZERNECKE; WEBER, 2005)

Cárie dentária ocorre quando metabólitos ácidos de estreptococos orais, como o *Streptococcus mutans*, reduzem o pH bucal e dissolvem os minerais das estruturas esmalte e dentina dos dentes, resultando em cavitação e, se não tratada, comprometendo a polpa dentária. A colonização dessas bactérias em sítios distantes tem sido reportada, sendo justificada pela sua invasão na corrente sanguínea (bacteremia). Já a periodontite, doença imunoinflamatória multifatorial, implica em perda de estruturas de suporte dental, e tem como principal fator etiológico a presença de bactérias específicas na placa dental subgengival. Organização didática das bactérias do ecossistema periodontal em complexos de cores de acordo com saúde/doença periodontal foi criada, e relaciona micro-organismos dos complexos laranja e vermelho, como por exemplo, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Tannerella forsythia* e *Porphyromonas gingivalis*, à doença periodontal de maior gravidade (FIGUEIRO *et al.*, 2011; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005; SHAY, 2002).

A associação da doença periodontal às alterações cardiovasculares não é recente. Estudos como os de Mattila e colaboradores, Syrjanen e colaboradores, publicados em 1989, já posicionavam a infecção oral como tendo papel etiológico na DCV, sendo essa hipótese fortalecida, posteriormente, através de uma série de revisões que discutem os achados de grandes estudos epidemiológicos, e trabalhos de metanálises que indicam associação positiva moderada entre essas doenças (HUMPHREY *et al.*, 2008; MUSTAPHA *et al.*, 2007; BEHLE; PAPAPANOU, 2006; DEMMER; DESVARIEUX, 2006; MEURMAN; SANZ; JANKET, 2004; JANKET *et al.*, 2003).

Periodontite crônica está associada à resposta imune e inflamatória sistêmica moderada, com elevação da concentração sérica de múltiplas citocinas e marcadores inflamatórios e trombóticos, como proteína C-reativa, IL-1, IL-6, TNF e fibrinogênio, abundantemente produzidos em tecidos periodontais patológicos e fortemente associados à patogênese da aterosclerose e, recentemente, da estenose aórtica, portanto tendo uma contribuição indireta nesses processos (DANESH *et al.*, 2008; DANESH *et al.*, 2004; EBERSOLE, 2003; NARDIN, 2001). Estudos de intervenção, visando à obtenção de mais evidências, têm sido realizados, reporta-se redução significativa nos níveis séricos de alguns desses marcadores, como fibrinogênio, proteína C-reativa e IL-6 após tratamento periodontal (VIDAL *et al.*, 2009; D'AIUTO *et al.*, 2004).

Paralelamente, têm surgido poucos estudos para elucidar os mecanismos diretos que ligam infecções orais a valvulopatias crônicas, sendo a presença de bactérias orais na corrente sanguínea, provavelmente, um dos fatores iniciadores de eventos biológicos que justificam essa ligação (OLSEN, 2008). Infecção valvar causada por bactérias orais no tecido valvar também pode ser um cofator causal importante para a progressão da doença (YETKIN; WALTENBERGER, 2009).

A condição de saúde bucal fornece múltiplas oportunidades para repetida disseminação de patógenos orais no sangue, através de infecções pulpares, modificações vasculares por doença periodontal, traumatismos dentários, além de ulcerações em tecidos moles. É sabido que procedimentos odontológicos invasivos, extração dental e raspagem periodontal, também são indutores de bacteremia e, vale ressaltar, o impacto relevante da doença gengival na propagação hematogênica desses patógenos em procedimentos odontológicos não invasivos (profilaxia dental e restaurações) e práticas diárias de higiene oral (escovação, utilização do fio dental, bem como a própria mastigação) (PARAHITIYAWA *et al.*, 2010; BAHRANI-MOUGEOT *et al.*, 2008; BRENNAM *et al.*, 2007).

A ocorrência da bacteremia levanta a hipótese de colonização bacteriana em sítios distantes. Estudos laboratoriais têm demonstrado o potencial que alguns microorganismos apresentam em afetar a integridade endotelial, metabolismo de lipoproteínas do plasma, coagulação sanguínea e função plaquetária. Patógenos cariogênicos e periodontais estão entre eles, e tem sido identificada a capacidade *in vitro* e *in vivo* dos mesmos em invadir e lesionar a célula endotelial, favorecer a aderência de leucócitos no endotélio e promoverem a transformação de macrófagos em células espumosas (NAGATA; DE TOLEDO; OHO, 2011; MATSUMOTO-NAKANO *et al.*, 2009; MILLER-TORBERT; SHARMA; HOLT, 2008; ROTH *et al.*, 2007; NAKANO *et al.*, 2006; STINSON; ALDER; KUMAR, 2003; FONG, 2002).

Estudos como o de Nakano *et al.* (2009) já têm identificado bactérias cariogênicas e periodontopatogênicas, como *Streptococcus mutans*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Campylobacter rectus*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema denticola* em amostras de válvulas cardíacas sem endocardite clínica, através de exames moleculares mais sensíveis, como a PCR, e relacionado esse achado com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Todavia, levando-se em consideração a alta prevalência e gravidade das doenças valvares, visando contribuir para a reprodução de dados mais consistentes no que se refere à possível

associação entre bactérias orais e doenças valvares, torna-se imprescindível a realização de estudos adicionais, com o propósito de identificar micro-organismos cariogênicos e periodontopatogênicos em tecido valvar de diferentes populações, correlacionando os achados à condição bucal dos indivíduos.

2 PROPOSIÇÃO

2.1 Objetivo Geral

Realizar análise molecular de bactérias orais em placa dental, saliva e válvulas cardíacas de pacientes submetidos à cirurgia cardiovascular de troca valvar, e correlacionar à condição bucal dos indivíduos.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar bactérias cariogênicas e periodontopatogênicas em amostras de placa dental, saliva e válvulas cardíacas.
- Determinar a frequência de bactérias cariogênicas e periodontopatogênicas em válvulas cardíacas.
- Avaliar a condição dental e periodontal dos pacientes com doenças valvares.
- Correlacionar presença de bactérias cariogênicas em amostras de placa dental, saliva e válvulas cardíacas à condição dental dos pacientes.
- Correlacionar presença de bactérias periodontopatogênicas em amostras de placa dental, saliva e válvulas cardíacas à condição periodontal dos pacientes.
- Correlacionar presença das bactérias orais nas válvulas cardíacas ao tipo de lesão e localização anatômica da válvula.

3 CAPÍTULO

Esta dissertação está baseada no Artigo 46 do Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, que regulamenta o formato alternativo para dissertações de Mestrado e teses de Doutorado, e permite a inserção de artigos científicos de autoria ou coautoria do candidato (Anexo A). Por se tratarem de pesquisas envolvendo seres humanos, ou partes deles, o projeto de pesquisa deste trabalho foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa de seres humanos, do Hospital Universitário Walter Cantídio (CEP/HUWC), sob protocolo de N° 117.11.11 (Anexo B). Assim sendo, esta dissertação é composta de um capítulo contendo um artigo científico que será submetido para publicação no periódico “**Journal of American Dental Association - JADA**” (Anexo C), conforme descrito abaixo:

Análise molecular de bactérias orais em placa dental, saliva e válvulas cardíacas de pacientes com doença cardiovascular.

Oliveira FAF, Alves APNN.

Análise molecular de bactérias orais em placa dental, saliva e válvulas cardíacas de pacientes com doença cardiovascular.

Autores:

Francisco Artur Forte Oliveira

Grau acadêmico: Especialista em Odontologia para Pacientes Especiais

Posição: Estudante de Mestrado em Odontologia

Afiliação institucional: Departamento de Estomatologia e Patologia Bucal, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil.

Ana Paula Negreiros Nunes Alves

Grau acadêmico: Mestre e Doutor

Posição: Professor Adjunto

Afiliação institucional: Departamento de Estomatologia e Patologia Bucal, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil.

Autor de Correspondência: Francisco Artur Forte Oliveira

Endereço: Rua Padre Mororó, 1813, casa 32 – Farias Brito – Fortaleza, Ceará, Brasil. CEP: 60015221

Telefone Comercial: 55-85-96566343

Telefone Residencial: 55-85-32810801

e-mail: arturforte@ymail.com

RESUMO

Introdução: Atualmente, cada vez mais estudos biológicos mostram uma relação entre a boca e diversas doenças, incluindo as doenças cardiovasculares. Desordens estruturais e nas funções das válvulas cardíacas representam uma importante causa de morbidade e mortalidade cardiovascular, sendo alguns processos, como a estenose aórtica degenerativa, mais recentemente, associados a agentes infecciosos.

Métodos: 114 amostras de placa dental supragengival, subgengival, saliva e válvulas cardíacas foram coletadas, em pacientes com doença valvar. Todos os 42 pacientes foram avaliados quanto à presença de doenças bucais. Análise molecular de *Streptococcus mutans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema Denticola* foi realizada através de PCR em tempo real.

Resultados: O micro-organismo mais frequentemente encontrado nas amostras valvares foi o *S. mutans* (89.3%), seguido da *P. intermedia* (19.1%), *P. gingivalis* (4.2%) e *T. denticola* (2.1%). Diferença significativa foi encontrada entre a presença de *P. intermedia*, *P. gingivalis* e *T. denticola* na válvula e na placa dental, diferentemente do *S. mutans*. A média de CPO-D foi 26.4 ± 6.9 e, segundo o maior grau de doença periodontal observado no indivíduo, excluindo-se os pacientes desdentados totais (44.0%), bolsa superior a 4 mm e cálculo dental esteve presente em 43.4% e 34.7% dos pacientes, respectivamente.

Conclusão: Bactérias orais, principalmente *S. mutans*, foram encontradas em alta frequência nas amostras de placa dental, saliva e válvulas cardíacas de pacientes com elevada experiência prévia de cárie e ocorrência de gengivite/periodontite.

Relevância Clínica: A presença de bactérias orais em tecido valvar sugere o possível envolvimento desses patógenos nas doenças valvares.

Palavras-chave: Doença valvar, bactérias orais, cárie, doença periodontal, placa dental, saliva, sangue, DNA, Reação em Cadeia de Polimerase (PCR).

INTRODUÇÃO

Desordens estruturais e nas funções das válvulas cardíacas estão entre as principais condições que resultam em necessidade de cirurgia cardiovascular. Essas anormalidades podem ser causadas por distúrbios congênitos ou por uma variedade de doenças adquiridas que resultam em estenose valvar, insuficiência valvar, ou ambas.¹

Nas últimas décadas, essas condições têm sido objeto de grande atenção no campo da cardiologia, principalmente devido a mudanças no perfil de apresentação e tratamento decorrentes da significativa redução na incidência da febre reumática e suas sequelas, aumento da expectativa de vida, avanço tecnológico e reconhecimento de novas causas para as doenças valvares.²

A estenose aórtica, doença valvar mais comum em países industrializados, por exemplo, por muitos anos, era considerada como sendo um quadro degenerativo, advindo com o avanço da idade, e causado pelo acúmulo passivo de cálcio na superfície do folheto da válvula. Todavia, estudos recentes têm demonstrado que representa um processo ativo que compartilha aspectos semelhantes ao que ocorre na formação da placa de ateroma.^{3,4}

Evidências indicando que a inflamação desempenha papel importante em algumas doenças valvares, como na estenose aórtica, têm surgido, e agentes infecciosos podem estar bastante associados a esses processos.⁵ Infecções bacterianas crônicas, como pneumonia por *Chlamydomphila pneumoniae*, estão sendo cada vez mais associadas ao aumento do risco para desenvolvimento de algumas dessas doenças.^{6,7}

Micro-organismos orais já têm sido indiretamente associados a outras doenças cardiovasculares (DCVs), como a doença aterosclerótica. Sua presença na periodontite crônica está relacionada à resposta imune e inflamatória sistêmica moderada, com elevação da concentração sérica de múltiplas citocinas e marcadores inflamatórios abundantemente produzidos em tecidos periodontais patológicos e fortemente associados à patogênese de algumas DCVs.^{8,9}

A presença de bactérias orais em tecido valvar, com e sem endocardite clínica, tem sido investigada através de exames moleculares mais sensíveis, como a PCR, a fim de elucidar os mecanismos diretos que podem ligar as infecções orais a DCVs, sendo a presença dessas bactérias na corrente sanguínea, provavelmente, um dos fatores iniciadores de eventos biológicos que justificam essa associação.¹⁰⁻¹² Mais recentemente, Nakano e colaboradores¹², vêm reportando a capacidade de bactérias cariogênicas de colonizar as válvulas cardíacas,

todavia, nenhuma informação acerca da condição bucal dos pacientes foi reportada nesses estudos.

Diante da escassez de dados na literatura, este estudo tem o propósito de identificar micro-organismos cariogênicos e periodontopatogênicos na placa dental, saliva e válvulas cardíacas de pacientes brasileiros, além de incluir a avaliação odontológica detalhada, visando contribuir para a reprodução de dados mais consistentes no que se refere ao possível papel das bactérias orais na patogênese de doenças valvares crônicas, levando em consideração a gravidade dessas doenças e a importância desses achados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Exame oral e coleta das amostras

Participaram do estudo, pacientes agendados consecutivamente para cirurgia cardiovascular de troca valvar no Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC) e Hospital de Messejana Dr. Carlos Alberto Studart Gomes (Fortaleza, Ceará, Brasil), durante o período de Março a Setembro de 2012. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética dos hospitais onde foi realizada a pesquisa, e todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Apêndice A).

Em um primeiro momento, previamente à cirurgia cardiovascular, dois avaliadores (F.A.F.O e C.P.F) devidamente calibrados (variação de Kappa 0.80 a 0.97) realizaram exames bucais no leito dos pacientes, para avaliação da condição dental e situação atual de doença periodontal, utilizando os índices CPO-D e PSR (Apêndice B), respectivamente. Informações sobre histórico de fumo, hipertensão arterial, diabetes *mellitus*, dislipidemia e outras comorbidades foram obtidas através de uma ficha clínica (Apêndice C). Apenas um exame periodontal não pôde ser realizado, devido à debilidade do paciente.

Para pacientes dentados, no momento do exame oral, amostras de placa supragengival foram coletadas das faces vestibular e mesial de todos os elementos dentários presentes, utilizando curetas Gracey e cones de papel absorvente estéreis. Amostras de placa subgengival também foram coletadas em pacientes dentados, após a remoção da placa supragengival, com cone de papel absorvente estéril inserido na bolsa periodontal de maior profundidade por 10s.¹³ Apenas para pacientes desdentados, amostras de saliva foram coletadas friccionando-se cones de papel estéreis na saliva e mucosa jugal, rebordo alveolar, língua e palato. As amostras foram armazenadas em recipiente estéril, contendo tampão fosfato salino (PBS) a -20⁰C, para posterior análise molecular.

Um total de 47 válvulas cardíacas foi coletado de maneira asséptica durante as cirurgias de troca valvar, e armazenado em recipiente estéril, contendo PBS a -20°C , para posterior análise através de PCR.

Extração de DNA e PCR em tempo real

Extração de DNA e análise molecular por PCR em tempo real foram realizadas no Laboratório de Citogenética Humana e Laboratório de Genética Humana e Médica, respectivamente, da Universidade Federal do Pará (Belém, Brasil).

Um total de 114 amostras de placa dental supragengival, subgengival, saliva e válvulas cardíacas (aproximadamente 30mg) foi transferido para tubos de plástico estéreis de 2,0 ml com suspensão tampão, mantendo manipulação asséptica e, posteriormente, homogeneizado. Protocolo padrão para extração de DNA, utilizando proteinase K e brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) para remoção de polissacarídeos complexos, foi realizado.¹⁴

As amostras de DNA extraídas foram submetidas à PCR, em tempo real, para avaliar presença de DNA bacteriano de quatro diferentes espécies: *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*) e *Treponema denticola* (*T. denticola*) (Tabela 1). *Primers* e sondas foram confeccionados comercialmente, considerando a região 16S do DNA ribossomal bacteriano (life technologies®)(Tabela 1).¹⁵⁻¹⁸ Para realização da PCR, em tempo real, acrescentou-se 1uL de DNA genômico a 8uL de TaqMan Universal PCR *Master Mix* (Applied Biosystems), 0,35uL de *primer* e 3,15uL de água. O volume final de 14uL foi obtido com a adição de Internal PCR Control (IPC)(1uL) e IPC DNA (0,5uL) utilizado como controle interno da reação. Amplificação foi realizada em termociclador 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, Califórnia). O DNA bacteriano foi substituído por água, para obtenção de controle negativo da reação. O protocolo da PCR, em tempo real, consistiu o passo inicial de desnaturação a 95°C por 10 min, seguido por 40 ciclos a 95°C por 15s e 60°C por 1 min.

Análise Estatística

Avaliou-se, por meio do teste de Shapiro-Wilk, o padrão de distribuição amostral dos dados quantitativos, submetidos ao teste t de student e expressos em forma de média \pm EPM. As variáveis demográficas quantitativas foram expressas em forma de média \pm DP.

As variáveis qualitativas nominais foram expressas em forma de frequência absoluta (frequência relativa), e analisadas pelo teste exato de Fisher ou Qui-quadrado com correção de

Boferroni e, quando possível, calculou-se a razão de prevalência expressa em forma de razão de prevalência (intervalo de confiança mínimo - máximo).

Foi utilizado o *software* estatístico EpiInfo para *Windows* e estabeleceu-se, em todas as análises, índice de significância $p < 0.05$.

RESULTADOS

Para o presente estudo, um total de 114 amostras bucais (placa dental supragengival, subgengival, saliva) e cardiovasculares (válvulas cardíacas) foi coletado de 42 pacientes com média de idade de 55.6 ± 13.8 anos. Condições médicas variadas resultaram na necessidade de cirurgia de substituição valvar entre os indivíduos, sendo a insuficiência mitral (23.4%) e estenose aórtica (21.2%) as mais frequentes (Tabela 1).

Exame bucal detalhado para investigação das doenças cárie e periodontal foi realizado nos 42 indivíduos. A média de dentes perdidos devido à cárie, por paciente, foi em torno de 23.52 ± 9.41 , tendo todos os pacientes do estudo vivenciado alguma experiência prévia de cárie que resultou em perda dentária. Segundo o maior grau de doença periodontal observado no indivíduo, excluindo-se os pacientes edêntulos totais (44.0%), bolsa superior a 4 mm (43.4%) e o cálculo dental (34.7%) estiveram presentes em um maior número de pacientes. Apenas seis sextantes, 2.4% dos sextantes avaliados, apresentaram-se sadios após o exame periodontal. Outras características demográficas, médicas e odontológicas dos pacientes participantes do estudo estão descritos na Tabela 2.

A análise molecular das amostras bucais revelou alta frequência de *S. mutans* e *P. intermedia* nas placas supragengival, subgengival e saliva de pacientes dentados e desdentados (variando entre 60.0% e 100.0%), enquanto que *P. gingivalis* e *T. denticola* estiveram presentes em menor número de amostras bucais (variando entre 17.6% e 64.0%) (Figura 1A). Perfil de distribuição das bactérias orais entre os pacientes dentados e desdentados revelou diferença significativa para *P. gingivalis* e *T. denticola* ($p < 0.05$), com ambas significativamente menos presentes em pacientes desdentados que em pacientes dentados (Figura 1B). De acordo com a profundidade de sondagem e grau de doença periodontal, essas bactérias foram encontradas com uma prevalência superior em pacientes com bolsa periodontal maior que 4mm, com uma taxa acima de 75.0% ($p < 0.05$) (Figuras 1C e 1D).

Quando avaliada a presença das bactérias orais nas válvulas cardíacas, todos os quatro micro-organismos foram encontrados em, pelo menos, uma amostra, estando apenas 5

(10.6%) das válvulas livres de qualquer infecção por bactérias cariogênicas ou periodontopatogênicas. O micro-organismo mais frequentemente encontrado nas amostras valvares foi o *S. mutans* (89.3%), seguido da *P. intermedia* (19.1%), *P. gingivalis* (4.2%) e *T. denticola* (2.1%). Diferença significativa entre a frequência de *S. mutans* e a dos outros microorganismos periodontopatogênicos no tecido valvar foi verificada, semelhantemente ao que ocorreu com a *P. intermedia* ($p < 0.05$) (Figura 2A). Diferindo das outras bactérias, não houve diferença significativa entre a presença de *S. mutans* em válvula e placa dental ou saliva (Figura 2B). A identificação simultânea da mesma espécie bacteriana na cavidade oral e válvula cardíaca foi observada na maioria dos casos (97.2%) dos pacientes com a amostra cardiovascular infectada.

Infecção da mesma válvula por 2 ou 3 bactérias orais foi observada em 23.8% e 2.3% dos pacientes, respectivamente. Não houve diferença significativa entre a frequência das bactérias orais nas válvulas, de acordo com a condição dental (dentado, desdentado total) (Figura 2C), localização anatômica (aórtica ou mitral) (Figura 2D) e diagnóstico clínico (estenose, insuficiência ou ambos) (Figura 2E).

DISCUSSÃO

Estudos como os de Mattila e colaboradores¹⁹, Syrjanen e colaboradores²⁰, publicados em 1989, já posicionavam a infecção oral como tendo papel etiológico nas DCVs, sendo essa hipótese fortalecida, posteriormente, através de uma série de revisões que discutem os achados de grandes estudos epidemiológicos, e trabalhos de metanálises que indicam associação positiva moderada entre essas doenças.²¹⁻²⁵

Por muitos anos, pesquisas investigaram a possível ligação entre as doenças periodontal e cardiovascular, através da avaliação de marcadores inflamatórios comuns aos dois processos. Todavia, estudos recentes, como o de Nakano e colaboradores¹⁰, tentam elucidar os mecanismos diretos que ligam as doenças bucais às DCVs, sendo a presença de bactérias orais na corrente sanguínea, provavelmente, um dos fatores iniciadores de eventos biológicos que justificam essa associação. A participação de bactérias cariogênicas na patogênese de algumas DCVs tem sido estudada e a taxa de detecção de *S. mutans* em amostras cardíacas superior a de bactérias envolvidas na doença periodontal tem sido reportada.¹⁰

Uma alta taxa de detecção de *S. mutans* nas amostras de válvulas cardíacas foi observada no presente trabalho. Essa elevada frequência de identificação em comparação a outros trabalhos na literatura pode estar relacionada à grande experiência prévia de cárie entre os participantes deste estudo. Alto percentual de perda dentária devido à cárie foi observado, tendo estudos epidemiológicos já demonstrado que a ausência de dentes pode ser um fator de risco associado a diversas doenças cardiovasculares, incluindo a estenose da válvula aórtica.^{26,27}

O *S. mutans* esteve presente na totalidade das amostras de placa dental e saliva de pacientes dentados e desdentados totais, respectivamente. A repetida disseminação desses patógenos no sangue, através de infecções pulpares, modificações vasculares por doença periodontal, traumatismos dentários, tratamento odontológico, práticas diárias de higiene oral e ulcerações em tecidos moles justifica a infecção desse micro-organismo em sítios distantes.²⁸⁻³⁰

Não existiu diferença, no presente estudo, entre a frequência de *S. mutans* nas válvulas cardíacas de pacientes dentados e desdentados. Pacientes desdentados totais também apresentaram alta frequência da bactéria cariogênica nas amostras de saliva e válvulas cardíacas. Essas bactérias fazem parte da composição microbiana bucal mesmo após a perda dos dentes, aderidas ao tecido mole ou a próteses dentárias.³¹ A colonização dessas bactérias no tecido cardíaco desses pacientes pode ter se originado por uma ancoragem pregressa à perda de todos os dentes ou sua propagação sanguínea, na ausência de dentes, após trauma em mucosa bucal. A possível ocorrência de bacteremia em pacientes desdentados totais necessita de futuras investigações.

Diferença significativa foi encontrada entre a frequência de *S. mutans* e a dos outros micro-organismos investigados nas válvulas cardíacas. Diferindo das outras bactérias estudadas, não houve diferença significativa entre a presença de *S. mutans* em válvula e placa dental ou saliva. Nos últimos anos, estudos, *in vitro* e *in vivo*, experimentais têm reportado o potencial dos *S. mutans* de modificarem a expressão de certos genes ao responderem a componentes do plasma, a fim de obter vantagens na circulação sanguínea.³² Esses achados poderiam sugerir a alta capacidade dessa bactéria de se instalar no tecido valvar.

Jung e colaboradores³³ reportaram o papel da AtIA, uma recém-descoberta proteína de ligação à fibronectina, na resistência do *S. mutans* à fagocitose e na sobrevivência na corrente sanguínea, sendo sua maturação melhorada pela concentração fisiológica plasmática de cálcio. Fibronectina, elastina, laminina e colágeno são considerados os mais comuns componentes da matriz extracelular e podem servir de receptores para o *S. mutans*.³⁴

Descoberta de estruturas de superfície da bactéria, como as proteínas P1, WapA, GtfB, GtfC, GtfD, Cnm e Cbm, tem sido importante para o entendimento das etapas de ancoragem desse patógeno nas amostras cardiovasculares, com subsequente invasão da célula endotelial, indução de inflamação (produção de citocinas), agregação plaquetária e formação de células espumosas.³⁵⁻⁴⁰

Jung e colaboradores⁴¹ e Matsumoto-Nakano e colaboradores³⁶ já têm reportado importante interação entre essa bactéria e as plaquetas em tecido valvar, através de estudos experimentais, sendo a agregação plaquetária estimulada por esse micro-organismo.

Bactérias periodontopatogênicas foram encontradas, menos frequentemente, no tecido valvar, em comparação com a bactéria gram-positiva *S. mutans*, corroborando com os achados de Nakano e colaboradores¹². Grande variabilidade é reportada na literatura, com relação à prevalência dessas bactérias em tecido valvar e em placas ateroscleróticas, sendo superior ou inferior à frequência observada neste estudo.^{10,12,42-48} Muitos dos estudos que reportam frequência superior ao presente trabalho, referente a essas bactérias em tecido cardiovascular, incluem no estudo apenas pacientes dentados com periodontite moderada e/ou severa. Neste estudo, *P. gingivalis* e *T. denticola* foram encontrados em baixa frequência na cavidade bucal de pacientes desdentados totais, o que pode estar relacionado à baixa taxa de detecção em tecido valvar.

A maioria dos pacientes dentados tinha doença periodontal, com cálculo dental e bolsa periodontal maior que 4 mm, o que foi determinante para que as bactérias periodontais do complexo laranja (*P. intermedia*) e vermelho (*P. gingivalis*, *T. denticola*) fossem encontradas em alta frequência na placa dental, principalmente, subgingival de sítios com profundidade de bolsa superior a 6 mm, corroborando com os achados da literatura.^{31,49}

Dentre os micro-organismos gram-negativos, *P. intermedia* foi significativamente mais encontrado no tecido valvar ($p < 0.05$), e apresentou predileção por válvulas acometidas, simultaneamente, por duas lesões (estenose e regurgitação). A alta taxa de detecção em amostras bucais de pacientes dentados (placa supra e subgingival) e desdentados (saliva) provavelmente explica a frequência maior nas amostras valvares, em comparação às outras bactérias periodontopatogênicas. Um dos pacientes do estudo apresentou *P. intermedia* na amostra valvar e não a apresentou na cavidade oral. A hipótese de que bactérias periodontopatogênicas possam se instalar na amostra cardiovascular em um momento anterior à perda dos dentes de um paciente que teve doença periodontal deve ser considerada, conforme sugerido em alguns estudos, como o de Zaremba e colaboradores.⁴⁵

Em comparação à frequência de bactérias periodontopatogênicas presentes em amostras bucais, um número baixo de válvulas cardíacas estavam infectadas por essas bactérias, o que pode sugerir uma dificuldade maior desses microorganismos de sobreviverem na corrente sanguínea e ancorarem no tecido valvar, em comparação ao *S. mutans*.

P. gingivalis tem papel de destaque entre as bactérias periodontopatogênicas, no que se refere à associação a doenças cardiovasculares, embora tenha sido encontrada em baixa frequência neste estudo. É identificada em alta frequência em estudos que investigam a sua presença em placas ateroscleróticas e estudos *in vitro* e *in vivo* experimentais demonstram que essas bactérias aceleram o processo de formação da placa aterosclerótica por diferentes mecanismos.^{42,50-52}

Estudos experimentais têm demonstrado que a infecção da placa de ateroma por esse microorganismo aumenta a expressão de moléculas de adesão na célula endotelial (VCAM-1). Essas moléculas se ligam a proteínas de adesão dos monócitos no sangue, sendo esse um provável passo inicial na formação da placa aterosclerótica. A célula endotelial infectada por *P. gingivalis* produz altos níveis de MCP-1 e melhora a progressão da aterosclerose, através do recrutamento maior de monócitos.^{51,53} A estimulação de uma maior produção de monócitos pela medula óssea em pacientes com infecção valvar pelo *P. gingivalis* pode contribuir para esse processo.

Outras válvulas cardíacas com condições diferentes da estenose aórtica apresentaram infecções por bactérias orais, não havendo diferença significativa entre a frequência das bactérias orais nas válvulas, diagnóstico clínico (estenose, insuficiência ou ambos) e localização anatômica (aórtica ou mitral). A relação entre doenças valvares crônicas e agentes infecciosos tem sido direcionada apenas à estenose aórtica, sendo a presença de patógenos orais em válvulas acometidas por doença reumática um cofator que pode interferir no processo de doença.

Recentes estudos laboratoriais têm suportado a ideia de que a presença de bactérias orais no tecido valvar pode influenciar diretamente no processo de doença, sendo a realização de estudos clínicos imprescindíveis para confirmar essa associação. Avaliação da expressão de diferentes biomarcadores (inflamatórios, trombóticos e osteogênicos) em válvulas cardíacas humanas com doença crônica e sua correlação com a presença e frequência de bactérias orais nessas amostras pode trazer uma associação positiva da infecção com a intensidade do processo inflamatório local, sendo esse um achado importante para confirmar o ativo papel das bactérias orais na progressão dessas doenças.

Medidas simples e imediatas que visam à promoção da saúde bucal da população em geral e, principalmente, de pacientes com diagnóstico de doença valvar, tornam-se necessárias. Uma maior atenção odontológica deve ser direcionada a pacientes dentados e desdentados com doença valvar, desde o diagnóstico médico e não apenas no momento que antecede a cirurgia de troca valvar, como meio de prevenir uma endocardite infecciosa. A infecção valvar de baixo grau causada por bactérias cariogênicas e periodontopatogênicas pode ser um cofator importante para a progressão das valvulopatias, elevando a morbidade e mortalidade entre os indivíduos.

CONCLUSÃO

Bactérias orais, principalmente *S. mutans*, foram encontradas em alta frequência nas amostras de placa dental, saliva e válvulas cardíacas de pacientes com elevada taxa de dentes perdidos, devido à cárie, e ocorrência de gengivite/periodontite. Diferença significativa foi encontrada entre a presença de *P. intermedia*, *P. gingivalis* e *T. denticola* na válvula e na placa dental, diferentemente do *S. mutans*. Não houve associação entre a frequência das bactérias orais nas válvulas, condição dental (dentado, desdentado total), localização anatômica (aórtica ou mitral) e diagnóstico clínico (estenose, insuficiência ou ambos).

RELEVÂNCIA CLÍNICA

A presença de bactérias orais em tecido valvar sugere o possível envolvimento desses patógenos nas doenças valvares. Ampliação de medidas assistenciais que visem à melhoria da condição de saúde bucal das populações com alta prevalência de cárie e doença periodontal torna-se importante, levando-se em consideração a gravidade das doenças valvares e o alto custo do tratamento dessas desordens para o sistema terciário de saúde.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a toda equipe de profissionais do Hospital Universitário Walter Cantídeo, Hospital Dr. Carlos Alberto Studart Gomes, Laboratório de Citogenética Humana

da Universidade Federal do Pará (UFPA), Laboratório de Genética Humana e Médica (UFPA), e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio na realização deste trabalho e concessão de bolsa de estudo ao estudante de pós-graduação.

REFERÊNCIAS

1. Fernandes AMS, Bitencourt LS, Lessa IN, et al. Impact of socio-economic profile on the prosthesis type choice used on heart surgery. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 2012;27(2):211-6.
2. Boudoulas H. Etiology of valvular heart disease in the 21st century. *Hellenic J Cardiol* 2002;43:183-8.
3. Ginghină C, Florian A, Beladan C, et al. Calcific aortic valve disease and aortic atherosclerosis--two faces of the same disease? *Rom J Intern Med* 2009;47(4):319-29.
4. Rajamannan NM. Update on the pathophysiology of aortic stenosis. *European Heart Journal Supplements* 2008;10(suppl E):E4.
5. Yetkin E, Waltenberger J. Molecular and cellular mechanisms of aortic stenosis. *Int J Cardiol* 2009;135(1):4-13.
6. Mussa FF, Chai H, Wang X, et al. Chlamydia pneumoniae and vascular disease: An update. *J Vasc Surg* 2006, Jun;43(6):1301-7.
7. Pierri H, Higuchi-dos-Santos MH, Higuchi Mde L, et al. Density of chlamydia pneumoniae is increased in fibrotic and calcified areas of degenerative aortic stenosis. *Int J Cardiol* 2006, Mar 22;108(1):43-7.
8. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med* 2004, Apr 1;350(14):1387-97.
9. D'Aiuto F, Parkar M, Andreou G, et al. Periodontitis and systemic inflammation: Control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *J Dent Res* 2004, Feb;83(2):156-60.
10. Nakano K, Inaba H, Nomura R, et al. Detection of cariogenic streptococcus mutans in extirpated heart valve and atheromatous plaque specimens. *J Clin Microbiol* 2006, Sep;44(9):3313-7.

11. Nakano K, Nemoto H, Nomura R, et al. Serotype distribution of streptococcus mutans a pathogen of dental caries in cardiovascular specimens from japanese patients. *J Med Microbiol* 2007, Apr;56(Pt 4):551-6.
12. Nakano K, Nemoto H, Nomura R, et al. Detection of oral bacteria in cardiovascular specimens. *Oral Microbiol Immunol* 2009, Feb;24(1):64-8.
13. Cairo F, Gaeta C, Dorigo W, et al. Periodontal pathogens in atheromatous plaques. A controlled clinical and laboratory trial. *J Periodontal Res* 2004, Dec;39(6):442-6.
14. Wilson K. Preparation of genomic DNA from bacteria. *Curr Protoc in Molecul Biol* 2001, 2-4.
15. Ajdić D, McShan WM, McLaughlin RE, et al. Genome sequence of streptococcus mutans UA159, a cariogenic dental pathogen. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002, Oct 29;99(22):14434-9.
16. Orrù, G, Marini MF, Ciusa ML, et al. Usefulness of real time PCR for the differentiation and quantification of 652 and JP2 *Actinobacillus actinomycetemcomitans* genotypes in dental plaque and saliva. *BMC Infect Dis* 2006, June 13;6:98.
17. Brunner J, Wittink FR, Jonker MJ, et al. The core genome of the anaerobic oral pathogenic bacterium porphyromonas gingivalis. *BMC Microbiol* 2010,10:252.
18. Sela N. Role of treponema denticola in periodontal diseases. *Crit Rev in Oral Biol Med* 2001, Jan 1;12(5):399-413.
19. Mattila KJ, Nieminen MS, Valtonen VV, et al. Association between dental health and acute myocardial infarction. *BMJ* 1989;298(6676):779.
20. Syrjänen J, Peltola J, Valtonen V, et al. Dental infections in association with cerebral infarction in young and middle-aged men. *J Intern Med* 2009;225(3):179-84.
21. Humphrey LL, Fu R, Buckley DI, et al. Periodontal disease and coronary heart disease incidence: A systematic review and meta-analysis. *J Gen Intern Med* 2008, Dec;23(12):2079-86.
22. Mustapha IZ, Debrey S, Oladubu M, et al. Markers of systemic bacterial exposure in periodontal disease and cardiovascular disease risk: A systematic review and meta-analysis. *J Periodontol* 2007, Dec;78(12):2289-302.
23. Behle JH, Papapanou PN. Periodontal infections and atherosclerotic vascular disease: An update. *Int Dent J* 2006, Aug;56(4 Suppl 1):256-62.
24. Meurman JH, Sanz M, Janket SJ. Oral health, atherosclerosis, and cardiovascular disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;15(6):403-13.

25. Janket SJ, Baird AE, Chuang SK, Jones JA. Meta-analysis of periodontal disease and risk of coronary heart disease and stroke. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;95(5):559.
26. Joshipura KJ, Douglass CW, Willett WC. Possible explanations for the tooth loss and cardiovascular disease relationship. *Ann Periodontol* 1998, Jul;3(1):175-83.
27. Völzke H, Schwahn C, Hummel A, et al. Tooth loss is independently associated with the risk of acquired aortic valve sclerosis. *Am Heart J* 2005, Dec;150(6):1198-203.
28. Parahitiyawa NB, Scully C, Leung WK, Yam WC, Jin LJ, Samaranayake LP. Exploring the oral bacterial flora: Current status and future directions. *Oral Dis* 2010, Mar;16(2):136-45.
29. Bahrani-Mougeot FK, Paster BJ, Coleman S, et al. Diverse and novel oral bacterial species in blood following dental procedures. *J Clin Microbiol* 2008;46(6):2129-32.
30. Brennan MT, Kent ML, Fox PC, et al. The impact of oral disease and nonsurgical treatment on bacteremia in children. *J Am Dent Assoc* 2007;138(1):80-5.
31. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol* 2000 2005;38(1):135-87.
32. Negrini TC, Duque C, Vizoto NL, et al. Influence of virk and covr on the interactions of streptococcus mutans with phagocytes. *Oral Dis* 2012, Jul;18(5):485-93.
33. Jung CJ, Zheng QH, Shieh YH, et al. Streptococcus mutans autolysin AtIA is a fibronectin-binding protein and contributes to bacterial survival in the bloodstream and virulence for infective endocarditis. *Mol Microbiol* 2009, Nov;74(4):888-902.
34. Chia JS, Yeh CY, Chen JY. Identification of a fibronectin binding protein from streptococcus mutans. *Infect Immun* 2000;68(4):1864-70.
35. Nomura R, Nakano K, Naka S, et al. Identification and characterization of a collagen-binding protein, Cbm, in streptococcus mutans. *Mol Oral Microbiol* 2012.
36. Matsumoto-Nakano M, Tsuji M, Inagaki S, Fujita K, Nagayama K, Nomura R, Ooshima T. Contribution of cell surface protein antigen c of streptococcus mutans to platelet aggregation. *Oral Microbiol Immunol* 2009, Oct;24(5):427-30.
37. Nagata E, de Toledo A, Oho T. Invasion of human aortic endothelial cells by oral viridans group streptococci and induction of inflammatory cytokine production. *Mol Oral Microbiol* 2011, Feb;26(1):78-88.
38. Abranches J, Zeng L, Bélanger M, et al. Invasion of human coronary artery endothelial cells by streptococcus mutans OMZ175. *Oral Microbiol Immunol* 2009, Apr;24(2):141-5.

39. Chia JS, Lin YL, Lien HT, Chen JY. Platelet aggregation induced by serotype polysaccharides from streptococcus mutans. *Infect Immun* 2004, May;72(5):2605-17.
40. Abranches J, Miller JH, Martinez AR, Simpson-Haidaris PJ, Burne RA, Lemos JA. The collagen-binding protein cnm is required for streptococcus mutans adherence to and intracellular invasion of human coronary artery endothelial cells. *Infect Immun* 2011, Jun;79(6):2277-84.
41. Jung CJ, Yeh CY, Shun CT, et al. Platelets enhance biofilm formation and resistance of endocarditis-inducing streptococci on the injured heart valve. *J Infect Dis* 2012, Apr; 205(7):1066-75.
42. Figuero E, Sánchez-Beltrán M, Cuesta-Frechoso S, et al. Detection of periodontal bacteria in atheromatous plaque by nested polymerase chain reaction. *J Periodontol* 2011, Oct;82(10):1469-77.
43. Gaetti-Jardim E, Marcelino SL, Feitosa AC, et al. Quantitative detection of periodontopathic bacteria in atherosclerotic plaques from coronary arteries. *J Med Microbiol* 2009, Dec;58(Pt 12):1568-75.
44. Zhang YM, Zhong LJ, Liang P, et al. Relationship between microorganisms in coronary atheromatous plaques and periodontal pathogenic bacteria. *Chin Med J (Engl)* 2008, Aug 20;121(16):1595-7.
45. Zaremba M, Górska R, Suwalski P, et al. Evaluation of the incidence of periodontitis-associated bacteria in the atherosclerotic plaque of coronary blood vessels. *J Periodontol* 2007, Feb;78(2):322-7.
46. Fiehn NE, Larsen T, Christiansen N, et al. Identification of periodontal pathogens in atherosclerotic vessels. *J Periodontol* 2005;76(5):731-6.
47. Pucar A, Milasin J, Lekovic V, et al. Correlation Between Atherosclerosis And Periodontal Putative Pathogenic Bacterial Infections In Coronary And Internal Mammary Arteries. *J Periodontol* 2007;78(4):677-82.
48. Haraszthy VI, Zambon JJ, Trevisan M, et al. Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. *J Periodontol* 2000;71(10):1554-60.
49. Stingu CS, Jentsch H, Eick S, et al. Microbial profile of patients with periodontitis compared with healthy subjects. *Quintessence Int* 2012, Feb;43(2):e23-31.
50. Khalaf H, Bengtsson T. Altered t-cell responses by the periodontal pathogen porphyromonas gingivalis. *PLoS One* 2012;7(9):e45192.

51. Kang IC, Kuramitsu HK. Induction of monocyte chemoattractant protein-1 by porphyromonas gingivalis in human endothelial cells. FEMS Immunol Med Microbiol 2002, Dec 13;34(4):311-7.
52. Takahashi Y, Davey M, Yumoto H, et al. Fimbria-dependent activation of pro-inflammatory molecules in porphyromonas gingivalis infected human aortic endothelial cells. Cell Microbiol 2006, May;8(5):738-57.
53. Liu B, Cheng L, Liu D, et al. Role of p38 mitogen-activated protein kinase pathway in porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide-induced VCAM-1 expression in human aortic endothelial cells. J Periodontol 2012, Jul;83(7):955-62.

TABELAS

Tabela 1: Lista de *primers* e sondas confeccionados para identificação de diferentes microorganismos cariogênicos e periodontopatogênicos em placa dental, saliva, sangue e válvulas cardíacas de pacientes com doença valvar internados no HUWC e Hospital de Messejana, Fortaleza-CE, Brasil, 2013.

Microorganismos	Primer/Sonda TaqMan (sequencia 5'-3')
<i>S. mutans</i>	
Foward	GGCTCTCTGGTCTGTCCTGA
Reverse	TCGTTTACGGCGTGGACTAC
Sonda	FAM-CACGCTTTCGAGCCTC-NFQ
<i>P. intermedia</i>	
Foward	AGATATCATGACGAACTCCGATTGC
Reverse	CGAGCTTAAGCGTCAGTAACACT
Sonda	FAM-CCGTACGCTGCCTTC-NFQ
<i>P. gingivalis</i>	
Foward	AACACGTCCGCCAACAGA
Reverse	CTATCCTTGTCCTTGACGGTGTAG
Sonda	FAM-CCCCTCCTGCAGATCT-NFQ
<i>T. denticola</i>	
Foward	TCCTTCTGTTCTTTCCTGAAACTCTTTT
Reverse	GGGATTCGAACCCCTGACCTA
Sonda	FAM-CAAAGCCGCGCTCTA-NFQ

Tabela 2: Caracterização demográfica, médica e odontológica de pacientes com doença valvar internados no HUWC e Hospital de Messejana, Fortaleza-CE, Brasil, 2013.

Variáveis	Amostras
Demográficas	42 pacientes
Idade	55.6 ± 13.8 (27-81)
Sexo	
Masculino	23 (54.8)
Feminino	19 (45.2)
Diagnóstico Clínico	47 válvulas cardíacas
Estenose aórtica	10 (21.2)
Insuficiência aórtica	8 (17.0)
Dupla lesão aórtica	6 (12.7)
Estenose mitral	8 (17.0)
Insuficiência mitral	11 (23.4)
Dupla lesão mitral	4 (8.5)
Comorbidades Médicas	42 pacientes*
HAS	28 (66.7)
Dislipidemia	14 (33.3)
Diabetes	8 (19.0)
Outras	7 (16.7)
Nenhuma	5 (11.9)
Histórico de Fumo	42 pacientes
Presente	24 (57.1)
Ausente	16 (38.1)
Não informado	2 (4.8)
Perfil Odontológico	42 pacientes/252 sextantes
CPO-D	26.4 ± 6.9 (6-32)
Dentes Hígidos	233 (17.3)
Dentes Cariados	33 (2.5)
Dentes Restaurados	89 (6.7)
Dentes Perdidos	988 (73.5)
PSR	
Sextantes sadios	6 (2.4)
Sextantes com sangramento	26 (10.3)
Sextantes com cálculo	20 (7.9)
Sextantes com Bolsa 4-5mm	17 (6.7)
Sextantes com Bolsa >6mm	8 (3.2)
Sextantes excluídos (≤1 dente)	169 (67.1)
Informações perdidas	6 (2.4)

Dados quantitativos expressos em forma de “Média±SD (mínima-máxima)”.

Dados qualitativos expressos em forma de “n (%)”. *Comorbidades podem estar associadas (n_{comorbidades}=57).

FIGURAS

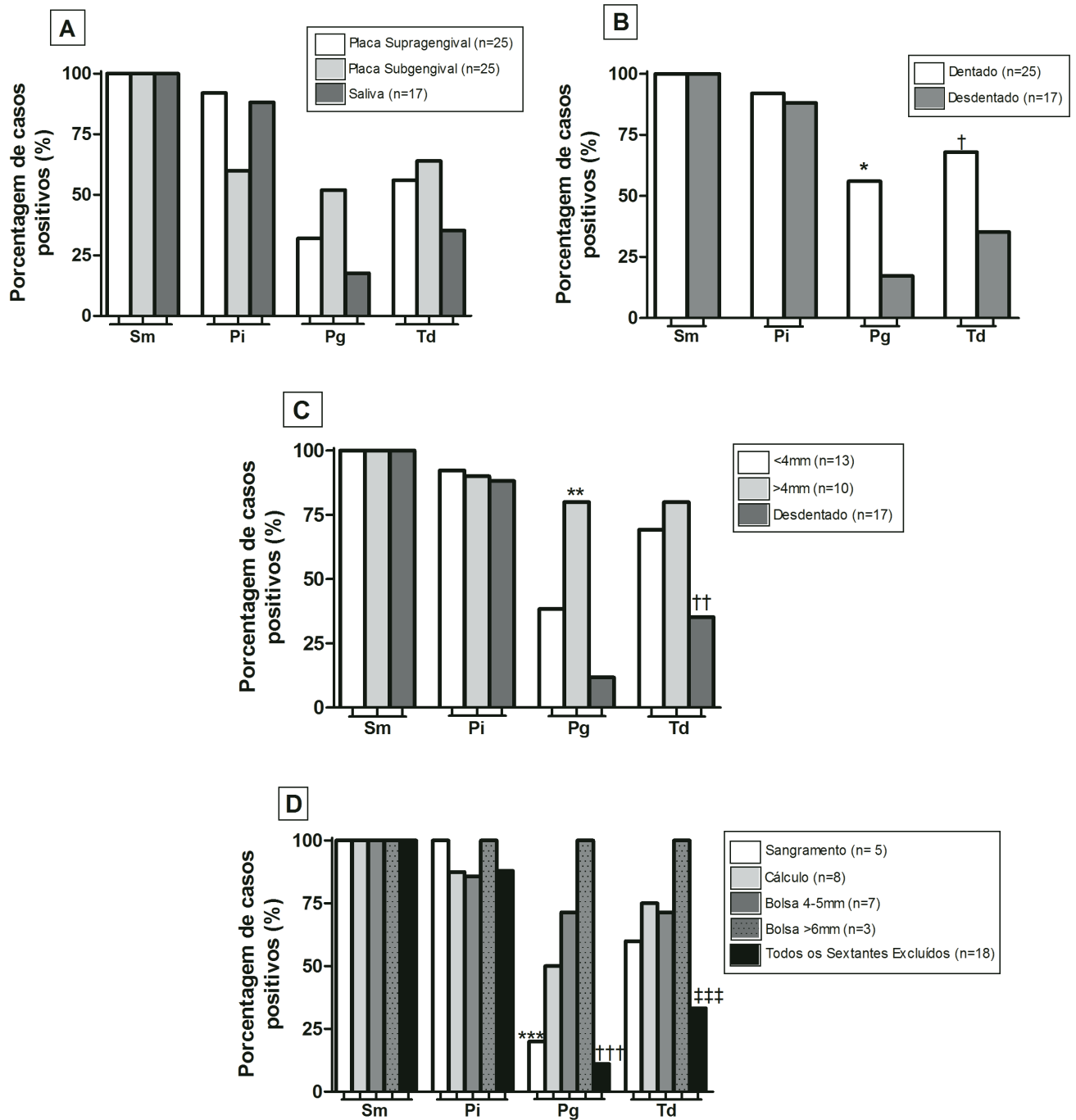


Figura 1: Distribuição percentual de bactérias cariogênicas e periodontopatogênicas em: A. Amostras de placa dental e saliva. B: Dentados (placa dental) e desdentados (saliva). *,† significância estatística da frequência de Pg e Td, respectivamente, em relação aos grupos desdentados ($p < 0.05$). C: Dentados sem bolsa periodontal (placa dental), com bolsa periodontal (placa dental) e desdentados (saliva). ** significância estatística da frequência de Pg em relação aos demais grupos ($p < 0.05$), †† significância estatística da frequência de Td em relação aos pacientes com bolsa > 4 mm ($p < 0.05$). D: Segundo o maior grau de condição periodontal observado por indivíduo.*** significância estatística da frequência de Pg em relação aos pacientes com bolsa > 6 mm ($p < 0.05$). ††† significância estatística da frequência Pg em relação aos pacientes com cálculo dental, bolsa 4-5 mm, bolsa > 6 mm ($p < 0.05$). †††† significância estatística da frequência de Td em relação aos pacientes com bolsa > 6 mm ($p < 0.05$). Sm: *Streptococcus mutans*, Pi: *Prevotella intermedia*, Pg: *Porphyromonas gingivalis*, Td: *Treponema denticola*. ($P < 0.05$, X^2 ou Fisher).

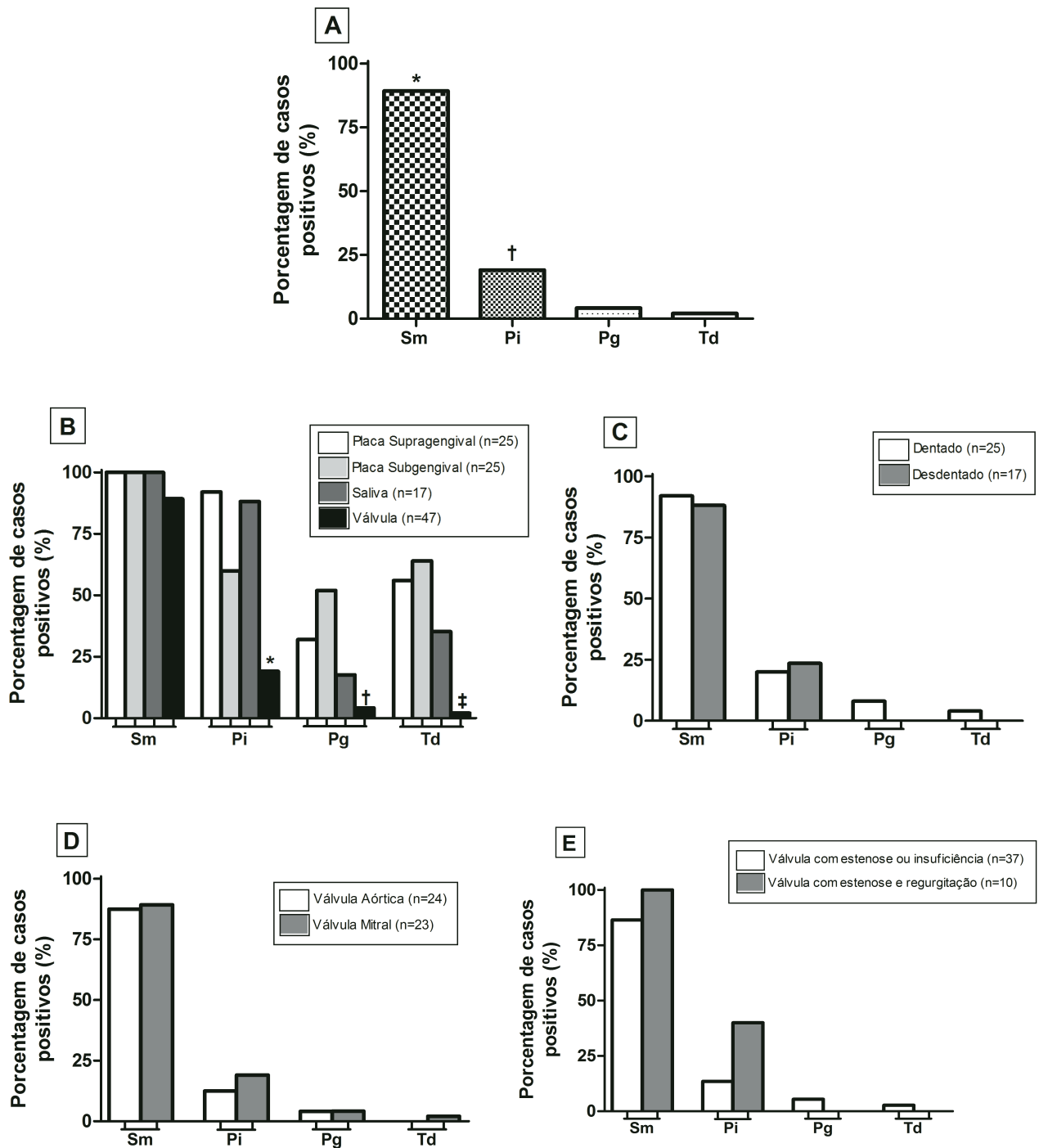


Figura 2: Distribuição percentual de bactérias cariogênicas e periodontopatogênicas: A: Nas 47 amostras valvares, *significância estatística em relação a Pi, Pg e Td ($p < 0.05$), † significância estatística em relação a Pg e Td ($p < 0.05$). B: Na placa supragengival, subgengival, saliva e válvulas cardíacas. *significância estatística em relação a presença de Pi nas demais amostras ($p < 0.05$), † significância estatística em relação a presença de Pg na placa supra e subgengival ($p < 0.05$), ‡ significância estatística em relação a presença de Td nas demais amostras ($p < 0.05$). C: Nas válvulas de pacientes dentados e desdentados. D: De acordo com a válvula acometida. E: De acordo com o tipo de lesão valvar (lesão única ou dupla lesão), odds ratio de P. Intermedia: 4.27 (0.69 – 27.52). Sm: *Streptococcus mutans*, Pi: *Prevotella intermedia*, Pg: *Porphyromonas gingivalis*, Td: *Treponema denticola*. ($P < 0.05$, X^2 ou Fisher).

4 CONCLUSÃO GERAL

Da avaliação dos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- Os pacientes com doença valvar, submetidos à cirurgia de troca valvar, possuíam elevado histórico de cárie dentária e gengivite/periodontite.
- Alta frequência de *S. mutans* foi encontrada em válvulas cardíacas e amostras bucais de pacientes com elevada taxa de dentes perdidos devido à cárie.
- Alta frequência de *P. intermédia* foi encontrada nas amostras bucais. Importante parcela das amostras valvares de pacientes dentados e desdentados também estava infectada por essa bactéria.
- Moderada e baixa frequência das bactérias do complexo vermelho (*P. gingivalis* e *T. denticola*) foram encontradas em amostras bucais e cardiovasculares, respectivamente, de pacientes dentados.
- Diferença significativa entre a frequência de *S. mutans* e micro-organismos periodontopatogênicos no tecido valvar foi verificada.
- Não houve diferença significativa entre a frequência das bactérias orais nas válvulas, de acordo com a localização anatômica (aórtica ou mitral) e diagnóstico clínico (estenose, insuficiência ou ambos).

REFERÊNCIAS

- BAHRANI-MOUGEOT, F. K.; PASTER, B. J.; COLEMAN, S.; ASHAR, J.; BARBUTO, S.; LOCKHART, P. B.; Diverse and novel oral bacterial species in blood following dental procedures. **J. Clin. Microbiol.**, v. 46, n. 6, p. 2129-2132, 2008.
- BEHLE, J. H.; PAPAPANOU, P. N. Periodontal infections and atherosclerotic vascular disease: An update. **Int. Dent. J.**, v. 56, n. 4, Suppl. 1, p. 256-262, 2006.
- BOUDOULAS, H. Etiology of valvular heart disease in the 21st century. **Hellenic J. Cardiol.**, v. 43, p.183-188, 2002.
- BRENNAN, M. T.; KENT, M. L.; FOX, P. C.; NORTON, H. J.; LOCKHART, P. B. The impact of oral disease and nonsurgical treatment on bacteremia in children. **J. Am. Dent. Assoc.**, v. 138, n. 1, p. 80-85, 2007.
- CULLINAN, M. P.; FORD, P. J.; SEYMOUR, G. J. Periodontal disease and systemic health: Current status. **Aust. Dent. J.**, v. 54, p. S62-69, 2009.
- D'AIUTO, F.; PARKAR, M.; ANDREOU, G.; SUVAN, J.; BRETT, P. M.; READY, D.; TONETTI, M.S. Periodontitis and systemic inflammation: Control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. **J. Dent. Res.**, v. 83, n. 2, p. 156-160, 2004.
- DANESH, J.; WHEELER, J. G.; HIRSCHFIELD, G. M.; EDA, S.; EIRIKSDOTTIR, G.; RUMLEY, A.; LOWE, G. D.; PEPYS, M. B.; GUDNASON, V. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. **N. Engl. J. Med.**, v. 350, n. 14, p. 1387-1397, 2004.
- DANESH, J.; KAPTOGE, S.; MANN, A. G.; SARWAR, N.; WOOD, A.; ANGLEMAN, S. B.; WENSLEY, F.; HIGGINS, J. P.; LENNON, L.; EIRIKSDOTTIR, G.; RUMLEY, A.; WHINCUP, P. H.; LOWE, G. D.; GUDNASON, V. Long-term interleukin-6 levels and subsequent risk of coronary heart disease: two new prospective studies and a systematic review. **PLoS Med.**, v. 5, n. 4, p.78, 2008.
- DE NARDIN, E. The role of inflammatory and immunological mediators in periodontitis and cardiovascular disease. **Ann. Periodontol.**, v. 6, n. 1, p. 30-40, 2001.
- EBERSOLE, L. Humoral immune responses in gingival crevice fluid: local and systemic implications. **Periodontol.** 2000, v. 31, p.135-166, 2003.
- FERNANDES, A. M. S.; BITENCOURT, L. S.; LESSA, I. N.; VIANA, A.; PEREIRA, F.; BASTOS, G.; MACEDO, C. R. B.; ARAS JÚNIOR, R. Impact of socio-economic profile on the prosthesis type choice used on heart surgery. **Rev. Bras. Cir. Cardiovasc.**, v. 27, n. 2, p. 211-216, 2012.

FIGUERO, E.; SÁNCHEZ-BELTRÁN, M.; CUESTA-FRECHOSO, S.; TEJERINA, J. M.; DEL CASTRO, J. A.; GUTIÉRREZ, J. M.; HERRERA, D.; SANZ, M. Detection of periodontal bacteria in atheromatous plaque by nested polymerase chain reaction. **J. Periodontol.**, v. 82, n. 10, p. 1469-1477, 2011.

FONG, I. W. Infections and their role in atherosclerotic vascular disease. **J. Am. Dent. Assoc.**, v.133, Suppl. 1, p. 7S-13S, 2002.

GINGHINĂ, C.; FLORIAN, A.; BELADAN, C.; IANCU, M.; CĂLIN, A.; POPESCU, B. A.; JURCUȚ, R. Calcific aortic valve disease and aortic atherosclerosis--two faces of the same disease? **Roma J. Intern. Med.**, v. 47, n. 4, p. 319-329, 2009.

HARASZTHY, V. I.; ZAMBON, J.J.; TREVISAN, M.; ZEID, M.; GENCO, R. J. Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. **J. Periodontol.**, v. 71, n. 10, p. 1554-1560, 2000.

HUMPHREY, L. L.; FU, R.; BUCKLEY, D. I.; FREEMAN, M.; HELFAND, M. Periodontal disease and coronary heart disease incidence: A systematic review and meta-analysis. **J. Gen. Intern. Med.**, v. 23, n. 12, p. 2079-2086, 2008.

JANKET, S. J.; BAIRD, A. E.; CHUANG, S. K.; JONES, J. A. Meta-analysis of periodontal disease and risk of coronary heart disease and stroke. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 95, n. 5, p. 559, 2003.

MATSUMOTO-NAKANO, M.; TSUJI, M.; INAGAKI, S.; FUJITA, K.; NAGAYAMA, K.; NOMURA, R.; OOSHIMA, T. Contribution of cell surface protein antigen c of streptococcus mutans to platelet aggregation. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 24, n. 5, p. 427-430, 2009.

MEURMAN, J. H.; SANZ, M.; JANKET, S. J. Oral health, atherosclerosis, and cardiovascular disease. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.**, v. 15, n. 6, p. 403-413, 2004.

MILLER-TORBERT, A.; SHARMA, S.; HOLT, R.G. Inactivation of a gene for a fibronectin-binding protein of the oral bacterium streptococcus mutans partially impairs its adherence to fibronectin. **Microb. Pathog.**, v. 45, n. 1, p. 53-59, 2008.

MUSSA, F. F.; CHAI, H.; WANG, X.; YAO, Q.; LUMSDEN, A.B.; CHEN, C. Chlamydia pneumoniae and vascular disease: An update. **J. Vasc. Surg.**, v. 43, n. 6, p. 1301-1307, 2006.

MUSTAPHA, I. Z.; DEBREY, S.; OLADUBU, M.; UGARTE, R. Markers of systemic bacterial exposure in periodontal disease and cardiovascular disease risk: A systematic review and meta-analysis. **J. Periodontol.**, v. 78, n. 12, p. 2289-2302, 2007.

NAGATA, E.; DE TOLEDO, A.; OHO, T. Invasion of human aortic endothelial cells by oral viridans group streptococci and induction of inflammatory cytokine production. **Mol. Oral Microbiol.**, v. 26, n. 1, p. 78-88, 2011.

NAKANO, K.; INABA, H.; NOMURA, R.; NEMOTO, H.; TAKEDA, M.; YOSHIOKA, H.; MATSUE, H.; TAKAHASHI, T.; TANIGUCHI, K.; AMANO, A.; OOSHIMA, T. Detection of cariogenic streptococcus mutans in extirpated heart valve and atheromatous plaque specimens. **J. Clin. Microbiol.**, v. 44, n. 9, p. 3313-3317, 2006.

NAKANO, K.; NEMOTO, H.; NOMURA, R.; INABA, H.; YOSHIOKA, H.; TANIGUCHI, K.; AMANO, A.; OOSHIMA, T. Detection of oral bacteria in cardiovascular specimens. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 24, n. 1, p. 64-68, 2009.

OLSEN, I. Update on bacteraemia related to dental procedures. **Transfus. Apher. Sci.**, v. 39, n. 2, p. 173-178, 2008.

PARAHITIYAWA, N. B.; SCULLY, C.; LEUNG, W. K.; YAM, W. C.; JIN, L. J.; SAMARANAYAKE, L. P. Exploring the oral bacterial flora: Current status and future directions. **Oral Dis.**, v. 16, n. 2, p. 136-145, 2010.

PIERRI, H.; HIGUCHI-DOS-SANTOS, M. H.; HIGUCHI, M. D. E. L.; PALOMINO, S.; SAMBIASE, N. V.; DEMARCHI, L. M.; RODRIGUES, G. H.; NUSSBACHER, A.; RAMIRES, J. A.; WAJNGARTEN, M. Density of chlamydia pneumoniae is increased in fibrotic and calcified areas of degenerative aortic stenosis. **Int. J. Cardiol.**, v. 108, n. 1, p. 43-47, 2006.

PUCAR, A.; MILASIN, J.; LEKOVIC, V.; VUKADINOVIC, M.; RISTIC, M.; PUTNIK, S.; KENNEY, E. B. Correlation between atherosclerosis and periodontal putative pathogenic bacterial infections in coronary and internal mammary arteries. **J. Periodontol.**, v. 78, n. 4, p. 677-682, 2007.

RAJAMANNAN, N. M. Update on the pathophysiology of aortic stenosis. **Eur. Heart J. Suppl.**, v. 10, Suppl. E, p. E4, 2008.

ROTH, G. A.; MOSER, B.; ROTH-WALTER, F.; GIACONA, M. B.; HARJA, E.; PAPAPANOU, P. N.; SCHMIDT, A. M.; LALLA, E. Infection with a periodontal pathogen increases mononuclear cell adhesion to human aortic endothelial cells. **Atherosclerosis**, v. 190, n. 2, p. 271-281, 2007.

SANZ, M.; LAU, L.; HERRERA, D.; MORILLO, J. M.; SILVA, A. Methods of detection of actinobacillus actinomycetemcomitans, porphyromonas gingivalis and tannerella forsythensis in periodontal microbiology, with special emphasis on advanced molecular techniques: A review. **J. Clin. Periodontol.**, v. 31, n. 12, p. 1034-1047, 2004.

SHAY, K. Infectious complications of dental and periodontal diseases in the elderly population. **Clin. Infect. Dis.**, v. 34, n. 9, p. 1215-1223, 2002.

STINSON, M. W.; ALDER, S.; KUMAR, S. Invasion and killing of human endothelial cells by viridans group streptococci. **Infect. Immun.**, v. 71, n. 5, p. 2365-2372, 2003.

VIDAL, F.; FIGUEREDO, C. M.; CORDOVIL, I.; FISCHER, R. G. Periodontal therapy reduces plasma levels of interleukin-6, c-reactive protein, and fibrinogen in patients with severe periodontitis and refractory arterial hypertension. **J. Periodontol.**, v. 80, n. 5, p. 786-791, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global atlas on cardiovascular disease prevention and control.** Geneva, 2011. Disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241564373_eng.pdf>. Acesso em: 20 Sept. 2011.

YETKIN, E.; WALTENBERGER, J. Molecular and cellular mechanisms of aortic stenosis. **Int. J. Cardiol.**, v. 135, n. 1, p. 4-13, 2009.

ZERNECKE, A.; WEBER, C. Inflammatory mediators in atherosclerotic vascular disease. **Basic Res. Cardiol.**, v.100, n. 2, p. 93-101, 2005.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) para participar, como voluntário, do projeto de pesquisa intitulado: “Análise molecular de bactérias orais em biofilme dental e válvulas cardíacas de pacientes com doença cardiovascular”, que tem por objetivo identificar, através de um exame, se bactérias da boca também estão presentes no coração.

Exame da boca será realizado no leito do hospital até um dia antes da cirurgia, com a utilização de materiais odontológicos básicos, como explorador e espelho, para avaliar os dentes, se estão cariados, com restauração ou se já foram extraídos, e verificar também a saúde da gengiva. Dois dentistas realizarão esse exame e, após essa avaliação, irão colher um pouco da sua saliva com a ajuda de um cone de papel para realizar uma análise, mas isso não irá causar dor para você.

Durante o exame odontológico, você pode sentir pequeno desconforto, que logo passará quando o exame terminar. Durante a cirurgia do coração, materiais danificados (válvula cardíaca), que seriam descartados como resíduos de materiais biológicos, serão coletados pelo cirurgião cardiovascular e utilizados para se avaliar se existem bactérias da boca nesses materiais do coração.

Essa coleta não irá trazer nenhum risco para você. Você pode desistir do estudo quando quiser, e mesmo assim ainda poderá realizar seu tratamento na faculdade de Odontologia. Não será divulgada a identidade (nome e imagem) de nenhum paciente que participar deste estudo.

Os pesquisadores irão utilizar os dados e o material coletado só para essa pesquisa. Além disso, os participantes ficarão sabendo dos resultados do estudo. Você não irá gastar nenhum dinheiro se participar dessa pesquisa, nem em exames e consultas. Mas você também não irá receber nenhum dinheiro para participar.

Em qualquer etapa do estudo, você poderá falar com os dentistas responsáveis pela pesquisa para tirar qualquer dúvida. Um dos dentistas é o Dr. Francisco Artur Forte Oliveira, que pode ser encontrada no endereço: Rua Padre Mororó, 1813, casa 32, Farias Brito. CEP: 60015-221; telefones: (85) 32810801; Cel: (85) 96566343. Email: arturforte@ymail.com.

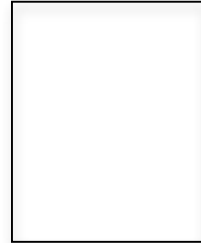
Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HUWC (Hospital Universitário

Walter Cantídeo) – Rua Francisco Pedro, 1290 – Rodolfo Teófilo - Fortaleza/Ce; fone: (85) 3366-85-89 – E-mail: : cephuwc@huwc.ufc.br”

Se você achar que está bem informado sobre o estudo que irá participar, os objetivos do estudo, o que será realizado, quais são os riscos e desconfortos, que é garantido que seu nome e imagem não serão divulgados, que você só participa desse estudo se quiser, e que você não irá receber nenhum dinheiro para participar dessa pesquisa, pedimos que assine no espaço abaixo.

Data ____/____/____

Assinatura do paciente/ representante legal



Impressão
Digital

Assinatura do responsável pelo estudo

APÊNDICE B – ÍNDICES CPOD E PSR

CPO-D - Registro dos números de dentes cariados, perdidos e obturados. A cada dente examinado atribui-se um dos seguintes códigos e condição ou estado dental:

Dentes Permanentes (Código)	Condição ou estado dental
0	Hígido
1	Cariado
2	Restaurado, mas com cárie
3	Restaurado e sem cárie
4	Perdido devido à cárie
5	Perdido por outras razões
6	Apresenta selante
7	Apoio de ponte ou coroa
8	Não irrompido - raiz não exposta
T	Trauma (Fratura)
9	Excluído

PSR – índice que avalia, através da utilização da sonda OMS-621, a condição periodontal quanto a higidez, sangramento, presença de cálculo dental ou bolsa periodontal, atribuindo, por sextante, os seguintes códigos:

0 – faixa colorida da sonda totalmente visível. Ausência de sangramento à sondagem, cálculo ou margem de restauração defeituosa;

1 – faixa colorida totalmente visível. Sextante com sangramento à sondagem, ausência de cálculo ou margem de restauração defeituosa;

2 - faixa colorida totalmente visível. Sangramento à sondagem, presença de cálculo e/ou restaurações mal adaptadas;


3 – faixa colorida parcialmente visível. Sangramento à sondagem, presença de cálculo, fatores retentivos de placa, bolsas rasas de 4 a 5 mm.

4 – faixa colorida não visível. Sangramento à sondagem, presença de cálculo, fatores retentivos de placa, bolsas profundas de 6 mm ou mais.

* - utilizado para indicar mobilidade dentária, recessão gengival, envolvimento de furca.

X - sextante excluído (menos de dois dentes presentes no sextante);

APÊNDICE C – FICHA CLÍNICA



Universidade Federal do Ceará
Programa de Pós-graduação em Odontologia
Mestrado em Clínica Odontológica

N°

Nome

Nascimento (DDIMMIAA) **Sexo** F M **Raça** **Idade**

Procedência

Valvulopatia

Fumante

 Sim
 Não
 Ex-fumante

Comorbidades

HAS

Diabetes Mellitus

Dislipidemia

Outras _____

Exame intra-oral (Pré-operatório)

CPO-D

18 17 16 15 14 13 12 11 21 22 23 24 25 26 27 28

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

48 47 46 45 44 43 42 41 31 32 33 34 35 36 37 38

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

C

P

O

CPOD

CODIGO	ESTADO DENTAL
0	HIGIDO
1	CARIADO
2	R C-CARIE
3	R S-CARIE
4	P D-CARIE
5	P D-OUTRAS RAZOES
6	SELANTE
7	APOIO PONTE OU COROA
8	N-IRRROMPIDO; RAIZ NAO EXPOSTA
T	TRAUMA
9	EXCLUIDO

PSR

1	2	3
6	5	4

- 0 - Faixa colorida da sonda totalmente visível. Ausência de sangramento à sondagem, cálculo ou margem da restauração defeituosa.
- 1 - Faixa colorida totalmente visível. Sextante com sangramento à sondagem, ausência de cálculo ou margem da restauração defeituosa.
- 2 - Faixa colorida totalmente visível. Sangramento à sondagem, presença de cálculo e/ou restaurações mal adaptadas.
- 3 - Faixa colorida parcialmente visível. Sangramento à sondagem, presença de cálculo, fatores retentores, bolsas rasas de 4 a 5 mm.
- 4 - Faixa colorida não visível. Sangramento à sondagem, presença de cálculo, fatores retentores, bolsas profundas de 6 mm ou mais.
- * - Utilizado para indicar mobilidade dentária, envolvimento de furca, recessão gengival e problemas mucogengivais.
- X - Sextante Excluído (menos de 2 dentes)

Elemento dentário (sítio) com maior profundidade de sondagem:

Data do exame. intra-oral:

Data da coleta subgengival:

Data da coleta supragengival:

Sítio para Coleta Subgengival:

Coleta Válvula Cardíaca (Trans-operatório)

Aórtica

Mitral

Tricúspide

Pulmonar

Estenose

Insuficiência

Ambos

Data:

ANEXO A – SEGUIMENTO DO REGIMENTO INTERNO

Art. 46 – As dissertações e as teses apresentadas ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará poderão ser produzidas em formato alternativo ou tradicional. O formato alternativo estabelece: a critério do orientador e com a aprovação da Coordenação do Programa, que os capítulos e os apêndices poderão conter cópias de artigos de autoria ou co-autoria do candidato, publicados ou submetidos para

11

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM

publicação em revistas científicas, escritos no idioma exigido pelo veículo de divulgação.

§1º - O orientador e o candidato deverão verificar junto às editoras a possibilidade de inclusão dos artigos na dissertação ou tese, em atendimento à legislação que rege o direito autoral, obtendo, se necessária, a competente autorização, deverão assinar declaração de que não estão infringindo o direito autoral transferido à editora.

§2º - A dissertação e a tese em formatos tradicionais ou formatos alternativos deverão seguir as normas preconizadas pelo Guia para Normalização de Trabalhos Acadêmicos da Biblioteca Universitária disponível no sítio <http://www.biblioteca.ufc.br>. As partes específicas do formato alternativo deverão ser feitas em concordância com o *Manual de Normalização para Defesa de dissertação de Mestrado e tese de Doutorado no formato Alternativo do PPGO*, disponível no sítio <http://www.ppggo.ufc.br>.

ANEXO B – PROTOCOLO DE APROVAÇÃO DO CEP

HUWC/UFC
Comitê de Ética em Pesquisa
Cód CEP- 117.11.11



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO WALTER CANTÍDIO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Rua Capitão Francisco Pedro, 1290 – Rodolfo Teófilo – 60.430-370 – Fortaleza-CE
FONE: (85) 3366-8589 / 3366.8613 E-MAIL: cephuwc@huwc.ufc.br

Protocolo nº: 117.11.11

Pesquisador(a) Responsável: Francisco Artur Forte Oliveira

Departamento / Serviço: Serviço de Cardiologia - HUWC/UFC

Título do Projeto: Análise molecular de bactérias orais em biofilme dental e válvulas cardíacas de pacientes com doença cardiovascular.

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Walter Cantídio analisou o projeto de pesquisa supracitado e, em tendo sido atendidas as pendências, baseando-se nas normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde (Resoluções CNS 196/96, 251/97, 292/99, 303/00, 304/00, 347/05, 346/05), resolveu classificá-lo como: **APROVADO**.

Salientamos a necessidade de apresentação de relatório ao CEP-HUWC da pesquisa dentro de 12 meses (data prevista: 20/12/2012).

Fortaleza, 20 de dezembro de 2011.


Coordenadora do CEP - HUWC