

Ocorrência de microrganismos periodontopatogênicos em pacientes com dependência química

Occurrence of periodontal pathogens in drug addiction patients

Ocurrencia de microrganismos periodontopatogênicos en pacientes con dependencia química

Ana Paula Miranda **VIEIRA**¹
 Francisco Isaac Nicolas **Ciesielski**¹
 Robson Varlei **RANIERI**¹
 Gilberto Aparecido **COCLETE**¹
 Christiane Marie **Schweitzer**²
 Elerson **GAETTI-JARDIM JÚNIOR**¹

¹*Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica, Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP-Univ. Estadual Paulista, Araçatuba-SP, Brasil*

²*Departamento de Matemática, Faculdade de Engenharia, UNESP-Univ. Estadual Paulista Ilha Solteira-SP, Brasil*

Resumo

A dependência química ganhou aspectos dramáticos em função de suas dimensões e dos efeitos que impõe aos atingidos. Esses agentes químicos são capazes de reduzir a reatividade imunológica e o reparo tecidual, além de potencializar a agressão microbiana, agravando a destruição do periodonto e outros efeitos colaterais. Esse estudo objetivou avaliar a presença dos principais patógenos periodontais na boca de pacientes dependentes, comparando-os com indivíduos que não apresentam essa dependência, bem como avaliar se as condições bucais afetam a ocorrência desses microrganismos. Para tanto, foram obtidos dados referentes às condições de saúde sistêmicas, socioeconômicas, consumo de medicamentos, uso de drogas lícitas ou ilícitas de 100 pacientes com dependência química mantidos em clínica de desintoxicação e igual número de pacientes não dependentes, que constituiram o grupo controle. Foram realizados exames clínicos intra e extrabucais e foram coletadas amostras de biofilme subgingival e supragingival, saliva e mucosas. A presença dos microrganismos alvo foi avaliada por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR). Verificou-se que *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola* mostraram relação com perda óssea e sangramento gengival, tanto entre dependentes quanto no grupo controle, sendo que as mucosas e a saliva dos dependentes mostraram maior ocorrência desses patógenos.

Descritores: Periodontite; Placa Dentária; Transtornos Relacionados ao Uso de Substâncias.

Abstract

Drug addiction won dramatic aspects in terms of its dimensions and the effects that it imposes. These chemical agents are able to reduce the immune reactivity and tissue repair, and enhance microbial aggression, aggravating the destruction of the periodontium and other side effects. This study aimed to evaluate the presence of key periodontal pathogens in the mouth of drug addiction patients, comparing it with individuals who do not exhibit this dependence, as well as assess the influence of oral conditions on the occurrence of such microorganisms. For this purpose, data on systemic health conditions, socioeconomic, patterns of licit or illicit drug consumption of 100 patients with chemical dependency kept in rehabilitation clinics and an equal number of non-dependent patients, who formed the control group were obtained. Intra and extraoral clinical examinations were performed and samples of supragingival and subgingival biofilm, saliva and mucous membranes were collected. The presence of the targeted microorganism was assessed by polymerase chain reaction (PCR). It was found that *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, and *Treponema denticola* showed close correlation with bone loss and gingival bleeding in drug addiction dependents and control group, but the oral mucous membranes and saliva of addicts showed higher occurrence of these pathogens.

Descriptors: Periodontitis; Dental Plaque; Substance-Related Disorders.

Resumen

La dependencia química ganó aspectos dramáticos en debido sus dimensiones y los efectos que impone lograr. Estos agentes químicos son capaces de reducir la reactividad inmune y reparación de los tejidos, mejorar la agresión microbiana, agravando la destrucción del periodonto y otros efectos secundarios. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la presencia de patógenos periodontales en la boca de los pacientes dependientes, comparándolos con las personas que no presentan esta dependencia, así como evaluar si las condiciones orales afectan la ocurrencia de estos microorganismos. Por lo tanto, los datos sobre las condiciones de salud sistémica, nivel socioeconómico, consumo de drogas lícitas o ilícitas de 100 pacientes con dependencia química tratados en clínicas de desintoxicación y de igual número de pacientes no dependientes, que constituían el grupo de control. Exámenes clínicos intra y extraorales se realizaron y muestras de biofilm supragingival y subgingival, se recogieron saliva y las mucosas. La presencia del microorganismos diana se evaluó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se encontró que *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, y *Treponema denticola* mostraron asociación con la pérdida de hueso y sangrado gingival entre tanto dependiente como el grupo de control, la mucosa y la saliva de los adictos mostraron mayor incidencia de estos patógenos.

Descritores: Periodontitis; Placa Dental; Trastornos Relacionados con Sustancias

INTRODUÇÃO

O consumo e o comércio de drogas lícitas ou ilícitas se converteram em verdadeiras enfermidades de âmbito global. O vertiginoso aumento no consumo de agentes com efeitos psicotrópicos, alguns lícitos, como tabaco ou álcool, outros ilícitos, como a cocaína, heroína, crack, solventes, ecstasy (metilenodioximetanfetamina), acabou por converter-se em sério problema de saúde pública, de difícil solução em função de sua natureza complexa e multifatorial²¹. O comportamento pessoal e estilo de vida exercem múltiplas influências sobre as condições de saúde bucal e sistêmica, muitas vezes pouco conhecidas dos próprios profissionais de saúde². Nesse sentido, a promoção da saúde, em seu sentido mais amplo, deve focar a qualidade de vida do indivíduo e de sua coletividade, estimulando a mudança de hábitos, como a redução do tabagismo e etilismo, bem como das drogas consideradas ilícitas, as quais estão associadas a devastadores efeitos sobre os sistemas orgânicos, além de causa frequente de violência e redução da expectativa de vida nos grandes centros urbanos¹².

A grande maioria desses agentes produz redução pronunciada da capacidade de reparo tecidual e da reatividade imunológica, levando a uma diminuição da resistência às infecções, além de potencializar reações de hipersensibilidade²⁷. Algumas drogas, como a cocaína, ainda produzem profunda vasoconstrição, a qual pode levar à necrose tecidual, aumentando a ocorrência de infecções oportunistas¹⁵, particularmente no periodonto², destacando-se as periodontites, onde um complexo microbiano estabelece relações sinérgicas capazes de induzir quadros de destruição dos tecidos de suporte^{21, 24}.

Dentre os microrganismos associados ao desenvolvimento das periodontites destacam-se os anaeróbios Gram-negativos, em particular *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*^{3, 9, 13, 16, 18, 20}, os quais apresentam extenso conjunto de fatores de virulência para agredir

os tecidos periodontais e são claramente oportunistas. Contudo, a literatura sobre a influência das drogas na microbiota bucal, em particular na distribuição de espécies periodontopatogênicas, ainda é escassa e somente aborda o efeito do tabaco e do álcool^{1, 17, 26}.

Em função dos efeitos vasculares produzidos por drogas ilícitas e lícitas, bem como a problemática do consumo desses agentes sobre as condições periodontais dos usuários, o presente estudo objetivou avaliar a ocorrência de três dos principais periodontopatógenos (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) nas amostras de biofilme supragengival, subgengival, mucosas e saliva de uma população de dependentes, correlacionando com as diferentes variáveis clínicas e as condições periodontais dos pacientes.

MATERIAL E MÉTODO

• POPULAÇÃO ESTUDADA

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP (parecer 82186). A amostra de pacientes com dependência química foi constituída de 100 indivíduos de ambos os sexos, em sua maioria jovens com idade variando de 18 a 35 anos, mantidos em regime de internato para desintoxicação em dois centros especializados, nos municípios de Araçatuba e Santa Fé do Sul, estado de São Paulo.

Foram incluídos na amostra os pacientes que autorizaram a participação na pesquisa, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e estavam para iniciar o tratamento. Os pacientes que participaram do presente estudo apresentavam registro médico sobre o histórico de uso de drogas, não utilizaram antimicrobianos ou fármacos capazes de alterar o fluxo salivar ou foram submetidos a tratamento odontológico nos seis meses que precederam o estudo. Pacientes portadores de infecções pelo vírus HIV foram excluídos do estudo. O grupo controle foi constituído de 100 pacientes de

ambos os sexos, na mesma faixa etária, não dependentes e não usuários de drogas lícitas ou ilícitas, que não apresentavam enfermidades sistêmicas debilitantes, que não utilizavam medicamentos imunossuppressores ou capazes de afetar a secreção de saliva, tampouco tinham utilizado drogas antimicrobianas ou recebido tratamento odontológico nos seis meses anteriores ao início do estudo foi submetido aos mesmos procedimentos clínicos e laboratoriais. A seleção dos pacientes desse grupo controle, a partir do conjunto de indivíduos que apresentavam características compatíveis, foi realizada através de um sistema de busca parametrizada.

Formulários padronizados foram preenchidos, constando informações referentes à identificação, idade, condições de saúde sistêmica, consumo de tabaco, consumo de bebida alcoólica, uso de drogas ilícitas, período de abstinência, além do exame físico. O questionário foi aplicado por assistentes sociais.

• EXAME CLÍNICO RADIOGRÁFICO BUCAL E COLETA DE ESPÉCIMES

Os exames periodontais foram realizados por um único examinador, utilizando-se os critérios do Periodontal Screening and Recording (PSR). Para os pacientes com PSR código 3 e 4, no exame periodontal complementar, procedia-se a avaliação radiográfica com filmes periapicais *Kodak Ekta Plus* e uso de posicionadores tipo RINN, pelo método do paralelismo. O exame radiográfico foi realizado no momento inicial do tratamento para dependência química. O aparelho radiográfico utilizado foi o modelo Spectro II, 70 Kvp, 10 mamp (*Dabi-atlante*).

As coletas de biofilme supragengival e saliva foram realizadas imediatamente antes do exame clínico das condições periodontais. A coleta de saliva era realizada através de dispositivos denominados Salivettes (Aktiengesellschaft, Nümbrecht, Alemanha), que permaneciam na boca por 15 segundos e eram centrifugados a 5.000 x g. por 2 minutos. A seguir, saliva resultante era transferida para criotubos contendo água ultrapura e armazenados a -196°C, até a

extração do DNA bacteriano. As amostras do biofilme supragengival foram removidas com auxílio de curetas esterilizadas e transferidas para água ultrapura. Os espécimes do biofilme subgengival foram obtidos com o uso de cones de papel absorvente esterilizados, após a remoção do biofilme supragengival. Após 30 segundos no interior dos sulcos gengivais ou bolsas periodontais, os cones de papel foram transferidos para criotubos contendo água ultrapura.

As amostras oriundas das mucosas bucais foram coletadas por meio de zaragatoas alginatadas gentilmente friccionadas contra o dorso da língua, assoalho de boca, vestibulo bucal e mucosa jugal. A seguir, as zaragatoas utilizadas foram transferidas para tubos contendo água ultrapura. A partir das amostras coletadas, procedeu-se a extração do DNA microbiano presente nas mesmas e a detecção dos microrganismos alvo.

• DETECÇÃO DOS MICRORGANISMOS ALVO POR PCR

O DNA das amostras clínicas nos criotubos com água ultrapura foi extraído através do “kit” QIamp DNA Mini Kit (QIagen, Hilden, Alemanha), segundo as especificações do fabricante, e o DNA obtido mantido a -80°C, até as reações de amplificação. As concentrações de DNA bacteriano foram determinadas em espectrofotômetro ($A_{260\text{ nm}}$).

A presença de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola* e foi avaliada por meio de amplificação do DNA microbiano através da reação em cadeia da polimerase (PCR), empregando-se iniciadores e condições específicas para cada microrganismo^{4, 13}. As reações de amplificação foram realizadas em aparelho de PCR (Perkin Elmer, GeneAmp PCR System 2400) programado para: 1 ciclo de 94°C (5 min.); de 35 ciclos de 94°C (1 min.), temperatura de anelamento de cada iniciador por 30s., 72°C (30s. a 2 min.) e 1 ciclo de 72°C (5 min.), para a extensão final da cadeia de DNA. Como controle positivo empregou-se DNA de cepas de referência dos microrganismos estudados. Os

produtos da amplificação pelo PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose (1%), corados com brometo de etídio (0,5 µg/ml) e fotografados sobre transiluminador de luz UV, com câmara Kodak (Electrophoresis Documentation and Analyses System 120). Como padrão de peso molecular utilizou-se o marcador 1Kb DNA ladder (Gibco, SP).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os testes de Qui-Quadrado e Mann-Whitney foram utilizados para avaliar a significância das possíveis associações entre os parâmetros clínicos e os aspectos microbiológicos foram avaliadas por regressão logística multivariada. O nível de significância adotado foi de 5%.

RESULTADOS

Entre os pacientes com dependência química examinadas, 51 apresentavam gengivite, 26 tinham periodontite crônica, 23 eram periodontalmente saudáveis. Dos pacientes do grupo controle, 44 eram portadores de gengivite, 22 apresentavam periodontite crônica, enquanto 34 eram periodontalmente saudáveis.

Os usuários de drogas lícitas e ilícitas faziam uso

de ampla variedade de associações de produtos, anteriormente à sua internação, sendo que apenas sete pacientes (7,0%) eram dependentes de uma única droga, no caso, as bebidas alcoólicas, enquanto os demais utilizavam diversas drogas concomitantemente, mostrando padrões de dependência bastante peculiares e pessoais, sendo que o tabaco foi consumido por 80% dos dependentes e a cocaína foi utilizada por 50% deles, enquanto o crack foi utilizado por 61% dos mesmos. Além desses compostos ainda merece consideração o consumo de bebidas alcoólicas (70%), maconha (41%), ácido lisérgico (LSD; 23%) e “ecstasy” (16%), quase sempre em associações.

As condições de higiene bucal são apresentadas na Tabela 1, sendo que não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos de pacientes (teste de Mann-Whitney, $p=0,62$), predominando aqueles com higiene oral moderada ou precária.

Os dados microbiológicos referentes ao grupo controle são apresentados na Tabela 2, enquanto os dados dos dependentes químicos são apresentados na Tabela 3.

Tabela 1. Ocorrência de membros da família *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa* e *A. baumannii* em amostras clínicas de pacientes mantidos em unidades de terapia intensiva e do grupo controle. Dados obtidos por PCR.

Espécime clínico	Grupo Experimental N(%)					
	UTI ⁵			GC ⁶		
	A.b ³	P.a ⁴	FE ⁵	A.b	P.a	FE
Bio. supragengival ⁶	9 (20,3)	5 (11,6)	17 (39,5)	4 (9,3)	3 (7,0)	8 (18,6)
Biof. subgengival ⁶	11 (25,6)	7 (16,3)	11 (25,6)	4 (9,3)	4 (9,3)	8 (18,6)
Sangue ⁷	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (8,7)	- ¹⁰	-	-
Saliva ⁸	9 (18,0)	5 (10,0)	11 (22,0)	4 (8,0)	2 (4,0)	3 (6,0)
Mucosa ⁸	6 (12,0)	5 (10,0)	8 (16,0)	4 (8,0)	4 (8,0)	4 (8,0)
Urina ⁷	0 (0,0)	0 (0,0)	6 (26,1)	-	-	-
Sec. respiratória ⁹	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (26,7)	-	-	-

¹Pacientes mantidos em unidades de terapia intensiva;

²Pacientes do grupo controle;

³A.b= *Acinetobacter baumannii*

⁴P.a= *Pseudomonas aeruginosa*

⁵FE= família *Enterobacteriaceae*

⁶Biofilme supragengival e subgengival N= 43;

⁷Amostras de sangue e urina N= 23;

⁸Amostras de saliva e mucosa N= 50;

⁹Secreção respiratória N= 15;

¹⁰Amostras de urina, secreção respiratória e sangue são restritas ao grupo de pacientes mantidos em unidade de terapia intensiva.

Tabela 2. Ocorrência de espécies da família *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa* e *A. baumannii* em amostras clínicas de pacientes mantidos em unidades de terapia intensiva e do grupo controle. Dados obtidos por cultura

Espécime clínico	Grupo Experimental N(%)					
	UTI ⁵			GC ⁶		
	A.b ³	P.a ⁴	FE ⁵	A.b	P.a	FE
Bio. supragengival ⁶	6 (14,0)	5 (11,6)	13 (30,2)	3 (7,0)	3 (7,0)	8 (18,6)
Biof. subgengival ⁶	9 (20,9)	7 (16,3)	11 (25,6)	4 (9,3)	4 (9,3)	7 (16,3)
Sangue ⁷	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	- ¹⁰	-	- ⁷
Saliva ⁸	5 (10,0)	3 (6,0)	5 (10,0)	4 (8,0)	1 (2,0)	1 (2,0)
Mucosa ⁸	5 (10,0)	5 (10,0)	8 (16,0)	2 (4,0)	2 (4,0)	4 (8,0)
Urina ⁷	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (17,4)	-	-	-
Sec. respiratória ⁹	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (26,7)	-	-	-

¹Pacientes mantidos em unidades de terapia intensiva;

²Pacientes do grupo controle;

³A.b= *Acinetobacter baumannii*

⁴P.a= *Pseudomonas aeruginosa*

⁵FE= família *Enterobacteriaceae*

⁶Biofilme supragengival e subgengival N= 43;

⁷Amostras de sangue e urina N= 23;

⁸Amostras de saliva e mucosa N= 50;

⁹Secreção respiratória N= 15;

¹⁰Amostras de urina, secreção respiratória e sangue são restritas ao grupo de pacientes mantidos em unidade de terapia intensiva.

Tabela 3. Ocorrência dos microrganismos alvo nas amostras saliva, biofilme supragengival, subgengival e mucosas de pacientes dependentes químicos.

Microrganismos	Espécimes N (%)			
	Biof. supragengival ¹	Biof. subgengival ²	Mucosa	Saliva
<i>P. gingivalis</i>	35 (35,0)	32 (32,0)	47 (47,0)	33 (33,0)
<i>T. forsythia</i>	19 (19,0)	23 (23,0)	62 (62,0)	35 (35,0)
<i>T. denticola</i>	21 (21,0)	20 (20,0)	51 (51,0)	38 (38,0)

¹Biofilme supragengival

²Biofilme subgengival

A distribuição dos patógenos estudados nos diferentes espécimes clínicos, em relação à condição periodontal dos dois grupos de pacientes, é apresentada na Tabela 4, evidenciando maior presença dos três microrganismos alvo no biofilme supragengival, mucosa e saliva de pacientes saudáveis com dependência em relação ao grupo controle na mesma condição periodontal (teste de Qui-Quadrado, $p < 0,001$ a $p = 0,036$), enquanto no biofilme subgengival de pacientes periodontalmente saudáveis, apenas *P. gingivalis* mostrou-se mais frequente entre os

dependentes (teste de Qui-Quadrado, $p = 0,041$). Entre os pacientes com gengivite, o biofilme supragengival apresenta maior ocorrência de *P. gingivalis* e *T. forsythia* (teste de Qui-Quadrado, $p = 0,021$ a $p = 0,05$), enquanto esses dois microrganismos são mais frequentes no biofilme subgengival dos pacientes do grupo controle, quando comparados com os dependentes químicos, sendo que esses últimos apresentavam uma maior distribuição dos três microrganismos anaeróbios nas amostras de saliva e mucosa (teste de Qui-Quadrado, $p < 0,001$).

Tabela 4. Ocorrência dos microrganismos alvo nos espécimes clínicos de pacientes dependentes químicos e no grupo controle, de acordo com a condição periodontal.

Espécime	Microrganismo	Grupo Experimental N (%)					
		Dependentes químicos			Grupo controle		
		PG ¹	PP ²	PS ³	PG	PP	PS
Biof. supragengival	<i>P. gingivalis</i>	15 (29,4)	13 ()	8 (34,8)	5 (11,4)	15 (68,2)	7 (20,6)
	<i>T. forsythia</i>	9 (17,6)	11 ()	4 (17,4)	3 (6,8)	13 (59,1)	1 (2,9)
	<i>T. denticola</i>	9 (17,6)	9 ()	5 (21,7)	5 (11,4)	11 (50,0)	1 (2,9)
Biof. subgengival	<i>P. gingivalis</i>	14 (27,5)	15 ()	8 (34,8)	13 (29,5)	18 (81,8)	7 (20,6)
	<i>T. forsythia</i>	8 (15,7)	13 ()	6 (26,1)	10 (22,7)	13 (59,1)	5 (14,7)
	<i>T. denticola</i>	9 (17,6)	15 ()	2 (8,7)	10 (22,7)	13 (59,1)	4 (11,8)
Mucosa	<i>P. gingivalis</i>	20 (39,2)	18 (69,2)	9 (39,1)	7 (15,9)	10 ()	2 (5,9)
	<i>T. forsythia</i>	30 (58,8)	20 (76,9)	12 (52,2)	2 (4,5)	12 ()	0 (0,0)
	<i>T. denticola</i>	23 (45,1)	16 (61,5)	12 (52,2)	4 (9,1)	7 ()	0 (0,0)
Saliva	<i>P. gingivalis</i>	16 (31,4)	14 ()	7 (30,4)	3 (6,8)	12 (54,5)	1 (2,9)
	<i>T. forsythia</i>	16 (31,4)	12 (54,5)	7 (30,4)	4 (9,1)	10 (45,5)	0 (0,0)
	<i>T. denticola</i>	20 (39,2)	11 ()	9 (39,1)	2 (4,5)	13 (59,1)	2 (5,9)

¹Pacientes com gengivite: dependentes N= 51, controle N= 44; ²Pacientes com periodontite: dependentes N= 26, controle N= 22;

³Pacientes periodontalmente sadios: dependentes N= 23, controle N= 34. ⁴Biofilme supragengival. ⁵Biofilme subgengival

DISCUSSÃO

A utilização de numerosas associações de drogas lícitas e ilícitas é um fenômeno bastante disseminado, com sérias consequências para os tecidos bucais e a capacidade cognitiva dos pacientes, isso sem considerar os efeitos imunológicos, cardiovasculares e sociais. Nos pacientes que apresentavam dependência por mais de 5 anos, a presença de mucosite foi observada, mostrando correlação com o consumo de tabaco e álcool e crack, além de histórico de anemia, desnutrição e retardo do processo de reparo. A despeito dessa abrangência, pouca atenção tem sido dada pela Odontologia para o problema da dependência química e seus efeitos sobre a saúde bucal¹⁹.

Como agravante, o consumo de drogas pode reduzir a motivação para tarefas do cotidiano, como os hábitos de higiene oral, predispondo às doenças periodontais e outras enfermidades ligadas ao biofilme. Entretanto, os dados de higiene obtidos da população de dependentes não foi significativamente diferente daqueles verificados na população controle, predominando aqueles com higiene oral moderada ou precária. Essa semelhança quanto às condições de higiene entre dependentes e não dependentes pode

refletir uma peculiaridade da população estudada, uma vez que Laslett et al.¹⁹ mostraram que a grande maioria dos dependentes não tem acesso à orientação odontológica e prevenção, o que contrasta com o presente estudo, onde os dependentes eram atendidos em clínicas e hospitais de reabilitação, mostrando que, a despeito da condição em que se encontravam, ainda apresentavam o suporte familiar e profissional.

O consumo de tabaco, ecstasy, cocaína, crack e outros agentes está associado com vasoconstrição profunda e persistente, podendo levar à necrose tecidual e profundo retardo do processo de reparo²², sendo que a nicotina pode exacerbar os efeitos cardiovasculares da cocaína, potencializando sua ação vasoconstritora e induzindo aumento da liberação e do tempo de atividade de mediadores adrenérgicos, possivelmente criando condições favoráveis para a proliferação de microrganismos anaeróbios, que necessitam de condições redox negativas para seu metabolismo. A nicotina ainda pode potencializar a perda óssea associada com as periodontites⁶, sendo que formas mais agressivas de periodontite vêm sendo reconhecidas em pacientes com histórico de uso de

tabaco, crack ou cocaína. Possivelmente esse risco aumentado de infecções decorre, pelo menos parcialmente, do efeito dessas drogas psicotrópicas sobre o sistema imunológico, como ocorre com o álcool¹, produzindo uma redução de reatividade imunológica, potencialização de reações de hipersensibilidade, levando a uma diminuição da resistência a infecções e da capacidade de reparo tecidual, efeitos que também podem ser potencializados pelo consumo de bebidas alcoólicas²⁷. Esses possíveis efeitos sobre o hospedeiro podem colaborar para as peculiaridades da microbiota bucal desses pacientes, principalmente no que concerne a ocorrência de microrganismos anoxibiontes, como *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *T. denticola*.

Os anaeróbios obrigatórios dos gêneros *Porphyromonas*, *Tannerella* e *Treponema* vêm sendo associados com destruição óssea e inflamação periodontal^{7, 18, 20, 23, 28}, por vezes a casos de necrose tecidual¹⁰, e apresentam metabolismo proteolítico, o que pode facilitar a evasão do sistema imunológico, como imunoglobulinas e proteínas do sistema complemento³, além de favorecer a capacidade de invasão tecidual. Essa invasividade pode prevenir a atividade de drogas antimicrobianas que, de outra forma, seriam eficazes em controlar as populações desses patógenos, além do próprio papel do biofilme em proteger as comunidades microbianas da ação desses agentes⁵. As enzimas proteolíticas desses anaeróbios desempenham um importante papel na nutrição bacteriana e podem levar à destruição periodontal.

A maior ocorrência desses microrganismos entre os dependentes, principalmente nas amostras mucosas e saliva, que são mais expostos aos efeitos do oxigênio molecular, e em todos os espécimes clínicos de indivíduos periodontalmente saudáveis, pode estar associada aos efeitos da dependência química sobre o potencial redox tecidual, fruto da vasoconstrição profunda provocada por essas drogas, que

normalmente mascaram o componente inflamatório da gengivite e periodontite.

Enquanto nos pacientes do grupo controle a distribuição desses microrganismos apresenta uma relação direta com as condições periodontais, no grupo de dependentes, a presença de *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *T. denticola* mostrou relação com perda óssea, mas também foram frequentes no biofilme e, especialmente, mucosas e saliva de pacientes com periodonto saudável ou com gengivite. É possível que as condições das superfícies mucosas dos dependentes venham a favorecer essa colonização por anaeróbios Gram-negativos, assemelhando-se com o que ocorre com o biofilme subgengival de pacientes com periodontite. A distribuição desses microrganismos entre os dependentes químicos, no biofilme supragengival e subgengival, foi semelhante ao observado nos indivíduos do grupo controle com as mesmas condições periodontais, mas nas amostras de mucosa e saliva os dependentes mostraram uma ocorrência significativamente maior desses anaeróbios, o que pode dar apoio ao papel acima sugerido para o efeito das drogas na composição da microbiota bucal. Uma abordagem semelhante tem sido dada para os tabagistas¹⁷.

Os dados aqui apresentados quanto à ocorrência de *P. gingivalis* foram semelhantes a dados de outras populações de não dependentes^{8, 9, 20, 23}, embora não estejam disponíveis dados sobre a distribuição desse bastonete Gram-negativo nas mucosas desses pacientes. Essa discrepância entre a ocorrência de um periodontopatógeno e suas populações já foi previamente relatada²⁴. O papel de *T. forsythia* no desenvolvimento das periodontites humanas ainda necessita de maior esclarecimento, mas a literatura sugere que esse anaeróbio de cultivo exigente é parte integrante do conjunto de microrganismos de maior virulência sobre os tecidos periodontais, podendo participar da etiologia dos quadros crônicos ou mais agressivos dessas enfermidades bucais^{20, 23}.

Estudos^{8, 9, 25} realizados em diversas populações evidenciaram que *Treponema denticola*, a espiroqueta bucal mais amplamente estudada, apresenta relação com a perda de inserção conjuntiva e é detectada em frequência superior nos pacientes com periodontite ativa. Por outro lado, sua ocorrência pode ser considerada um indicativo das condições inflamatórias do periodonto e da eficácia do tratamento instituído. Esta espiroqueta é dotada de grande motilidade, podendo também aderir a fibroblastos, células epiteliais, eritrócitos, fibronectina e à hidroxiapatita coberta por saliva, além de invadir células e tecidos, induzir a degranulação de leucócitos polimorfonucleares e o aumento da produção de proteases, estes fatores de virulência são facilitados em pacientes irradiados com a depleção da célula epitelial¹¹. Esse anaeróbio também apresenta atividade hemolítica, imunossupressora e algumas linhagens expressam em sua superfície proteínas com atividade citotóxica. Enzimas proteolíticas e produtos metabólicos também são prováveis fatores de virulência desta bactéria. Nesse sentido, a maior prevalência de *T. denticola*, bem como o aumento nas suas populações no sulco gengival, em pacientes com periodontite, normalmente são relacionadas com a progressão da doença¹⁴.

Os resultados aqui apresentados evidenciam que para o grupo controle, o biofilme subgengival parece ser o principal habitat de *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *T. denticola*, enquanto que, entre os dependentes, esses patógenos foram encontrados com a mesma frequência nos dois biofilmes, mostrando-se mais frequentes nas amostras de mucosa e saliva, cuja contaminação depende, em grande parte, do próprio biofilme. É possível que, devido à grande diversidade de espécies no biofilme, em relação aos demais ambientes bucais, a detecção desses microrganismos tenha sido subestimada em relação à mucosa e saliva, onde a contaminação microbiana é significativamente reduzida.

CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo evidenciaram que a ocorrência desses anaeróbios Gram-negativos é significativamente mais elevada entre dependentes químicos, sendo que diferenças com os indivíduos do grupo controle foram mais proeminentes quando eram comparados os pacientes periodontalmente sadios ou aqueles com gengivite, sugerindo que a dependência química pode favorecer a colonização bucal por anaeróbios bucais, mesmo na ausência de perda de inserção conjuntiva.

REFERÊNCIAS

1. Amaral CSF, Silva-Boghossian CM, Leão ATT, Colombo APV. Evaluation of the subgingival microbiota of alcoholic and non-alcoholic individuals. *J Dent*. 2011; 39: 729-738.
2. Amaral CSF, Luiz RR, Leão ATT. The relationship between alcohol dependence and periodontal disease. *J Periodontol*. 2008; 79: 993-998.
3. Armitage, G. Comparison of the microbiological features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol*. 2000 2010; 53: 70-88.
4. 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: 266-273.
5. Berezow AB, Darveau RP. Microbial shift and periodontitis. *Periodontol*. 2000 2011; 55: 36-47.
6. Bosco AF, Bonfante S, de Almeida JM, Luize DS, Nagata MJ, Garcia VG. A histologic and histometric assessment of influence of nicotine on alveolar bone loss in rats. *J Periodontol*. 2007; 78: 527-532.
7. Botero JE, Contreras A, Lafaurie G, Jaramillo A, Betancourt M, Arce RM. Occurrence of periodontopathic and superinfecting bacteria in chronic and aggressive periodontitis subjects in a Colombian population. *J Periodontol*. 2007; 78:

- 696-704.
8. Décaillet F, Giannopoulou C, Cionca N, Almaghlouth A, Mombelli A. Microbial profiles of patients seeking treatment for periodontitis. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.* 2012; 122: 198-204.
 9. Farias B.C.; Souza, P.R.E.; Ferreira, B.; Melo, R.S.A.; Machado, F.B.; Gusmão, E. S.; Cimdões, R. Occurrence of periodontal pathogens among patients with chronic periodontitis. *Braz. J. Microbiol.* v. 3, p. 909-16, 2012.
 10. Feller L, Altini M, Chandran R, Khammissa RAG, Masipa JN, Mohamed A, Lemmer J. Noma (cancrum oris) in the South African context. *J Oral Pathol Med.* 2014; 43: 1- 6.
 11. Fenno, J. C.; McBride, B. C. Virulence factors of oral treponemes. *Anaerobe*, v. 4, p. 1-17, 1996.
 12. Fernández-Montalvo J, López-Goñi JJ, Arteaga A. Violent behaviors in drug addiction: differential profiles of drug-addicted patients with and without violence problems. *J Interp. Viol.* 2012; 27: 142-157.
 13. Gaetti-Jardim Jr E, Monti LM, Ciesielski FIN, Gaetti-Jardim EC, Okamoto AC, Schweitzer CM, Avila-Campos MJ. Subgingival microbiota from *Cebus apella* (capuchin monkey) with different periodontal conditions. *Anaerobe* 2012; 18: 263-269.
 14. Haapasalo M, Hannam P, McBride BC, Uitto V-J. Hyaluronan a possible ligand mediating *Treponema denticola* binding to periodontal tissue. *Oral Microbiol Immunol.* 1996; 11:156-160.
 15. Hajishengallis G, Lamont RJ. Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Mol. Oral Microbiol.* 2012; 27: 409-419.
 16. Koyanagi T, Sakamoto M, Takeuchi Y, Maruyama N, Ohkuma M, Izumi Y. Comprehensive microbiological findings in peri-implantitis and periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2013; 40: 218 - 226.
 17. Kumar PS, Matthews CR, Joshi V, Jager M, Aspiras M. Tobacco smoking affects bacterial acquisition and colonization in oral biofilms. *Infect Immun.* 2012; 79: 4730-478.
 18. Lafaurie GI, Contreras A, Barón A, Botero J, Mayorga-Fayad I, Jaramillo A et al. Demographic, clinical and microbial aspects of chronic and aggressive periodontitis in Colombia: a multicenter study. *J Periodontol.* 2007; 78: 629-639.
 19. Laslett A-M, Dietze P, Dwyer R. The oral health of street-recruited injecting drug users: prevalence and correlates of problems. *Addiction* 2008; 103: 1821-1825.
 20. Loozen G, Ozcelik O, Boon N, De Mol A, Schoen C, Quirynen M, Teughels W. Inter-bacterial correlations in subgingival biofilms: a large-scale survey. *J Clin Periodontol.* 2014; 41:1-10.
 21. Nestler EJ. Epigenetic mechanisms of drug addiction. *Neuropharmacology Part B* 2014; 76: 259-268.
 22. Pieper B, Hopper JA. Injection drug use and wound care. *Nurs Clin N Amer.* 2005; 40: 349-363.
 23. Pradhan-Palikhe P, Mäntyla P, Paju S, Buhlin K, Persson R, Nieminen MS et al. Subgingival bacterial burden in relation to clinical and radiographic periodontal parameters. *J Periodontol.* 2013; 84;. 1809-1817.
 24. Quirynen M, Van Assche N. Microbial changes after full-mouth tooth extraction, followed by 2-stage implant placement. *J Clin Periodontol.* 2011; 38: 581-589.
 25. Ramseier CA, Kinney JS, Herr AE, Braun T, Sugai JV, Shelbourne CA et al. Identification of pathogen and host-response markers correlated with periodontal disease. *J. Periodontol.* 2009; 80:

436 - 446.

26. Shchipkova AY, Nagaraja HN, Kumar PS. Subgingival microbial profiles of smokers with periodontitis. J Dent Res. 2010; 89: 1247-1253.
27. Waldschmidt TJ, Cook RT, Kovacs EJ. Alcohol and inflammation & immune responses: summary of the 2006 alcohol and immunology research interest group (AIRIG) meeting. Alcohol. 2008; 42: 137-142.
28. Ximenez-Fyvie LA, Almaguer-Flores A, Jacobo-Soto V, Lara-Cordoba M, Sanchez-Vargas LO, Alcantara-Maruri E. Description of the subgingival microbiota of periodontally untreated Mexican subjects: chronic periodontitis and periodontal health. J Periodontol. 2006; 77: 460 - 471.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

Christiane Marie Schweitzer

Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, UNESP
chris@mat.feis.unesp.br

Submetido em 23/07/2014

Aceito em 02/08/2014