

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

KARINE FATIMA LYKO

FATORES SOCIAIS, COMPORTAMENTAIS E MICROBIOLÓGICOS ASSOCIADOS
À SAÚDE BUCAL DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM ANEMIA DE FANCONI

CURITIBA

2012

KARINE FATIMA LYKO

FATORES SOCIAIS, COMPORTAMENTAIS E MICROBIOLÓGICOS ASSOCIADOS
À SAÚDE BUCAL DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM ANEMIA DE FANCONI

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração em Saúde Bucal durante a Infância e Adolescência, Departamento de Estomatologia, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientador: José Miguel Amenábar Céspedes

Coorientadora: Elaine Machado Benelli

CURITIBA

2012

Lyko, Karine Fatima

Fatores sociais, comportamentais e microbiológicos associados à saúde bucal de crianças e adolescentes com anemia de Fanconi / Karine Fátima Lyko – Curitiba, 2012.

90 f.: il. ; 30 cm.

Orientador: Professor Dr. José Miguel Amenábar

Coorientadora: Professora Dra. Elaine Machado Benelli

Dissertação (mestrado) –Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Departamento de Estomatologia, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná. Área de Concentração em Saúde Bucal durante a Infância e a Adolescência

Inclui bibliografia

1. Anemia de Fanconi. 2. Biofilme dentário. 3. Saliva.
4. Microbiologia. I. Amenábar, José Miguel. II. Benelli, Elaine Machado. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 617.601

TERMO DE APROVAÇÃO

KARINE FÁTIMA LYKO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO

FATORES SOCIAIS, COMPORTAMENTAIS E MICROBIOLÓGICOS
ASSOCIADOS À SAÚDE BUCAL DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM
ANEMIA DE FANCONI

Dissertação aprovada como requisito parcial à obtenção do grau de mestre no Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Concentração em Saúde Bucal durante a Infância e Adolescência, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, pela seguinte Banca Examinadora:



Orientador: Prof. Dr. José Miguel Amenábar Céspedes
Departamento de Estomatologia, UFPR



Profa. Dra. Cyntia Maria Telles Fadel-Picheth
Departamento de Patologia Médica, UFPR



Prof. Dr. Fábio André dos Santos
Departamento de Odontologia - UEPG

Curitiba, 30 de março de 2012.

À Deus por ser comigo e sempre me fortalecer.

À Fatima, minha mãe, por estar sempre me apoiando e incentivando.

Aos pacientes desse estudo por estarem sempre dispostos, receptivos e me ensinarem muito mais sobre a vida.

AGRADECIMENTOS

À Deus por me fortalecer, dar direção e criar situações inesperadas e fantásticas na minha vida!

Ao Professor Doutor José Miguel Amenábar Céspedes por acreditar e incentivar à pesquisa desde a graduação, além da orientação e suporte para a realização deste trabalho.

À Professora Doutora Elaine Machado Benelli que além de orientadora tornou-se uma grande amiga, ensinando-me situações diversas no laboratório e até como ter uma vida mais saudável! Obrigada pelos maravilhosos morangos secos!

Ao Professor Doutor Cassius Carvalho Torres-Pereira pela confiança desde a graduação quando fui inserida no programa de iniciação científica, no TMO, por me “emprestar” seus alunos do PET para eu que eu pudesse aperfeiçoar minha vida acadêmica e também pela oportunidade de participar da criação do “Espaço de Convivência e Produção Acadêmica”.

Ao Professor Doutor Fabian Calixto Fraiz pela confiança e oportunidade de fazer parte deste programa de pós-graduação.

Aos demais professores do Programa de pós-graduação por acreditarem em mim e estarem disponíveis quando precisei.

À Doutora Carmem Bonfim e equipe do TMO por confiarem em meu trabalho e me receberem em seu espaço.

Ao Doutor Ricardo Pasquini Filho por permitir minha presença durante os seus atendimentos no TMO e pelas manhãs agradáveis de conversa o que possibilitou aumentar meus conhecimentos.

Ao Professor Doutor Mário Júlio Ávila Campos e Professora Doutora Maria Regina do Departamento de Microbiologia da USP por fornecer os DNAs dos microrganismos estudados.

Aos pacientes que certamente me ensinaram, desde a minha iniciação científica, como ser melhor, como enfrentar as dificuldades com garra e não se abater, nem se render. Muito obrigada por me darem alguns minutos do seu tempo e alegrarem o meu dia quando entravam correndo no consultório.

Aos Professores Doutores Hércules Jorge Almilhatti e João Luiz Neves Pereira por me incentivarem a percorrer o caminho acadêmico.

Às inesquecíveis amigas de laboratório Fabiana Marques Staut e Judith Angélica Gonzáles Sullkahuamán por estarem sempre comigo, inclusive nos finais de semana “laboratoriais”.

Às colegas Anna Clara D`Agulham, Larissa Guimarães, Renata Possebon e Renata Lins pela convivência nas manhãs de terça-feira no ambulatório de TMO do HC, onde nos ajudamos e trocamos experiências.

Aos colegas de pós-graduação por poder dividir com vocês meus dias e criar amizades tão preciosas. Obrigado por me ajudarem a alcançar essa conquista.

Aos alunos de extensão pelas manhãs que passamos no ambulatório de TMO e pelos momentos cômicos que passamos no desenvolvimento do folder para o TMO. Adorei ter fotografias como vocês.

Aos alunos do PET Odontologia por me lembrarem meu tempo de graduação e por confiarem em minhas sugestões, fazendo com que eu crescesse muito no relacionamento professora - alunos.

Aos alunos de iniciação científica: Laura Cavalcanti Grein por me acompanhar quando o assunto era Anemia de Fanconi e estar sempre disposta a ajudar; Cristianne da Silva por me ajudar no TMO e por receber nossos DNAs prestativamente e ao Juliano Morimoto por me ajudar no laboratório de bioquímica e deixar o trabalho nos finais de semana mais animados.

À Ana secretária da pós-graduação por estar sempre pronta a me ajudar mesmo diante as incansáveis visitas diárias.

À minha mãe por em toda a minha vida nunca me deixar faltar condições para realizar os meus sonhos. Sendo com gestos, palavras, força, puxões de orelha ou recursos financeiros. Obrigada por todo o seu amor mesmo entre grandes dificuldades, além de me fazer conhecer o verdadeiro sentido da vida, o nosso MARAVILHOSO DEUS!!!

Às amigas Claudia Tria, Raphaela Cadena e Caroline Appel que entenderam desde antes do ingresso na universidade minha ausência, primeiro para estudar para o vestibular, depois para estudar para as provas na graduação e agora pela ausência devido à dedicação exclusiva ao mestrado. Obrigada pelo apoio de vocês amigas!

À Universidade Federal do Paraná por me proporcionar agradabilíssimos 6 anos de permanência nesta casa, onde tive o mais excelente aprendizado em Odontologia.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao REUNI pela concessão da bolsa por subvenção de parte deste trabalho.

“... mas uma coisa faço: Esquecendo o que fica para trás e avançando para o que está adiante, prossigo rumo ao alvo para conseguir o prêmio...”

Filipenses 3, 13-14.

RESUMO

A Anemia de Fanconi (AF) é uma desordem genética de fenótipo variado sendo o mais importante a falência medular progressiva. O único recurso terapêutico com possibilidade de cura das complicações hematológicas é o transplante de células tronco hematopoéticas (TCTH). O regime de condicionamento terapêutico antes e após o TCTH pode provocar alterações da microbiota bucal em pacientes com AF aumentando o risco de problemas bucais e agravando o quadro clínico geral. O propósito deste estudo foi avaliar fatores sociais, comportamentais e microbiológicos associados à saúde bucal de crianças e adolescentes com AF. A amostra foi composta por três grupos: AF pré-transplante (n=25), AF pós-transplante (n=23) e controle (n=24). Os indivíduos com AF foram avaliados no Serviço de Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas da UFPR, entre abril/2011 e julho/2011 e os indivíduos saudáveis foram avaliados na Clínica de Odontologia da UFPR, entre maio/2011 e dezembro/2011. Todos os pacientes leram e aceitaram participar do estudo assinando o termo de consentimento. A idade média dos grupos foi de 10 anos (6 a 18 anos). Os hábitos de higiene dos indivíduos em geral foi caracterizado com três ou mais escovações ao dia, sem o uso de fio dental e enxaguatório bucal. Diferenças significativas não foram observadas entre os grupos quanto aos hábitos de higiene. No acesso odontológico, os grupos pré-transplante e controle utilizaram o serviço odontológico público pelo menos uma vez no último ano para avaliação de rotina. Em geral, o grupo pós-transplante visitou o cirurgião-dentista do serviço privado liberal em menos de um ano também para avaliação de rotina. O Índice de Higiene Oral-Simplificado (IHO-S) não apresentou diferença significativa entre os grupos, sendo em sua maioria insatisfatório. A prevalência salivar de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e *Fusobacterium nucleatum* foi de 44%, 84%, 24% e 64% respectivamente para o grupo pré-transplante; de 65%, 96%, 22% e 48% para o grupo pós-transplante e de 58%, 75%, 46% e 75% para o grupo controle. No biofilme supragengival a presença de *A. actinomycetemcomitans* foi observada em apenas uma amostra do grupo pré-transplante. *P. gingivalis* foi detectado em uma amostra do biofilme supragengival dos grupos pré e pós-transplante *T. denticola* esteve presente em 16% no grupo pré-transplante, não sendo detectado em outros grupos. A presença de *F. nucleatum* no biofilme supragengival foi de 62% no grupo pré-transplante, 38% no grupo pós-transplante e 30% no controle. Diferenças significativas não foram observadas entre os grupos no que diz respeito aos fatores comportamentais e a presença dos microrganismos estudados na saliva e biofilme supragengival, sugerindo que as alterações sistêmicas observadas nos pacientes com AF e o acondicionamento pré-transplantes não afetou a distribuição destes microrganismos na saliva e no biofilme supragengival.

Palavras-chave: Anemia de Fanconi. Biofilme dentário. Saliva. Microbiologia.

ABSTRACT

The Fanconi Anemia (FA) is a genetic disorder with a varied phenotype that leads to a progressive bone marrow failure. The only therapeutic option with the possibility of cure is the hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). The conditioning treatment before and after the HSCT can cause alterations in the oral microbiota of these patients and increases the risk of dental problems. The aim of this study was to evaluate social, behavioral and microbiological aspects associated with the oral health of children and adolescents with FA. The sample was composed by three groups: FA pre-transplant (n = 25) FA post-transplant (n = 23) and Control (n = 24). Subjects with FA were evaluated in the Bone Marrow Transplantation Service, Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, from April/2011 to July/2011 and the control subjects were evaluated at the Dental School, Universidade Federal do Paraná, from May/2011 to December/2011. All patients read and agreed to participate signed a consent form. The mean age of the groups was 10 years (6-18 years). The profile of oral hygiene habits from all the groups included tooth brushing three or more times a day, no use of dental floss or mouthwash. No statistical differences were found among the groups. Regarding to the dental treatment access, while the control and pre-transplant groups assisted public dental service for routine evaluation in the last year, the post-transplant group used private practice dentists in the last a year also for routine evaluation. The Simplified Oral Hygiene Index (IHO-S) showed no significant difference among groups, being mostly unsatisfactory. The detection *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* and *Fusobacterium nucleatum* in saliva was 44%, 84%, 24% and 64% respectively in the pre-transplant group, 65%, 96%, 22% and 48% in the post-transplant group and 58%, 75%, 46% and 75% in the control group. The presence of *A. actinomycetemcomitans* in supragingival plaque was observed only in one sample of the pre-transplant group. *P. gingivalis* was detected in one sample of the supragingival plaque in both pre-transplant and post-transplant groups. *T. denticola* was present in 16% of the samples of pre-transplant group and it was not detected in other groups. *F. nucleatum* was present in 62% of dental plaque samples from the pre-transplant group, 38% from the post-transplant group and 30% of the control group. Significant differences were not observed among the groups regarding to the presence of microorganisms in saliva and supragingival plaque suggesting that the systemic changes observed in patients with FA and conditioning treatment before the HSCT did not affect the distribution of these microorganisms in saliva and supragingival biofilm.

Key-words: Fanconi's Anemia. Dental Plaque. Salivary. Microbiology.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	HIPÓTESE DA PLACA ECOLÓGICA.....	29
FIGURA 2 -	MODELO DE COLONIZAÇÃO BACTERIANA.....	30
FIGURA 3 -	ESQUEMA DE CICLAGEM TERMICA.....	38
FIGURA 4 -	FLUXOGRAMA DA DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS DE BIOFILME SUPRAGENGIVAL POR GRUPO CURITIBA- PR, 2011.....	42
FIGURA 5 -	PERFIL DE MIGRAÇÃO ELETROFORÉTICA DOS FRAGMENTOS DE PCR AMPLIFICADOS COM OS INICIADORES DOS DIFERENTES MICRORGANISMOS PRESENTES NA SALIVA. GEL DE AGAROSE 1,5%. CURITIBA-PR, 2012.....	56
FIGURA 6 -	PERFIL DE MIGRAÇÃO ELETROFORÉTICA DOS FRAGMENTOS DE PCR AMPLIFICADOS COM OS INICIADORES DOS DIFERENTES MICROGANISMOS NO BIOFILME SUPRAGENGIVAL. ELETROFORESE EM GEL DE AGAROSE 1,5%. CURITIBA-PR, 2011.....	58
FIGURA 7 -	FLUXOGRAMA DA DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS DE BIOFILME SUPRAGENGIVAL POR GRUPO. CURITIBA- PR, 2011.....	59

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - RESPONSÁVEIS PELO PREENCHIMENTO DO QUESTIONÁRIO DE INDIVÍDUOS AVALIADOS. CURITIBA-PR, 2011.....	49
GRÁFICO 2 - CLASSIFICAÇÃO DO ÍNDICE DE HIGIENE ORAL SIMPLIFICADO. CURITIBA-PR, 2011.....	53
GRÁFICO 3 - COMPARAÇÃO ENTRE MICRORGANISMOS PRESENTES NA SALIVA E NO BIOFILME. CURITIBA-PR, 2011.....	60

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	SEQUÊNCIA E TAMANHO DOS INICIADORES UTILIZADOS NESSE ESTUDO. CURITIBA-PR, 2011.....	44
TABELA 2 -	CICLAGEM TERMICA DE <i>A. actinomycetemcomitans</i> , <i>P. gingivalis</i> , <i>T. denticola</i> e <i>F. nucleatum</i> . CURITIBA-PR, 2011.	45
TABELA 3 -	CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA SEGUNDO GRUPOS, IDADE, GÊNERO, IDADE DE DESCOBERTA DA ANEMIA DE FANCONI E RENDA FAMILIAR. CURITIBA-PR, 2011.....	48
TABELA 4 -	USO DE SERVIÇOS ODONTOLÓGICOS. CURITIBA-PR, 2011.....	50
TABELA 5 -	INFORMAÇÃO E AUTOPERCEPÇÃO DO TRATAMENTO ODONTOLÓGICO. CURITIBA-PR, 2011.....	51
TABELA 6 -	USO DE MEDICAMENTOS. CURITIBA-PR, 2011.....	52
TABELA 7 -	HÁBITOS DE HIGIENE BUCAL. CURITIBA-PR, 2011.....	52
TABELA 8 -	INDICE DE HIGIENE ORAL SIMPLIFICADO. CURITIBA-PR, 2011.....	53
TABELA 9 -	COMPARAÇÃO ENTRE IHO-S E HÁBITOS DE HIGIENE. CURITIBA-PR, 2011.....	54
TABELA 10	INTERVALO DE TEMPO ENTRE A ÚLTIMA ESCOVAÇÃO E A COLETA DE SALIVA E BIOFILME SUPRAGENGIVAL. CURITIBA-PR, 2011.....	55
TABELA 11 -	FREQUENCIA DE MICRORGANISMOS NA SALIVA. CURITIBA-PR, 2011.....	55
TABELA 12 -	FREQUÊNCIA DE MICRORGANISMOS NO BIOFILME SUPRAGENGIVAL. CURITIBA-PR, 2011.....	57
TABELA 13 -	PRESENÇA DE MICRORGANISMOS NA SALIVA E BIOFILME SUPRAGENGIVAL. CURITIBA-PR, 2011.....	60
TABELA 14 -	COMPARAÇÃO ENTRE O IHO-S DO BIOFILME SUPRAGENGIVAL E A PRESENÇA DE PRESENÇA DE MICRORGANISMOS NA SALIVA. CURITIBA-PR, 2011.....	62
TABELA 15 -	COMPARAÇÃO ENTRE O IHO-S DO BIOFILME SUPRAGENGIVAL E A PRESENÇA DE MICRORGANISMOS NO BIOFILME SUPRAGENGIVAL NA SALIVA. CURITIBA-PR, 2011.....	63
TABELA 16 -	COMPARAÇÃO ENTRE O USO DE MEDICAMENTOS E A PRESENÇA DE <i>F. nucleatum</i> NO BIOFILME SUPRAGENGIVAL. CURITIBA-PR, 2011.....	65
QUADRO 1 -	DESCRIÇÃO DAS VARIÁVEIS POR CATEGORIAS. CURITIBA-PR, 2012.....	46

LISTA DE SIGLAS

mL	-	mililitros
μ L	-	microlitros
mM	-	milimolar
NaCl	-	Cloreto de sódio
TrisHCl	-	Tris-hidrocloreto
EDTA	-	ácido etilenodiamino tetra-acético
L	-	litro
g/dL	-	grama por decilitro
mL/min	-	mililitro por minuto
cel/mm ³	-	células por milímetro cúbico
pH	-	potencial de hidrogênio
rpm	-	rotações por minuto
μ g/mL	-	micrograma por mililitro
V	-	volts
CO ₂	-	Gás carbônico

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

PCR	-	Reação em cadeia de polimerase
AF	-	Anemia de Fanconi
DNA	-	Ácido desoxirribonucléico
Hb	-	Hemoglobina
AAS	-	Anemia Aplástica Severa
DEB	-	Diepoxibutano
TCTH	-	Transplante de células tronco hematopoiéticas
DECH	-	Doença do enxerto contra o hospedeiro
HLA	-	Antígeno leucocitário humano
CPO-D	-	Dentes permanentes cariados, perdidos e restaurados
Ceo-d	-	Dentes decíduos cariado, esfoliados e restaurados
OMS	-	Organização Mundial da Saúde
FCG	-	Fluidos creviculares gengivais
PMN	-	Polimorfonucleares
ICAM-1	-	Molécula de adesão intracelular
ELAM-1	-	Molécula de adesão leucocitária do endotélio
HIV	-	Vírus da Imunodeficiência Humana
TBE	-	Tris-bórico-EDTA
pb	-	Pares de bases
SBBrazil	-	Saúde Bucal do Brasil
STMO	-	Serviço de Transplante de Medula Óssea
UFPR	-	Universidade Federal do Paraná
IHO-S	-	Índice de higiene oral - simplificado

- μ - micro
- ® - marca registrada
- \pm - mais ou menos
- < - menor que
- > - maior que
- °C -Graus Celsius

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
1.1 OBJETIVO GERAL.....	19
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1 HISTÓRICO.....	20
2.2 MANIFESTAÇÕES GENÉTICAS, CLÍNICAS E HEMATOLÓGICAS DA AF.....	20
2.3 DIAGNÓSTICO.....	22
2.4 TRATAMENTO.....	23
2.4.1 Regime de condicionamento.....	24
2.4.2 Complicações relacionadas ao TCTH.....	24
2.5 MANIFESTAÇÕES BUCAIS DA AF.....	25
2.6 DOENÇA PERIODONTAL.....	27
2.6.1 Patogênese da doença periodontal.....	27
2.6.2 Microbiologia da doença periodontal.....	28
2.6.3 Patógenos periodontais.....	31
2.6.4 Processo de resposta do hospedeiro.....	33
2.6.5 Condições da doença periodontal na AF.....	34
2.7 DIAGNOSTICO SALIVAR	35
2.8 REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE CONVENCIONAL (PCR).....	36
2.8.1 Visualização do DNA amplificado por PCR.....	37
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	39
3.1 APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	39
3.2 DELINEAMENTO DA PESQUISA.....	39
3.3 AMOSTRA.....	39
3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	39
3.4.1 Inclusão.....	40
3.4.2 Exclusão.....	40
3.5 COLETA DE DADOS.....	40
3.5.1 Coleta de saliva	41

3.5.2 Coleta de biofilme supragengival.....	41
3.6 MÉTODOS.....	42
3.6.1 Processamento e armazenamento da saliva e do biofilme supragengival.....	42
3.6.2 Extração de DNA das amostras de saliva e biofilme supragengival.....	43
3.6.3 Determinação da concentração do DNA.....	43
3.6.4 Identificação da presença dos microrganismos nas amostras de saliva e biofilme supragengival.....	43
3.6.5 Reação em cadeia para polimerase (PCR).....	44
3.6.6 Eletroforese em gel de agarose 1,5%.....	45
3.6.7 Leitura do gel de eletroforese.....	46
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	46
4 RESULTADOS	48
5 DISCUSSÃO.....	66
6 CONCLUSÃO.....	73
REFERÊNCIAS.....	74
APÊNDICES.....	81
ANEXO.....	90

1 INTRODUÇÃO

A Anemia de Fanconi (AF) é uma doença autossômica recessiva, descrita pela primeira vez por Guido Fanconi, em 1927, após observar uma família de três irmãos com características clínicas semelhantes e aplasia medular severa (LOBITZ; VELLEUER, 2006).

Indivíduos com esta doença podem apresentar falência medular acentuada, malformações congênitas do esqueleto, predisposição para doenças malignas, anomalias físicas como pigmentação da pele (manchas café com leite), baixa estatura, anomalias do polegar e dos maxilares, malformação renal e cardíaca, microcefalia, estrabismo, surdez, prega de epicanto e atraso no desenvolvimento (REED et al., 1983; OTAN et al., 2004).

O único recurso terapêutico com possibilidade de cura das complicações hematológicas é o transplante de células tronco hematopoéticas (TCTH) seja por células da medula óssea, do sangue periférico ou do cordão umbilical (MEDEIROS et al., 2010).

Antes de iniciar o TCTH o paciente é condicionado para receber o concentrado de células hematológicas. As drogas utilizadas durante o condicionamento promovem a destruição do sistema imuno-hematopoético e atuam sobre as células epiteliais das mucosas bucais e gástrica levando a diferentes graus de mucosite após o TCTH (GALE et al., 1987).

As complicações após o TCTH associadas à mucosite podem dificultar a higienização bucal e a deglutição inclusive da própria saliva. Quando complicações são associadas à mielossupressão pode-se aumentar o risco de bacteremia e septicemia (HAHN et al., 2008).

A presença desses fatores associados aumenta risco para o desenvolvimento de doenças bucais, como cárie e alterações de mucosa e gengiva, além de relevante impacto na qualidade de vida do paciente e em custos que

envolvem o tratamento oncológico (LUCAS et al., 1998; DAHLLÖF et al., 1997; YALMAN et al., 2001).

Infecções sistêmicas têm sido relacionadas à doença periodontal e os complexos bacterianos associados com atividade inflamatória da doença periodontal podem servir como entrada na circulação sanguínea para as bactérias e gerar quadros de bacteremia (LAGERVALL et al., 2003; KUO et al., 1998).

Portanto, as condições sistêmicas e o regime de condicionamento pré e pós-transplante podem provocar alterações da microbiota bucal em pacientes com AF aumentando o risco de problemas bucais e agravando o quadro clínico geral.

1.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar fatores sociais, comportamentais e microbiológicos associados à saúde bucal de crianças e adolescentes com AF.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar os aspectos sociais.
- ✓ Avaliar os fatores comportamentais associados à saúde bucal.
- ✓ Avaliar a presença de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e *Fusobacterium nucleatum* na saliva.
- ✓ Avaliar a presença de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola* e *F. nucleatum* no biofilme supragengival.
- ✓ Comparar a distribuição de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola* e *F. nucleatum* na saliva e no biofilme.
- ✓ Comparar o índice de higiene oral com a presença destes microrganismos.
- ✓ Comparar os fatores comportamentais com o índice de higiene oral.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HISTÓRICO

Guido Fanconi, pediatra suíço, ao atender uma família observou no ano de 1927 a doença atualmente conhecida com Anemia de Fanconi (AF). Esta doença foi encontrada em uma família composta por cinco filhos, dos quais três haviam falecido devido uma doença grave que se assemelhava a uma anemia perniciosa (um tipo especial de anemia caracterizada por eritrócitos macrocíticos, hemólise aumentada e baixo nível sérico de vitamina B12).

Os três meninos atingidos pela doença relatada por Fanconi apresentavam as mesmas características: microcefalia, pigmentação marrom intensa na pele, hemorragia cutânea, hipoplasia dos testículos e estrabismo, além de terem a manifestação da doença entre cinco e sete anos. O sangue apresentava quadro típico de anemia perniciosa (LOBITZ; VELLEUER, 2006).

Em 1931 o hematologista Otto Naegeli sugeriu que a doença descrita por Guido deveria ser chamada de Anemia de Fanconi.

A AF ficou conhecida como uma doença rara que afeta aproximadamente uma em 360.000 crianças e a expectativa de vida desses pacientes é reduzida em 20 anos (ILURDOZ et al., 2003).

2.2 MANIFESTAÇÕES GENÉTICAS, CLÍNICAS E HEMATOLÓGICAS DA AF

A AF é geneticamente descrita como uma doença rara autossômica recessiva. As anormalidades citogenéticas incluem quebras espontâneas de cromossomos. A aberração é originada durante a fase de replicação de DNA, quando 50% das células estimuladas na AF apresentarão uma entre três aberrações por célula (CECCALDI et al., 2011).

A instabilidade cromossômica observada na AF é a única distinção quando comparada a outras síndromes hematológicas.

A variabilidade no quadro clínico, as características fenotípicas, a instabilidade cromossômica e a suscetibilidade aos agentes clastogênicos observada nos pacientes com AF sugerem a heterogeneidade desta doença. Até o momento 15 genes já foram associados à doença (*FANCA*, *FANCB*, *FANCC*, *FANCD1*, *FANCD2*, *FANCE*, *FANCF*, *FANCG*, *FANCI*, *FANCJ*, *FANCL*, *FANCM*, *FANCN*, *FANCP* e *RAD51C*). Os genes predominantes são *FANCA*, *FANCC*, *FANCG* e *FANCD2* (PINTO et al., 2009).

As manifestações clínicas e as anormalidades congênicas são:

✓ Pigmentação na pele devido à deposição de melanina. Essas manchas são chamadas “café com leite” e 60% da pele do indivíduo é afetada (ILURDOZ et al., 2003). Um segundo tipo de anormalidade de pele é a hipopigmentação, observada em 31% dos pacientes, a qual consiste em pequenas manchas similares ao vitiligo (KERVILER et al., 2000).

✓ Deformidades ósseas. Tanto em crianças quanto em adultos 60% dos pacientes com AF apresentam baixa estatura decorrente do retardo no crescimento. Também apresentam traços característicos na face como pregas de epicanto, base nasal larga, face estreita e micrognatia (KERVILER et al., 2000). Anormalidades esqueléticas ainda são encontradas em mãos e braços. Anomalias em polegares e braços aparecem em 50% dos pacientes, sendo essas anomalias a ausência de polegares e/ou radio, a polidactilia e a hipoplasia do radio (ILURDOZ et al., 2003).

✓ Cardiopatia congênita. Defeitos no septo atrial e ventricular, prolapso na válvula mitral e displasia da artéria radial (ARAUJO et al., 2007).

✓ Má formação do trato gastrointestinal, principalmente atresia gastrointestinal e anus imperfurado. Estas complicações são diagnosticadas no nascimento e corrigidas cirurgicamente (KERVILER et al., 2000).

✓ Anomalia do sistema urinário. Em média 23% dos pacientes apresentam algum tipo de anomalia renal (agenesia, má-formação ou ectopia pélvica) (ILURDOZ et al., 2003; JOENJE; PATEL, 2001). Hipoplasia dos testículos e dos ovários e diminuição da fertilidade acometem 51% dos pacientes (KERVILER et al., 2000).

As complicações hematológicas são falência medular progressiva, pancitopenia (número reduzido de hemácias, granulócitos e plaquetas em circulação) e medula hipocelular (PASQUINI; ZANIS, 2001).

As anormalidades hematológicas são definidas após resultados laboratoriais com níveis de hemoglobina (Hb) abaixo de 6,206mM (10g/dL) e contagem de neutrófilo absoluto menor que $1 \times 10^9/L$. A diminuição severa do volume corpuscular médio frequentemente é observado, embora não seja considerada para a descoberta de uma anormalidade hematológica (KUTLER et al., 2003).

Em cortes histológicos ou biopsias de medula óssea observa-se a substituição quase completa de células sanguíneas por lipídios. As poucas células restantes são histiócitos, plasmócitos, linfócitos e mastócitos. Essa aplasia medular clinicamente resulta em fraqueza, sintomas cardiovasculares e cerebrais (secundários à anemia severa), susceptibilidade à infecção (secundária à granulocitopenia) e sangramento (secundário a trombocitopenia). Durante exames físicos é freqüente a observação de palidez e petéquias ou equimoses disseminadas pelo corpo (RAPAPORT, 1990).

A AF pode evoluir de um quadro de falência progressiva da medula óssea para um quadro de Anemia Aplástica Severa (AAS), mielodisplasia e leucemia. As chances de tratamento para AAS são melhores que para leucemia.

2.3 DIAGNÓSTICO

As características clínicas e hematológicas não são suficientes para diagnosticar a AF. A hipersensibilidade ao agente de *cross-linking* de DNA como diepoxibutano (DEB) é usado como um teste diferencial e permite o diagnóstico da AF em pessoas com sutis características clínicas, incluindo aquelas sem anomalias congênitas (KUTLER et al., 2003).

O teste com DEB consiste em analisar os linfócitos T do sangue periférico em cultivo celular na presença ou ausência de DEB. Quando adicionado o DEB em cultura de linfócitos T há um aumento do número de quebras cromossômicas, permitindo confirmar o diagnóstico para AF (AUERBACH, 1993).

2.4 TRATAMENTO

O tratamento para pacientes com AF não tem o objetivo de cura da doença, mas de aumentar a qualidade e o tempo de sobrevivência destes pacientes. As medidas terapêuticas recomendadas para pacientes com AF são:

- ✓ Terapia com andrógenos. Os agentes andrógenos são hormônios derivados de diidrotestosterona que estimulam a eritropoiese e a diferenciação das células tronco hematopoiéticas (ARAUJO et al., 2007). Aproximadamente 50% a 75% dos pacientes respondem a essa terapia prolongando o tempo de vida (NOWZARI et al., 2001).

- ✓ Fator de crescimento sintético. Servem como estimulantes na produção de partes vitais da célula do sistema sanguíneo. Existem três fatores de crescimento sintéticos utilizados: fator estimulante de colônias granulocíticas (G-CSF), fator estimulante de colônias granulo-monocíticas (GM-CSF) e eritropoetina (EPO) (ARAUJO et al., 2007; ILURDOZ et al., 2003).

- ✓ Terapia gênica. Tratamento destinado para doenças hereditárias que se caracteriza pela inserção de um gene funcional dentro da célula humana a fim de conferir uma nova função ou melhorar os efeitos de um gene anormal. Diversos estudos têm sido realizados com esta forma de tratamento para avaliar sua eficácia, sendo de grande esperança para o futuro (ILURDOZ et al., 2003).

- ✓ Transplante de células tronco hematopoéticas. O único tratamento com possibilidade de cura da doença hematológica é o TCTH. A finalidade dessa modalidade terapêutica é fornecer células sanguíneas de origem de um doador para substituir as células do paciente que foram destruídas (RAPAPORT, 1990). A origem das células hematológicas pode ser de doadores compatíveis da própria família (aparentados), de doadores desconhecidos (não-aparentados) ou ainda de células de cordão umbilical. O TCTH elimina os riscos de desenvolvimento posterior de síndrome mieloplásica ou leucemia, mas não elimina a possibilidade de neoplasias sólidas malignas (ILURDOZ et al., 2003). Antes dessa terapia é necessário um período de imunossupressão do receptor de células tronco hematopoéticas. A imunossupressão é administrada por meio de altas doses de ciclofosfamida associada à irradiação corpórea total ou ciclosporina (GLUCKMAN et al., 1995).

Embora o TCTH tenha o objetivo de aumentar a sobrevida dos pacientes após o transplante o paciente tem maiores riscos de desenvolver a doença do enxerto-*versus*-hospedeiro (DECH) e infecções, devido à condição imunossupressora.

2.4.1 Regime de condicionamento

O regime de condicionamento tem por finalidade promover a aplasia medular do receptor do TCTH e diminuir as chances de rejeição das células do doador (JÚNIOR, 2009).

O condicionamento consiste na administração de altas doses de quimioterápicos antineoplásicos, terapia farmacológica com antieméticos, analgésicos, imunossupressores e antimicrobianos. Essa terapia tem o propósito de evitar, reduzir ou aliviar os efeitos indesejados ou ainda, prevenir complicações. Com a instalação de cateter alguns medicamentos como corticosteróides, anti-histamínicos e ansiolíticos são administrados por via intravenosa. Após o TCTH os pacientes são ainda expostos a protocolos de tratamentos prolongados, principalmente antibióticos (FONSECA; SECOLI, 2008)

Estudos relatam o uso de drogas como ciclosporina e metotrexate durante o período de condicionamento para profilaxia da DECH (DAHLLÖF et al., 1997; GLUCKMAN et al., 1995; LUCAS et al., 1998).

2.4.2 Complicações relacionadas ao TCTH

Complicações bucais podem ocorrer em todas as fases do TCTH, produzindo considerável morbidade (SCHUBERT et al., 1999).

As drogas utilizadas no período de condicionamento associada à aplasia celular pré-TCTH induzem injúrias nas células epiteliais das mucosas oral e gástrica após o TCTH. Mucosite, neutropenia, infecções, DECH e doença periodontal são freqüentemente observadas logo após o TCTH em diferentes graus de comprometimento entre os pacientes (JÚNIOR, 2009).

As complicações bucais contribuem para alterações e infecções não apenas locais como também sistêmicas. Carl (1995) menciona que as complicações bucais

podem ser uma das maiores causas de morbidade em pacientes que se submeteram ao TCTH.

Segundo Fayle e Curzon (1991), cerca de 93% dos pacientes pediátricos oncológicos submetidos ao TCTH apresentaram algum tipo de complicação bucal como mucosite, ulceração na mucosa, petéquias, DECH, alterações dos tecidos dentais, sangramento gengival, xerostomia, doença periodontal ou infecções fúngicas.

2.5 MANIFESTAÇÕES BUCAIS DA AF

Diversas manifestações bucais da AF foram descritas na literatura embora poucos estudos tenham sido realizados com essa população. Pigmentação melânica em mucosa foi observada em 45% dos pacientes. Hematoma em lábio superior e inferior foi encontrado em 30% dos pacientes avaliados por Araujo et al. (2007).

Queilite angular, herpes simples e afta ulcerativa recorrente foram descritas por Açıkgöz et al. (2005). Em relato de caso Otan et al. (2004) descreveu dois irmãos com AF que relataram dor ao exame clínico e aftas recorrentes de aproximadamente um centímetro de diâmetro, na língua, no palato mole, comissuras labiais e assoalho bucal.

Microdontia, agenesia dental, transposição dentária e dentes supranumerários foram anormalidades dentárias comuns em avaliações radiográficas realizados por Tekcicek et al. (2007) e Araujo et al. (2007).

Hipossalivação foi verificada em 56% dos pacientes com AF estudados por Tekcicek et al. (2007). Em outro estudo, a taxa do fluxo salivar foi comparada entre pacientes com AF e pacientes controle resultando em diferença significativa entre os grupos. Pacientes com AF 70% exibiram valores menores que 0,5mL/min., sendo esses valores caracterizados como hipossalivação (MATTIOLI et al., 2010).

Carcinoma de células escamosas em cabeça e pescoço (CEC) tem sido bem estudado na literatura, sendo o tempo de TCTH associado à DECH e a terapia imunossupressora fatores de alto risco para o seu desenvolvimento (CURTIS et al., 2005). Um estudo de coorte de 262 casos relacionou o risco de desenvolvimento de

CEC e o risco de morte em pacientes com AF que receberam e não receberam TCTH. A média de idade no desenvolvimento do CEC foi de 19 anos entre os pacientes que receberam e 33 entre os que não receberam TCTH. No entanto quem não recebeu TCTH teve o risco de morte aumentado 30 vezes. Entre os 18 pacientes que desenvolveram CEC a média de sobrevida após a descoberta foi de 13 meses. Fatores de risco para o desenvolvimento do CEC como fatores do hospedeiro (DECH, idade do transplante, sexo do paciente), fatores do doador (HLA, idade e sexo) e terapia medicamentosa (imunossupressora) foram consideradas na análise dos riscos (ROSENBERG et al. 2005).

Yalman et al. (2001) realizaram pela primeira vez avaliação dentária utilizando o método descrito pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para determinar o CPO-D. Os valores encontrados foram altos (acima de quatro), entretanto não houve diferença entre os grupos pré e pós TCTH. Demais estudos descrevem número elevado de CPO-D e CEO-d na população de AF sem compará-la com um grupo controle (FALCI et al., 2011; TEKCICEK et al., 2007).

Sangramento gengival e doença periodontal grave foram encontrados em paciente com AF de 11 anos de idade. Durante o exame odontológico observou-se desconforto, dor, vermelhidão, sangramento e perda de inserção periodontal ao redor dos dentes (NOWZARI et al., 2001).

Araujo et al. (2007) avaliou 33 pacientes com AF e verificou sangramento gengival, biofilme e cálculo em 48% dos pacientes, gengivite ou periodontite em 36%.

Há poucos estudos na literatura bem controlados que avaliem a saúde bucal antes e após o TCTH. Condições tais como a história dental pré-existente, alterações na integridade da mucosa induzida por drogas, alterações das glândulas salivares e a mudança da microbiota bucal para um meio colonizado por microrganismos mais virulentos. Todos esses fatores podem ser limitantes para manutenção de higiene bucal adequada e, podem conduzir ao aparecimento de novas lesões de cárie ou doença periodontal ou ao agravamento destas manifestações já presentes no período pré-transplante.

2.6 DOENÇA PERIODONTAL

Doença periodontal é um grupo de doenças (gingivite e periodontite) que acometem o tecido de suporte dos dentes. A gengivite é caracterizada clinicamente pela inflamação do tecido gengival ao redor dos dentes. A coloração da gengiva tende a ficar avermelhada com aspecto brilhante, liso e está associada com o sangramento provocado. A periodontite é uma doença infecciosa, sendo a ação inflamatória responsável pela destruição de tecidos ósseos alveolares. O sangramento na gengiva é um indicativo de que a doença está iniciando, podendo ser apenas uma gengivite ou o início de uma periodontite, a qual se não tratada resultará em perda óssea e destruição das estruturas de suporte dos dentes (LOE, 1967; SUSIN et al., 2011).

2.6.1 Patogênese da doença periodontal

Há muito tempo as bactérias são aceitas como agentes etiológicos da doença periodontal, no entanto a bactéria sozinha não causa periodontite. A susceptibilidade para a doença periodontal é determinada pela ação das bactérias frente à resposta do sistema imune e inflamatória do hospedeiro e a exposição a fatores de risco hereditários ou adquiridos (PAGE, 2002).

Alguns fatores de risco são o fumo, diabetes, estresse, medicamentos (ciclosporina), nutrição, pobre higienização, variação hormonal, imunodepressão, historia previa de periodontite e doença no tecido conjuntivo (RYAN, 2002).

O estágio inicial da inflamação gengival é caracterizado pelo aumento do fluxo sanguíneo, da permeabilidade vascular e conseqüentemente o aumento de neutrófilos, monócitos e macrófagos. Estando o quadro inflamatório estabelecido em 24 horas e não havendo a remoção dos fatores etiológicos ocorre a exsudação de fluidos creviculares gengivais (GCF) e proteínas do plexo dentogengival são aumentadas tornando o tecido gengival edemaciado. Substâncias nocivas são liberadas pelas bacterias presentes no biofilme sendo difundidas tanto no tecido

gingival quanto no sulco. Nesta etapa inicial de resposta do hospedeiro a migração de células polimorfonucleares (PMN) é facilitada pela presença de moléculas de adesão intercelular (ICAM-1), moléculas de adesão leucocitárias do endotélio (ELAM-1) (SOCRANSKY et al., 2010).

Entre 2 e 4 dias de acúmulo do biofilme clinicamente observa-se o aumento da vermelhidão da margem gengival. A partir desse momento começa a degeneração das fibras colágenas na região do GCF. Uma tentativa de defesa mecânica do organismo acontece por meio de projeções epiteliais do tecido conjuntivo invadindo a porção coronária. Essa alteração tecidual propicia a formação do biofilme subgengival. Estabelecida esta etapa da doença, a progressão é variável dependendo da susceptibilidade do indivíduo (SOCRANSKY et al., 2010).

Com a progressão da doença o indivíduo perde continuamente as fibras colágenas (pela ação de proteinases e metaloproteinases de matriz) que dão lugar para que o infiltrado celular inflamatório espalhe-se. Neste espaço ocorre a formação das bolsas periodontais com grande diversidade de desenvolvimento microbiológico do biofilme. O desenvolvimento da doença periodontal ocorre até a perda de todas as fibras colágenas com a migração do epitélio juncional, reabsorção óssea e conseqüentemente perda dentária (KINANE et al., 2010).

2.6.2 Microbiologia da doença periodontal

A cavidade bucal possui um ecossistema muito diversificado, com a presença de até 600 espécies diferentes que colonizam os diversos habitats. A colonização começa logo ao nascer durante a passagem do recém-nascido através do canal de parto (PAPAIIOANNOU et al., 2009). A microbiota existente apresenta relação harmoniosa com o hospedeiro. Entretanto, uma vez que esta homeostase é perdida, um número significativo de microrganismos torna-se patogênico, dando origem a infecções oportunistas que incluem infecções em mucosas, cárie e doença periodontal (SALAKO et al., 2004).

A “hipótese da placa ecológica” relata o conceito de que as doenças periodontais surgem devido a fatores ambientais. As principais características desta hipótese são que a seleção de bactérias patogênicas são diretamente ligadas a alterações no ambiente e as doenças, e não precisam ter uma etiologia específica (MARSH, 2003).

O desenvolvimento da doença periodontal irá depender do grau de interferência de fatores ambientais e mudanças do meio para aumentar ou reduzir o processo inflamatório e alterar a microbiota bucal. (FIGURA 1).

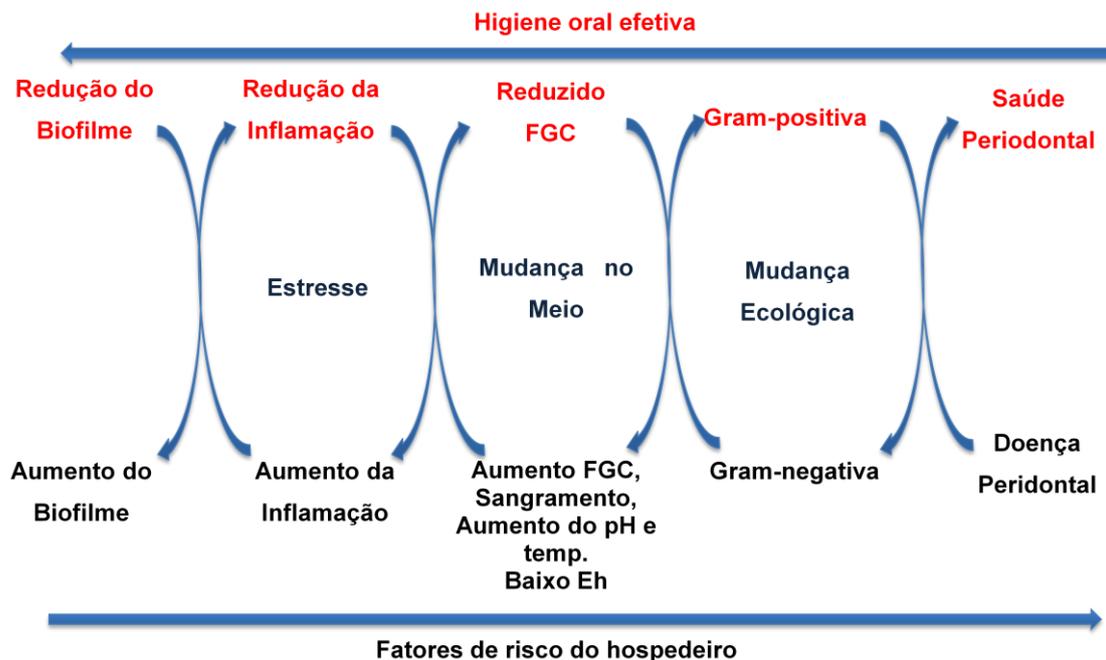


FIGURA 1 – HIPÓTESE DA PLACA ECOLÓGICA
 FONTE: Marsh; Devine (2011)

Imediatamente após a escovação, a película dental adquirida é formada sobre a superfície dental. Esta película é um filme orgânico rico em proteínas que são especificamente reconhecidas pelos microrganismos que iniciam a colonização primária das superfícies dentais. A colonização inicial ocorre através da adesão de células bacterianas simples à película adquirida, em até quatro horas. Após a adesão dos colonizadores iniciais, compostos basicamente por cocos, as bactérias aderidas evoluem e formam micro-colônias distintas. A habilidade das bactérias colonizadoras primárias em expressar múltiplas adesinas conferem maior seletividade e vantagem sobre as bactérias que não reconhecem esses receptores.

A heterogeneidade aumenta à medida que ocorre a mudança do meio. Entre quatro e 24 horas após a colonização inicial há maior proporção de bacilos Gram-negativos. Esse processo de amadurecimento do biofilme ocorre através da co-agregação existente entre os colonizadores iniciais e tardios, aumentando a diversidade bacteriana de espécies, concomitantemente com o biofilme, entre um e 14 dias. Após esse período é considerado o clímax da comunidade bacteriana e a placa é denominada madura (LANG et al., 2010; MARSH; NYVAD, 2003) (FIGURA 2).

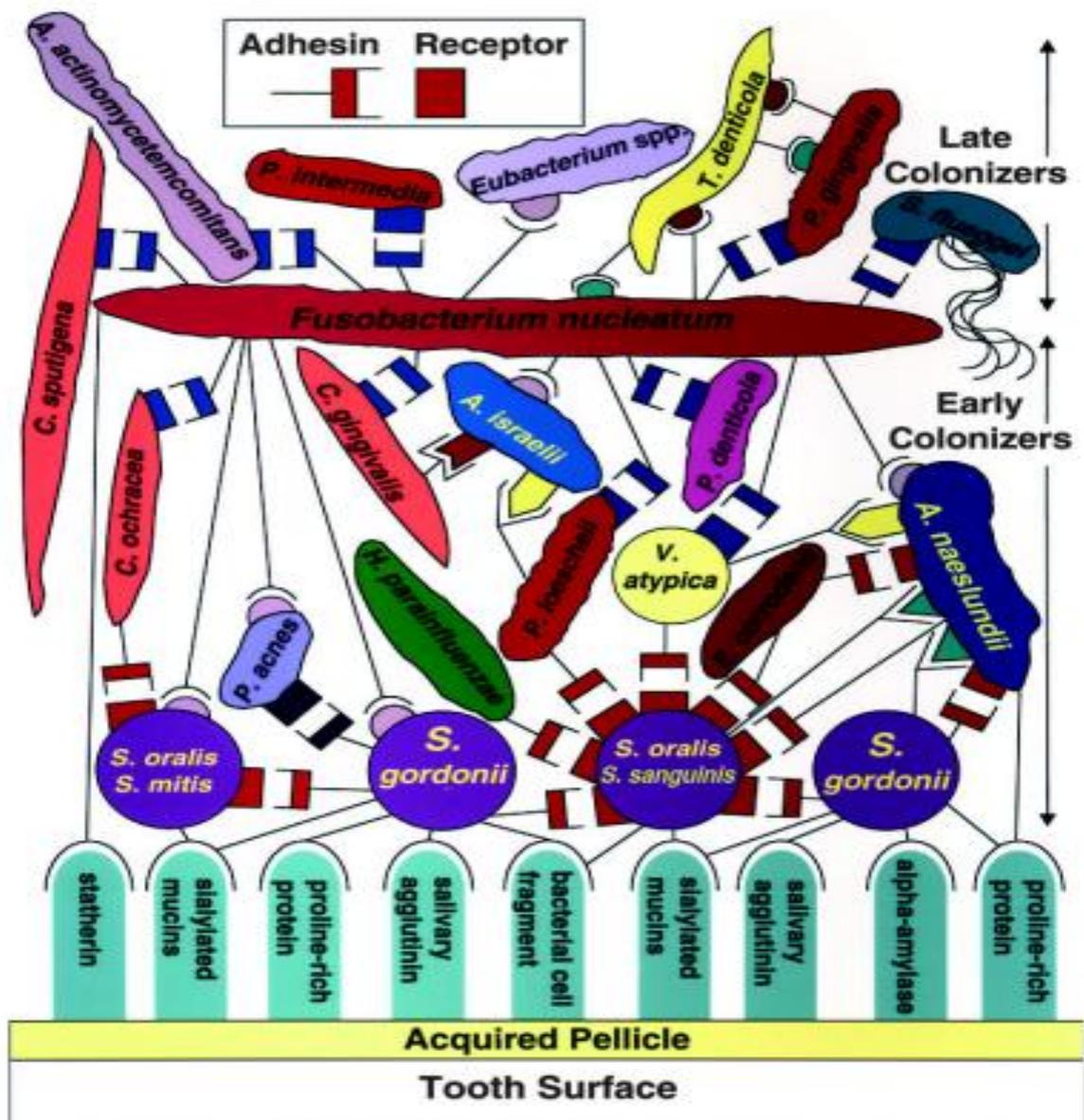


FIGURA 2 – MODELO DE COLONIZAÇÃO BACTERIANA
 FONTE: Kolenbrander et al. (2006)

A distribuição das bactérias no interior do biofilme não é aleatória. Socransky et al. (1998) mostraram a presença de microrganismos específicos no biofilme subgengival de 187 indivíduos. Quarenta espécies de bactérias foram analisadas e separadas em seis complexos microbianos. Os complexos amarelo (*A. actinomycetemcomitans*), verde e roxo são compostos por bactérias colonizadoras primárias da superfície dentária. Com a formação e crescimento dessas bactérias ocorre a ligação das bactérias dos complexos laranja (*F. nucleatum*) e vermelho (*P. gingivalis* e *T. denticola*) predominantemente Gram-negativos. Sendo que os microrganismos dos complexos laranja e vermelho são considerados os principais agentes etiológicos da doença periodontal.

Haffajee et al. (2008) complementaram a publicação de Socransky et al. (1998) analisando as amostras dos mesmos indivíduos para examinar a relação entre espécies bacterianas supragengivais. Os resultados para o complexo vermelho foram os mesmos do biofilme subgengival composto por *T. forsythia*, *P. gingivalis* e *T. denticola*. O número de espécies identificadas no complexo laranja também foi semelhante no biofilme subgengival. A espécie *A. actinomycetemcomitans* foi separada do complexo amarelo no biofilme supragengival.

Um agente patogênico pode ser excluído de uma comunidade em desenvolvimento quando receptores de aderência não estão disponíveis e quando o parceiro bacteriano adequado não está presente para cooperação metabólica. Entretanto, quando os receptores de aderência e parte da comunidade adequada estão presentes o potencial microbiológico é configurado para infecção, ou coinfeção do hospedeiro (JENKINSON; LAMONT, 2005).

2.6.3 Patógenos periodontais

O biofilme é definido como uma comunidade estruturada de células bacterianas dentro de uma matriz de polímeros e que apresenta aderência a uma superfície inerte ou viva (PAGE, 2002).

Potenciais agentes patógenos, tais como *F. nucleatum* e *P. gingivalis*, são encontrados como componentes de comunidades complexas e são raramente vistos em números consideráveis na construção inicial das comunidades de *Streptococos*, *Actinomyces* e *Veillonella*. Estudos laboratoriais apóiam o conceito de que a colonização por *P. gingivalis* pode ser dependente de outras bactérias (JENKINSON; LAMONT, 2005).

A seguir serão descritos os microrganismos avaliados neste estudo.

A. actinomycetemcomitans é um microaerófilico, capnófilico ou anaeróbio facultativo apesar de crescer melhor em atmosfera aeróbia enriquecida com 5-10% de CO₂, bastonete extremamente pequeno, imóvel, Gram-negativo e sacarolítico. Freqüente em lesões de periodontite agressiva e envolvido na doença periodontal destrutiva. A colonização inicia pela aderência às células epiteliais. A partir dessas células ocorre a movimentação da bactéria e agregação ao biofilme supragengival (SOCRANSKY et al., 2010).

T. denticola é uma bactéria anaeróbia obrigatória, Gram-negativa e pertence ao complexo vermelho. Nos períodos de saúde bucal apresenta pequena distribuição. Entretanto, durante gengivite e progressão da doença periodontal há um aumento desse microrganismo. A coagregação durante o desenvolvimento da doença periodontal é feita com *F. nucleatum* e *P. gingivalis*. Em modelos animais quando isolada as cepas são capazes de induzir a reabsorção óssea em ossos longos de rato (HOLT, 2005).

F. nucleatum é uma bactéria anaeróbia, Gram-negativa e bastonete fusiforme. Conhecida por estar presente no biofilme subgengival em diferentes condições clínicas, mas principalmente em indivíduos com periodontite e abscesso periodontal. Exerce função principal de bactéria “conjugada”, pois facilita a coagregação entre espécies da colonização primária (*C. ochracea*, *A. israelii* e *S. gordonis*) e secundária (*P. gingivalis*, *A. Actinomycetemcomitans* e *T. denticola*) (SOCRANSKY et al., 2010).

P. gingivalis é um microrganismo freqüente na progressão da periodontite crônica. É um bacilo Gram-negativo, anaeróbio e com pigmentação preta. A adesão

do *P. gingivalis* ocorre por meio de fímbrias, proteases, hemaglutininas e lipopolissacarídeos. As fímbrias podem apresentar domínios específicos de ligação em proteínas salivares. Este microrganismo coagrega especificamente com *F. nucleatum* na colonização do sulco subgengival. A eliminação desse microrganismo resulta no sucesso da terapia (HOLT, 2005).

2.6.4 Processo de resposta imune do hospedeiro na doença periodontal

A intensidade e tempo de evolução em relação à doença periodontal serão definidos pelo tipo de resposta do hospedeiro. A resposta pode ser inata (não-específica) e adaptativa (específica).

Resposta inata. É o mecanismo imune do hospedeiro que opera sem nenhum contato prévio com os microrganismos responsáveis pela doença periodontal. Os mecanismos são a mucosa bucal que funciona como barreira devido a sua composição química nociva as bactérias e os aspectos vasculares e celulares da resposta inflamatória. A resposta inata funciona como uma primeira linha de defesa do hospedeiro. Participam desse processo as proteinases, inibidores de proteinases, metaloproteinases de matriz, citocinas, prostaglandinas e leucócitos polimorfonucleares (LANG et al., 2010).

Resposta adaptativa. Quando a resposta inata não é suficiente para eliminar o patógeno a resposta específica é ativada. Portanto, a resposta específica utiliza maneiras de reconhecimento, memória e ligação das células imunes para eliminar agentes agressores. Participam desse processo antígenos, células T e B e anticorpos. Na resposta adaptativa os antígenos do biofilme difundem-se por meio do epitélio juncional, deste modo as células de Langerhans no interior do epitélio capturam e processam os antígenos que são levados para o nódulo linfático e começam a estimular os linfócitos a produzirem resposta imune específica. Anticorpos específicos para os microrganismos periodontais são produzidos pelos plasmócitos no interior dos nódulos linfáticos e são levados para a gengiva por meio dos vasos sanguíneos, resultando na ação dos anticorpos sobre as bactérias do

sulco que podem causar destruição, agregação, precipitação, detoxificação e fagocitose das bactérias (LANG et al., 2010).

A resposta celular do hospedeiro para invasão microbiana ainda precisa ser investigados em detalhe; no entanto, é conhecido que a invasão pelo *P. gingivalis* antagoniza a produção de interleucina-8 por estímulo de células epiteliais de *F. nucleatum*. Esse fenômeno poderia ter um efeito debilitante sobre o recrutamento de neutrófilos para o tecido gengival e contribuir para o crescimento bacteriano e atividade da doença (JENKINSON; LAMONT, 2005).

A consequência do processo inflamatório é a ulceração do epitélio sulcular gengival, que transfere bactérias do sulco para o sangue, produzindo bacteremia. Estudos relacionam atividade proposital, como profilaxia, sondagem periodontal e extração dentária com bacteremia. Entretanto, é possível que em atividades diárias como mastigação e fala pequenas interrupções na integridade gengival ocorram em indivíduos com inflamação gengival. As bactérias orais e inflamação gengival teoricamente podem influenciar a saúde sistêmica por meio de quatro caminhos possíveis: a bacteremia, mediadores inflamatórios, provocação de uma resposta auto-imune e aspiração ou ingestão de conteúdo oral no intestino ou nas vias respiratórias (SCANNAPIECO, 2004).

2.6.5 Condições periodontais da AF

Pacientes com AF apresentam progressiva falência medular resultando em menores números de células sanguíneas. A resposta imunológica desses indivíduos será mais lenta se comparada ao indivíduo saudável. Manifestações bucais como petéquias, úlceras em mucosa e aumento da inflamação da gengiva já foram relatada por Falci et al. (2011), Açıkgöz et al. (2005) e Nowzari et al. (2001). Sangramento gengival foi encontrado nos pacientes com AF em 48% dos pacientes estudados por Araujo et al. (2007) e quando relacionados à contagem de plaquetas não houve diferença significativa. O sangramento foi justificado pela deficiência na

higienização dental. No entanto, em estudo realizado por Schofield (1980) o sangramento gengival foi associado à deficiência do nível plaquetário e a doença periodontal agressiva em pacientes jovens à resposta do indivíduo.

2.7 DIAGNÓSTICO SALIVAR

A saliva é fluido fisiológico secretado por três pares de glândulas salivares maiores e por centenas de glândulas salivares menores localizadas na submucosa bucal (ZHANG et al., 2009)

Na saliva é possível detectar várias substâncias encontradas no sangue como proteínas totais, eletrólitos, microrganismos e células do sistema imunológico (MILLER et al., 2006). As bactérias também podem fluir do sulco gengival e se misturar a saliva (KINANE et al., 2010).

Informações importantes sobre a saúde sistêmica de um indivíduo podem ser obtidas na cavidade bucal e por meio da saliva. Biomarcadores específicos da doença periodontal podem ser utilizados para diagnóstico em indivíduos susceptíveis a doença periodontal, em sítios ativos da doença ou em sítios predispostos a doença, sendo que este mecanismo favorece os pontos de monitoramento e a efetividade da terapia (GIANNOBILE et al., 2009).

A análise bioquímica da saliva auxilia o dentista no diagnóstico e escolha terapêutica. Em duas décadas houve um aumento da avaliação clínica por meio da saliva. Estudos avaliaram o risco para cárie, periodontite, câncer bucal, doença das glândulas salivares e desordens sistêmicas como hepatite e vírus da imunodeficiência humana (HIV) (ZHANG et al., 2009).

Testes salivares para detectar bactérias periodontopatógenas têm como premissa a idéia de que toda saliva e lesões periodontais tendem a abrigar semelhantes níveis de agentes patógenos e que essa alta contagem salivar pode ser útil para a avaliação da presença do risco destrutivo da doença periodontal

(SAYGUN et al., 2011). A presença de bactérias periodontopatógenas pode ser avaliada por meio da PCR.

Novas tecnologias estão sendo usadas para amplificar os sinais presentes nas amostras bucais para confirmar a presença de doença e auxiliar no diagnóstico precoce (MALAMUD, 2006). A vantagem da utilização de saliva como diagnóstico é a facilidade da coleta. A técnica de coleta salivar é simples e não-invasiva sendo bem aceita pelo paciente.

2.8 REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE CONVENCIONAL (PCR)

A biologia molecular avançou consideravelmente nas últimas décadas. Em 1987, Kary Banks Mullis descreveu um método revolucionário de amplificação do ácido desoxiribonucléico (DNA), a técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*), e em 1993 ganhou o prêmio Nobel de Química por essa descoberta.

Por meio da PCR bactérias periodontopatógenas tem sido identificadas em saliva e biofilme supragengival (KULEKCI et al., 2008; SAYGUN et al., 2011).

A técnica da PCR consiste em replicar uma parte específica do DNA *in vitro* (FIGURA 3). Para que a replicação aconteça é necessária um par de seqüências iniciadoras complementares a uma fita molde de DNA em temperaturas alternadas.

O mecanismo da PCR passa por três passos em cada ciclo:

1º Ciclo: Desnaturação térmica. Consiste na abertura das fitas de DNA molde em temperatura de 92-96°C.

2º Ciclo: Anelamento ou *annealing*. Consiste na duplicação da fita de DNA fragmentada no 1º ciclo através de iniciadores de regiões específicas do DNA, que delimitam a região a ser amplificada. A temperatura nessa etapa é entre 55°C e 65°C.

3º Ciclo: Extensão. Consiste na extensão dos iniciadores a partir da DNA polimerase à 72°C.

Cada ciclo pode ser repetido até 60 vezes promovendo a amplificação da região alvo determina pela afinidade dos iniciadores.

O ideal é que o DNA molde extraído esteja livre de impurezas (proteínas, lipídeos, outro ácido nucléico, reagentes de extração).

A DNA polimerase é um conjunto de reagentes responsáveis pela etapa de extensão da PCR é constituído basicamente por *Taq* polimerase, $MgCl^2$ e dNTPs. A utilização da *Taq* polimerase só foi possível por meio da polimerase da bactéria *Thermus aquaticus*, que vive em águas quentes de gêiseres e vulcões submersos com crescimento ótimo entre 70°C e 75°C.

Um reagente de importância crítica é o $MgCl^2$, doador muito estável de íons Mg^{2+} , que são cofatores indispensáveis para atividade da enzima.

Os dNTPs são os nucleotídeos (ATP, TTP, CTP, GTP) ligados à fita-mãe pela polimerase numa área delimitada pelos iniciadores.

Toda a reação da PCR acontece em um equipamento denominado termociclador.

2.8.1 Visualização do DNA amplificado por PCR

A visualização dos produtos do PCR é realizada pelo método de eletroforese horizontal, cujo objetivo é “filtrar” as moléculas de diferentes tamanhos em gel de agarose com tampão eletrolítico (TBE).

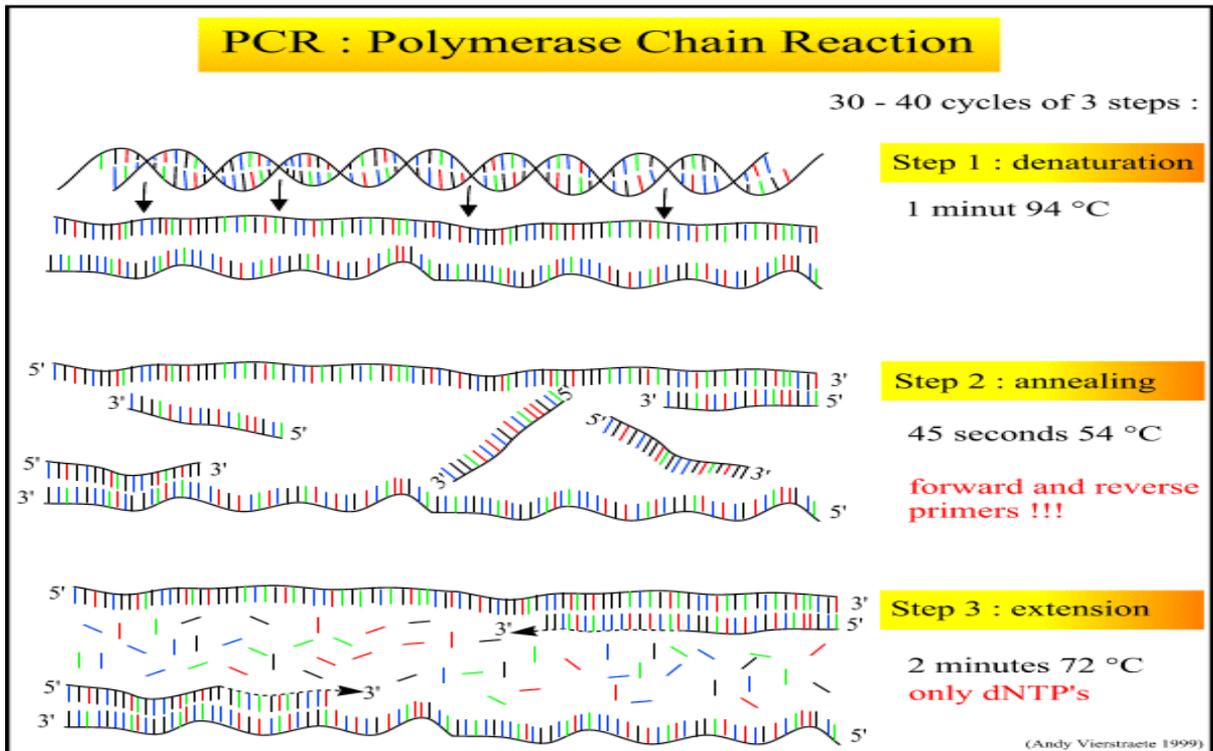


FIGURA 3 – ESQUEMA DE CICLAGEM TERMICA
FONTE: Jaques Vanglechteren (Universidade de Ghent – Bélgica).

A fita de DNA apresenta carga negativa, assim o material amplificado por PCR é aplicado no gel de agarose imerso em tampão (TBE), próximo do pólo negativo da cuba. A corrida é iniciada com voltagem constante e ao término ocorre a migração do DNA para o pólo positivo que está na outra extremidade da cuba.

Marcadores de tamanhos moleculares (*ladders*) são aplicados ao mesmo gel que as amostras para mensurar o tamanho do fragmento amplificado.

A visualização dos produtos no gel após a corrida de eletroforese é realizada pela reação de ligação do DNA com Brometo de Etídio. Este composto tem a capacidade de inserir nas fendas da cadeia de DNA e apresentar fluorescência quando excitado com radiação ultravioleta.

3 METODOLOGIA

3.1 APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná e está sob o registro de número 2469.076/2011-04 (ANEXO 1).

3.2 DELINEAMENTO DA PESQUISA

Estudo de pesquisa do tipo observacional transversal.

3.3 AMOSTRA

Para este estudo a amostra foi de conveniência com a participação de 72 indivíduos, com idades entre seis e 18 anos, os quais foram divididos em três grupos:

- ✓ Grupo Pré-transplante: 25 indivíduos com Anemia de Fanconi antes do transplante de células tronco hematopoiéticas.
- ✓ Grupo Pós-transplante: 23 indivíduos com Anemia de Fanconi após o transplante de células tronco hematopoiéticas.
- ✓ Grupo controle: 24 indivíduos saudáveis.

A idade delineada neste estudo teve início aos seis anos devido a melhor colaboração dos indivíduos.

Os pacientes do grupo Pré-transplante e Pós-transplante não são os mesmos indivíduos.

O pareamento amostral foi controlado com auxílio de análise estatística, baseado na média de idade dos indivíduos.

3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

3.4.1 Inclusão

Diagnóstico de AF para os grupos Pré e Pós-transplante.

Idade entre seis e 18 anos para os três grupos.

Apresentar saúde sistêmica para o grupo Controle.

3.4.2 Exclusão

O uso de aparelho ortodôntico para os três grupos.

Pacientes com AF e quadro de neutropenia severa não foram avaliados. Neutropenia severa foi considerada quando a contagem de neutrófilos foi inferior a 500 cel./mm³.

A utilização de antibiótico até três meses antes do estudo para os indivíduos do grupo controle.

3.5 COLETA DE DADOS

Os indivíduos participantes e seus responsáveis legais (quando menor de idade) foram convidados a participarem da pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, autorizando a participação voluntária na pesquisa (APÊNDICE 1 e 2).

Os voluntários foram questionados se já haviam ido a alguma consulta odontológica, quando foi a última consulta, onde foi o atendimento odontológico, qual foi o motivo da consulta odontológica e como foi o atendimento odontológico, de acordo com o QUADRO 1.

O grau de higiene bucal foi avaliado pelo índice criado por Greene & Vermillion. O índice tem por objetivo expressar quantitativamente o acúmulo de biofilme e cálculo dentário. O escore de biofilme foi 0 (sem biofilme), 1 (face vestibular com 1/3 de biofilme), 2 (de 1/3 a 2/3 da face vestibular com biofilme), e 3 (mais que 1/2 da face vestibular com biofilme (GREENE & VERMILLION, 1964). Os

valores 0 a 1 foram considerados como higiene oral satisfatória e valores superiores a 1 foram considerados insatisfatórios (PINTO, 2000).

O exame de índice de higiene bucal foi realizado por um único examinador calibrado (Kappa 0,816).

Todos os sujeitos da pesquisa foram submetidos à anamnese e um exame físico intrabucal e os dados coletados foram anotados numa ficha clínica elaborada para essa pesquisa (APÊNDICE 3).

A pesquisa foi realizada no Ambulatório do Serviço de Transplante de Medula Óssea do HC-UFPR para os grupos pré-transplante e pós-transplante. O grupo controle teve como local de pesquisa a Clínica de Odontopediatria do curso de Odontologia da UFPR.

3.5.1 Coleta de saliva

A coleta de saliva foi estritamente estimulada pelo método de *spitting* e realizada com tubo de látex de aproximadamente um cm, suportado por fio dental (para evitar a deglutição pelo indivíduo) devidamente esterilizado. A estimulação salivar por meio do tubo de látex foi por dois minutos e a seguir os indivíduos cuspiram a saliva em um recipiente estéril (Coletor Universal Estéril - J.PROLAB, 80 ml). Após a coleta o recipiente foi codificado e armazenado em isopor com gelo para ser transportado ao laboratório de Bioquímica e Biofísica de Macromoléculas, no Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFPR, para estocagem em até duas horas (FIGURA 4).

3.5.2 Coleta de biofilme supragengival

A coleta do biofilme supragengival foi realizada com cureta periodontal McCall, esterelizada, nas faces vestibular e lingual de todos os dentes.

As amostras do biofilme dental coletadas foram dispensadas em tubos Eppendorf 1,5mL, contendo 50µL de solução tampão A (50mM Tris-HCl pH 7,6; 1mM EDTA pH 8 e 0,9% NaCl). Todos os tubos Eppendorf esterilizados foram devidamente rotulados com a codificação do paciente. Após a coleta o tubo

Eppendorf foi armazenado em isopor com gelo para ser transportado até o laboratório de Bioquímica e Biofísica de Macromoléculas, no Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFPR, para estocagem em até duas horas (FIGURA 4).

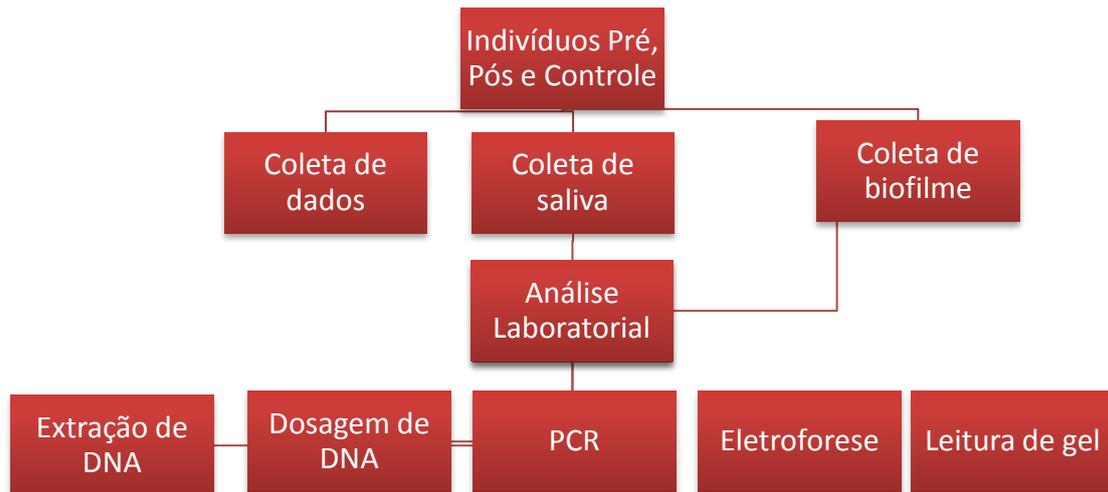


FIGURA 4 – FLUXOGRAMA DE COLETA E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS. CURITIBA-PR, 2011.

3.6 MÉTODOS

3.6.1 Processamento e armazenamento da saliva e do biofilme supragengival

No laboratório 2mL de saliva foram transferidas para tubos de centrifuga tipo Eppendorf e centrifugadas (Eppendorf Centrifuge 5810R) por 10 minutos a 4°C e 14000 RPM. O sobrenadante foi descartado e 500 µL de solução tampão A foram adicionados ao precipitado que foi ressuspensão em agitador tipo Vortex. Este procedimento foi repetido três vezes. Após a última lavagem o precipitado foi ressuspensão em 400 µL de solução tampão de Lise (50mM Tris-HCl pH 7,6; 1mM EDTA pH 8; 0,5% Tween 20; 200µg/mL Proteinase K; 5mg/mL Lisozima (DEWHIRST et al., 2000). O material foi armazenado a -20°C até o momento da extração de DNA.

Os tubos contendo o biofilme em 50µL de solução tampão A foram centrifugados por 10 minutos, a 40°C e 14000 RPM. Em seguida, o precipitado foi

ressuspenso em 100µL de tampão A e centrifugado como descrito anteriormente. Este procedimento foi repetido três vezes. Após a última lavagem o precipitado foi ressuspenso em 150µL de solução tampão de Lise e o material foi armazenado a -20°C, até o momento da extração de DNA.

3.6.2 Extração de DNA das amostras de saliva e biofilme supragengival

As amostras de saliva ou biofilme foram descongeladas, ressuspenso e incubadas a 55°C por duas horas. Em seguida, a proteinase K foi inativada pela incubação do material a 95°C por 10 minutos. As amostras foram centrifugadas por 10 minutos, a 4°C e 14000 RPM e o sobrenadante que continha o DNA foi transferido para outro tubo.

3.6.3 Determinação da concentração do DNA

Após a extração do DNA, a sua concentração foi determinada utilizando o Espectrofotômetro NanoDrop 2000c (Thermo Scientific NanoDrop Products, Wilmington, Delaware). O aparelho Espectrofotômetro NanoDrop 2000c elimina a necessidade de realizar diluições e reduz o volume de amostra (1µL) necessário para análise espectroscópica.

A quantificação de ácidos nucleicos é realizada por um *software* denominado NanoDrop. Este programa expressa a quantificação por meio dos valores de concentração, absorvância em 260/280 e o grau de pureza do DNA.

A pureza do DNA é identificada por meio do coeficiente entre a absorvância 260/280 e deve ser maior que 1,75.

As amostras com concentração superiores a 100ng/µL foram diluídas até obterem esta concentração e as amostras com pureza inferior a 0,70 foram descartadas.

3.6.4 Identificação da presença dos microrganismos nas amostras de saliva e biofilme supragengival

Os microrganismos selecionados para este estudo foram *P. gingivalis*, *T. denticola*, *A. actinomycetemcomitans* e *F. nucleatum*. A seqüência, tamanho e referência de cada iniciador são descritos na TABELA 1. Todos os iniciadores dos diferentes microrganismos foram obtidos a partir da seqüência do gene 16S rRNA (ASHIMOTO et al.1996). O iniciador controle correspondem a seqüência extraídas do gene 16S rRNA que alinha com todos os microrganismos estudados, servindo como controle positivo.

TABELA 1 – SEQUÊNCIA E TAMANHO DOS INICIADORES UTILIZADOS NESSE ESTUDO.

INICIADOR	SEQUENCIA	TAMANHO	REFERÊNCIA
<i>P. gingivalis</i>	F 5' AGG CAG CTT GCC ATA CTG CG 3' R 5' ACT GTT AGC AAC TAC CGA TGT 3'	404 pb*	Slots et al. (1995)
<i>T. denticola</i>	F 5' TAA TAC CAG ATG TGC TCA TTT ACA T 3' R 5' TCA AAG AAG CAT TCC CTC TTC TTC TTA 3'	316 pb	Slots et al. (1995)
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	F 5' AAA CCC ATC TCT GAG TTC TTC TTC 3' R 5' ATG CCA ACT TGA CGT TAA AT 3'	557 pb	Ashimoto et al. (1996)
<i>F. nucleatum</i>	F 5' AGA GTT TGA TCC TGG CTG AG 3' R 5' GTC ATC GTG CAC ACA GAA TGG CTG 3'	360 pb	Vickerman et al.(2007)
Controle	F5' GAT TAG ATA CCC TGG TAG TCC AC 3' R5' CCC GGG AAC GTA TTC ACC G 3'	602 pb	Ashimoto et al.(1996)

*pb=pares de base

FONTE: A autora (2012)

3.6.5 Reação em cadeia da polimerase (PCR):

As reações de PCR foram realizadas com todas as amostras. Cada reação com um dos pares de iniciadores (TABELA 1).

As reações de PCR foram realizadas em volume de 10µL utilizando o sistema GoTaq® Green Master Mix 2X. As reações continham 10pmol de cada um dos iniciadores e 100ng de DNA. A GoTaq® DNA Polymerase está presente no sistema GoTaq® Green Master Mix 2X que também contém reaction Buffer (pH 8.5), 400µM dATP, 400µM dGTP, 400µM dCTP, 400µM dTTP e 3mM MgCl₂.

A ciclagem térmica foi realizada em termociclador (Eppendorf Mastercycler Gradient). Para a amplificação do DNA de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*,

T. denticola e *F. nucleatum* foram realizados ciclos de desnaturação, anelamento e extensão de acordo com a TABELA 2.

Os DNAs extraídos foram amplificados com os iniciadores controles para garantir que todas as amostras estavam sendo amplificadas e evitar falsos negativos.

Em seguida, as amostras foram conservadas a -20°C até o momento da eletroforese.

TABELA 2 – CICLAGEM TERMICA DE *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola* e *F. nucleatum*. CURITIBA-PR, 2011

MICROORGANISMOS	DESNATURAÇÃO	ANELAMENTO	EXTENSÃO
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	1 ciclo de 2 minutos a 95°C e 35 ciclos de 30 segundos a 94°C	35 ciclos de 1 minuto a 55°C.	35 ciclos de 2 minutos a 72°C
<i>P. gingivalis</i>	1 ciclo de 2 minutos a 95°C e 35 ciclos de 30 segundos a 94°C	35 ciclos de 1 minuto a 60°C.	35 ciclos de 1 minuto a 72°C.
<i>T. denticola</i>	1 ciclo de 5 minutos a 95°C, e 35 ciclos de 1 minuto a 94°C.	35 ciclos de 1 minuto a 60°C.	35 ciclos de 1 minuto a 72°C.
<i>F. nucleatum</i>	1 ciclo de 2 minutos a 95°C e 35 ciclos de 1 minuto a 94°C.	35 ciclos de 45 segundos a 65°C.	35 ciclos de 45 segundos a 72°C.
Controle	1 ciclo de 2 minutos a 95°C e 35 ciclos de 1 minuto a 94°C	35 ciclos de 45 segundos a 67°C	35 ciclos de 45 segundos a 72°C

FONTE: A autora (2012)

3.6.6 Eletroforese em gel de agarose 1,5%

A presença dos fragmentos de tamanho desejado foi confirmada pela realização da eletroforese em gel de agarose 1,5%. O volume de 10µL das reações de PCR foi aplicado no gel. A eletroforese foi realizada em tampão TBE 1X pH 8 (89mM Tris base, 89mM ácido bórico e 2 mM EDTA pH8,0) em sistema horizontal

de eletroforese (Electrophoresis Power Supply EPS 301) a 50V por aproximadamente duas horas.

Ao término da corrida de eletroforese o gel foi corado em solução contendo brometo de etídio (0,03 µg/mL) por 20 minutos. Em seguida, o gel foi transferido para um recipiente contendo apenas água mili-Q por 10 minutos para efetuar a lavagem.

3.6.7 Leitura do gel de eletroforese

A leitura do gel foi realizada em aparelho UVP por meio do software LabWorks. As amostras que apresentaram sinal positivo de bandas observadas durante a exposição do gel em luz ultravioleta foram consideradas amplificadas por meio da comparação com um marcador de peso molecular (100pb Ladder®, Invitrogen), no tamanho molecular estimado para cada microrganismo.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados coletados foram tabulados e organizados estatisticamente por meio do programa *Statistical Package for the Social Sciences®* (versão 15.0; SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

Os resultados das variáveis (QUADRO 1) foram analisados com aplicando os testes estatísticos ANOVA, Qui quadrado, Teste Exato de Fisher e Kruskal Wallis. A significância estatística foi considerada quando $p < 0,05$.

VARIÁVEIS	CATEGORIAS
Idade	Anos
Gênero	Masculino Feminino
Idade do diagnóstico da AF	Anos
Renda familiar*	Salário mínimo
Cor da pele	Branco Não-branco

VARIÁVEIS	CATEGORIAS
Responsável	Mãe Pai Avós Tios Outros
Uso de medicamentos	Nenhum Analgésico Antiinflamatório Antibiótico Outros
Consulta ao dentista	Sim Não
Frequência de consulta	Menos de um ano De um a dois anos Três ou mais anos
Onde consultou	Serviço público Serviço privado liberal Serviço privado convênio Serviço filantrópico Outros
Motivo da consulta	Consulta de rotina Dor Sangramento gengival Cavidade nos dentes Feridas, nódulos e manchas.
Informação sobre cuidados bucais	Sim Não
Necessidade de tratamento odontológico	Sim Não
Frequência de escovação	≤2xDia ≥3xDia
Uso de fio dental	Sim Não
Uso de enxaguatório bucal	Sim Não
IHO-S	Satisfatório ($0 < \text{IHO-S} < 1$) Insatisfatório ($\text{IHO-S} \geq 1$)
Presença de microrganismos	Sim Não

*Salário mínimo Brasileiro da época do estudo (BRASIL, 2011).

QUADRO 1 - DESCRIÇÃO DAS VARIÁVEIS POR CATEGORIAS. CURITIBA, 2012.

FONTE: A autora (2012)

4 RESULTADOS

Um total de 64 indivíduos com AF e 35 indivíduos saudáveis foram convidados a participar da pesquisa. Destes, 16 indivíduos com AF e onze indivíduos saudáveis foram excluídos por não corresponderem aos critérios de inclusão ou por preenchimento incompleto da anamnese. Nenhum paciente apresentou quadro de neutropenia.

As características com relação à idade, gênero, idade de descoberta da AF e renda familiar seguem na TABELA 3.

TABELA 3 – CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA SEGUNDO GRUPOS, IDADE, GÊNERO, IDADE DE DIAGNÓSTICO DA ANEMIA DE FANCONI E RENDA FAMILIAR. CURITIBA-PR, 2011

VARIÁVEIS		GRUPO PRÉ- TRANSPLANTE	GRUPO PÓS- TRANSPLANTE	GRUPO CONTROLE	<i>p</i>
Idade	Média	10,60 ± 3,93	11,74 ± 3,12	10,54 ± 3,75	0, 449*
	Mínimo	6	6	6	
	Máximo	18	17	18	
Gênero		15 masculino	9 masculino	9 masculino	0, 211**
		10 feminino	14 feminino	15 feminino	
Idade de diagnóstico da AF	Média	6,33 ± 3,19	6,90 ± 3,95	-	0, 602**
	Mínimo	1	1		
	Máximo	13	13		
Renda familiar	Mediana	1	1	2	0, 144 ***
	Mínimo	1	1	1	
	Máximo	9	18	25	

* Teste ANOVA – $p < 0,05$; **Qui quadrado- $p < 0,05$ ***Teste Kruskal Wallis – $p < 0,05$
 FONTE: A autora (2012)

As variáveis idade, gênero e idade de descoberta da AF e renda familiar não apresentaram diferença significativa entre os grupos.

Os indivíduos desse estudo tiveram idade entre 10 e 11 anos, idade média de diagnóstico da AF com seis anos e renda familiar mediana entre 1 e 2 salários mínimos.

De acordo com a cor da pele os pacientes foram classificados em branco e não branco. A distribuição de cor de pele branco foi de 3 (12%), 8 (35%) e 16 (67%) respectivamente para os grupos Pré-transplante, Pós-transplante e Controle.

A anamnese era respondida juntamente ao responsável. O responsável foi classificado de acordo com o grau de parentesco do indivíduo avaliado, conforme GRÁFICO 1.

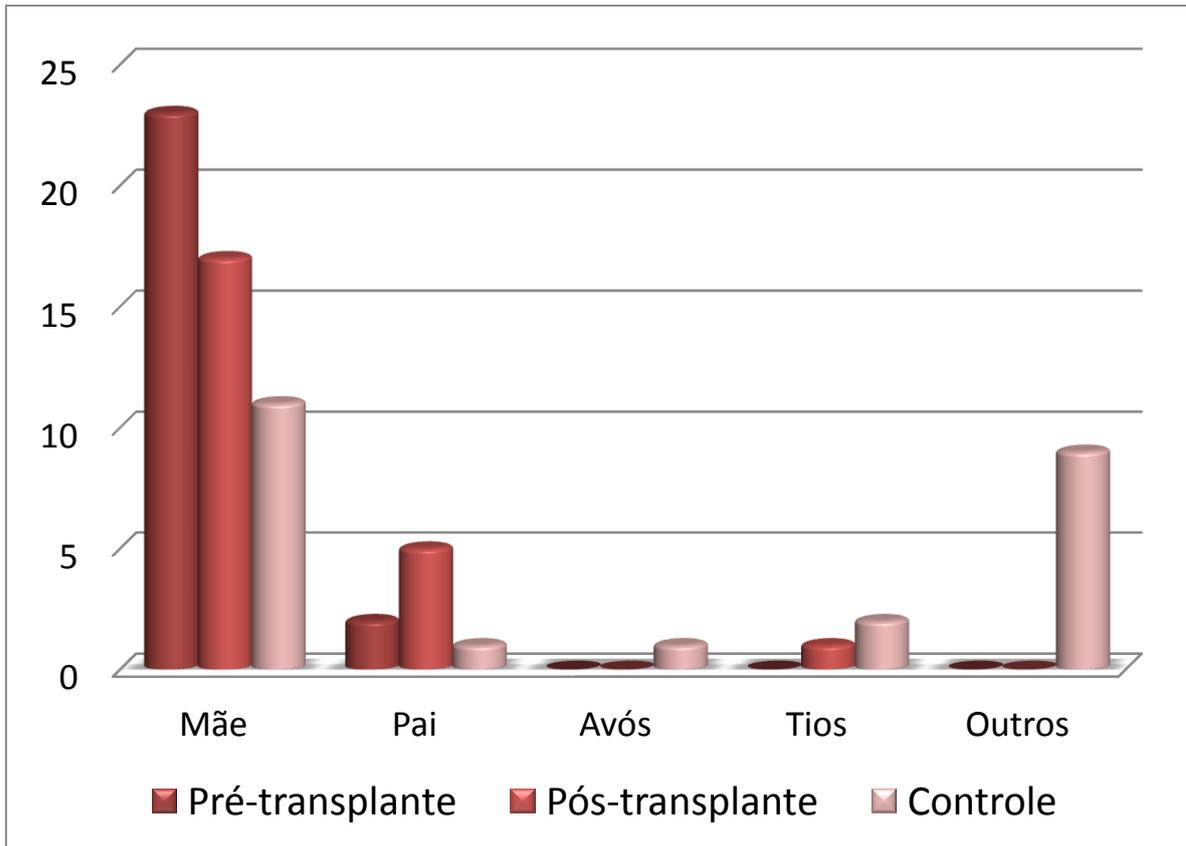


GRÁFICO 1 – RESPONSÁVEIS PELO PREENCHIMENTO DO QUESTIONÁRIO DE INDIVÍDUOS AVALIADOS. CURTIBA-PR, 2011
 FONTE: A autora (2012).

As mães foram as principais acompanhantes em todos os grupos. Os pais e tios também acompanharam os indivíduos, entretanto, em menor escala quando comparado as mães. Avó e outros foram responsáveis pelo acompanhamento apenas no grupo controle. Informações sobre o uso de serviços odontológicos seguem na TABELA 4.

TABELA 4 – USO DE SERVIÇOS ODONTOLÓGICOS. CURITIBA-PR, 2011

VARIÁVEIS	GRUPO PRÉ- TRANSPLANTE	GRUPO PÓS- TRANSPLANTE	GRUPO CONTROLE	<i>p</i> *
CONSULTA AO DENTISTA PELO MENOS UMA VEZ NA VIDA				0,191
Sim	20 (80%)	21 (92%)	23 (96%)	
Não	5 (20%)	2 (8%)	1 (4%)	
Total	25 (100%)	23 (100%)	24 (100%)	
FREQUÊNCIA DA CONSULTA				0,009
Nunca foi	5 (20%)	2 (7%)	1 (4%)	
Menos de um ano	19 (76%)	21 (93%)	15 (63%)	
De um a dois anos	1 (4%)	-	6 (25%)	
Três ou mais anos	-	-	2 (8%)	
Total	25 (100%)	23 (100%)	24 (100%)	
ONDE CONSULTOU				0,001
Nunca foi	5 (20%)	2 (8%)	1 (4%)	
Serviço público	10 (40%)	5 (22%)	8 (36%)	
Serviço privado liberal	6 (24%)	8 (36%)	6 (25%)	
Serviço privado convênio	2 (8%)	1 (4%)	5 (19%)	
Serviço filantrópico	1 (4%)	2 (8%)	1 (4%)	
Outros	1 (4%)	5 (22%)	3 (12%)	
Total	25 (100%)	23 (100%)	24 (100%)	
QUAL O MOTIVO DA ÚLTIMA CONSULTA				0,001
Nunca foi	5 (20%)	2 (8%)	1 (4%)	
Consulta de rotina	14 (56%)	15 (66%)	9 (38%)	
Dor gengival	-	-	6 (25%)	
Sangramento gengival	-	-	-	
Cavidades nos dentes	5 (20%)	2 (8%)	6 (25%)	
Feridas, nódulos e manchas	-	4 (18%)	-	
Outros	1 (4%)	-	2 (8%)	
Total	25 (100%)	23 (100%)	26 (100%)	

* Teste Qui Quadrado – $p < 0,05$

FONTE: A autora (2012)

A consulta odontológica em pelo menos um momento da vida foi realizada pela maioria dos indivíduos e não houve diferença significativa. O grupo pré-transplante, pós-transplante e controle apresentaram cinco, dois e um indivíduos, respectivamente, que nunca haviam consultado o cirurgião dentista. A frequência da consulta variou entre menos de um ano para os grupos pré-transplante e pós-transplante e de um a dois anos para o grupo controle com diferença significativa. O local da consulta mais freqüente foi em serviço público para os grupos pré-transplante e controle e serviço privado liberal, público e outros para o grupo pós-transplante com diferença significativa entre os grupos. O motivo da última consulta para todos os grupos com maior freqüência foi a consulta de rotina.

Os voluntários foram ainda questionados sobre orientação por parte do cirurgião dentista durante a consulta sobre como evitar problemas bucais e se consideravam a necessidade de tratamento odontológico no momento da entrevista, de acordo com a TABELA 5

TABELA 5 – INFORMAÇÃO E AUTOPERCEPÇÃO DO TRATAMENTO ODONTOLÓGICO. CURITIBA-PR, 2011

VARIÁVEIS	GRUPO PRÉ-TRANSPLANTE	GRUPO PÓS-TRANSPLANTE	GRUPO CONTROLE	p^*
FOI INFORMADO SOBRE COMO EVITAR PROBLEMAS BUCAIS				0,350
Sim	18 (72%)	17 (74%)	19 (80%)	
Não	3 (12%)	4 (18%)	5 (20%)	
Sem informação	4 (16%)	2 (8%)	-	
Total	25 (100%)	23 (100%)	24 (100%)	
PRECISA DE TRATAMENTO ODONTOLÓGICO				0,007
Sim	12 (48%)	15 (66%)	22 (92%)	
Não	10 (40%)	8 (34%)	2 (8%)	
Sem informação	3 (12%)	-	-	
Total	25 (100%)	23 (100%)	24 (100%)	

* Teste Qui Quadrado – $p < 0,05$

FONTE: A autora (2012)

Informação sobre como evitar problemas bucais foi repassada aos pacientes em todos os grupos entre 72% e 80%. Embora, a maioria dos indivíduos tenha

afirmado receber informações sobre como evitar problemas bucais houve uma maior freqüência ao relato da necessidade de atendimento odontológico nos grupos pós-transplante e controle com diferença significativa.

O uso de medicamento foi questionado e segue de acordo com a TABELA 6.

TABELA 6 – USO DE MEDICAMENTOS. CURITIBA-PR, 2011

USO DE MEDICAMENTO	GRUPO PRÉ-TRANSPLANTE	GRUPO PÓS-TRANSPLANTE	GRUPO CONTROLE	<i>p</i> *
Nenhum	13 (52%)	6 (26%)	21 (88%)	0,001
Analgésico	-	-	2 (8%)	
Antiinflamatório	1 (4%)	1 (4%)	-	
Antibiótico	4 (16%)	13 (56%)	-	
Outros	7 (28%)	3 (14%)	1 (4%)	

*Teste Qui Quadrado $p < 0,05$

FONTE: A autora (2012)

Pacientes com AF utilizam mais medicamentos que o grupo controle. O grupo pós-transplante demonstrou 56% dos indivíduos com uso de antibiótico no momento da entrevista.

Os hábitos de higiene avaliados foram freqüência de escovação, uso de fio dental e uso de enxaguatório bucal, de acordo com a TABELA 7.

TABELA 7 – HÁBITOS DE HIGIENE BUCAL. CURITIBA-PR, 2011

VARIÁVEIS	GRUPO PRÉ-TRANSPLANTE	GRUPO PÓS-TRANSPLANTE	GRUPO CONTROLE	<i>p</i> *
FREQUÊNCIA DE ESCOVAÇÃO				0,079
≤2X Dia	5 (20%)	7 (30%)	12 (50%)	
≥3X Dia	20 (80%)	16 (70%)	12 (50%)	
USO DE FIO DENTAL				0,773
Sim	10 (40%)	7 (30%)	8 (34%)	
Não	15 (60%)	16 (70%)	16 (66%)	
USO DE ENXAGUATÓRIO BUCAL				0,176
Sim	7 (28%)	2 (13%)	3 (13%)	
Não	18 (72%)	20 (87%)	21 (87%)	

* Teste Qui Quadrado – $p < 0,05$

FONTE: A autora (2012)

Não foram observadas diferenças significativas quanto aos hábitos de higiene apresentados para os três grupos. O perfil dos hábitos de higiene dos indivíduos desse estudo foi de escovação de três ou mais vezes ao dia, sem o uso de fio dental e enxaguatório bucal.

O IHO-S foi avaliado em relação à mediana (TABELA 8) e classificado em satisfatório e insatisfatório (GRÁFICO 2).

TABELA 8 – INDICE DE HIGIENE ORAL SIMPLIFICADO. CURITIBA-PR, 2011

VARIÁVEIS		GRUPO PRÉ- TRANSPLANTE	GRUPO PÓS- TRANSPLANTE	GRUPO CONTROLE	p^*
IHO-S	Mediana	1,33	1,16	1,33	0,568
	Mínimo	0,33	0,00	0,66	
	Máximo	2,50	3,00	2,16	

*Teste Kruskal Wallis $p < 0,05$

FONTE: A autora (2012)

Os grupos pré-transplante e controle apresentaram valor semelhante e maior em relação ao grupo pós-transplante. No entanto, o IHO-S não apresentou diferença significativa entre os grupos.

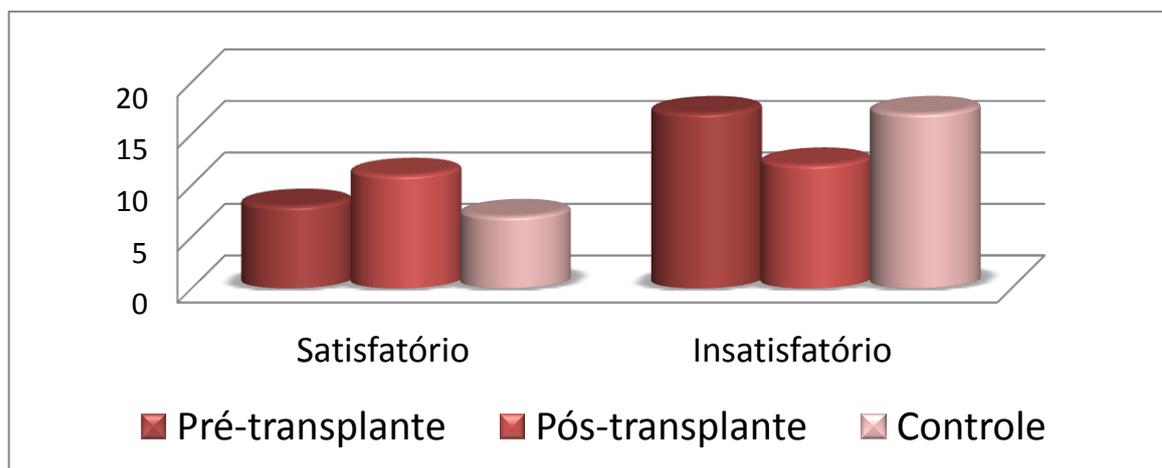


GRÁFICO 2 – CLASSIFICAÇÃO DO INDICE DE HIGIENE ORAL SIMPLIFICADO. CURITIBA-PR, 2012.

Satisfatório ($0 < \text{IHO-S} < 1$); Insatisfatório ($\text{IHO-S} \geq 1$).

FONTE: A autora (2012)

Os grupos pré-transplante e controle apresentaram índice de higiene oral insatisfatório na maioria dos indivíduos. O grupo pós-transplante apresentou indivíduos com índice satisfatório e insatisfatório com frequência similar. Não foi

observada diferença significativa entre os grupos avaliados ($p=0,363$, Teste Kruskal Wallis).

Os hábitos de higiene foram relacionados ao IHO-S, de acordo com a TABELA 9.

TABELA 9 – COMPARAÇÃO ENTRE O IHO-S E HÁBITOS DE HIGIENE. CURITIBA-PR, 2011.

HÁBITOS DE HIGIENE	VARIÁVEIS IHO-S		p^*
FREQUENCIA DE ESCOVAÇÃO			
Pré-Transplante	Satisfatório	Insatisfatório	0,668
$\leq 2x$ dia	2 (40%)	3 (60%)	
$\geq 3x$ dia	6 (30%)	14 (70%)	
Pós-Transplante			0,752
$\leq 2x$ dia	3 (43%)	4 (57%)	
$\geq 3x$ dia	8 (50%)	8 (50%)	
Controle			0,653
$\leq 2x$ dia	3 (25%)	9 (75%)	
$\geq 3x$ dia	4 (33%)	8 (67%)	
USO DE FIO DENTAL			
Pré-Transplante	Satisfatório	Insatisfatório	0,294
Sim	2 (20%)	8 (80%)	
Não	6 (40%)	9 (60%)	
Pós-Transplante			0,097
Sim	7 (100%)	0	
Não	4 (25%)	12 (75%)	
Controle			0,525
Sim	3 (38%)	5 (62%)	
Não	4 (25%)	12 (75%)	
USO DE ENXAGUATÓRIO BUCAL			
Pré-Transplante	Satisfatório	Insatisfatório	0,468
Sim	3 (43%)	4 (57%)	
Não	5 (28%)	13 (72%)	
Pós-Transplante			0,484
Sim	2 (66%)	1 (34%)	
Não	9 (45%)	11 (55%)	
Controle			0,865
Sim	1 (33%)	6 (67%)	
Não	2 (28%)	15 (72%)	

*Teste Qui quadrado – $p < 0,05$

FONTE: A autora (2012)

O IHO-S foi insatisfatório para os grupos pré-transplante e controle independente da freqüência de escovação. O grupo pós-transplante demonstrou IHO-S satisfatório para 50% dos indivíduos que fazem escovação igual ou maior a três vezes ao dia e insatisfatório para duas ou menos vezes ao dia.

O uso de fio dental apresentou IHO-S insatisfatório nos grupos pré-transplante e controle. O grupo pós-transplante apresentou IHO-S satisfatório para todos os indivíduos que usavam o fio dental.

O uso de enxaguatório bucal apresentou IHO-S satisfatório para o grupo pós-transplante e insatisfatório para os grupos pré-transplante e controle sem diferença significativa entre os grupos.

O tempo entre a última escovação e a coleta de saliva e biofilme supragengival seguem na TABELA 10.

TABELA 10 – INTERVALO DE TEMPO ENTRE A ÚLTIMA ESCOVAÇÃO E A COLETA DE SALIVA E BIOFILME SUPRAGENGIVAL. CURITIBA-PR, 2011

VARIÁVEIS	GRUPO PRÉ- TRANSPLANTE	GRUPO PÓS- TRANSPLANTE	GRUPO CONTROLE
Imediatamente após a escovação	0	0	0
Entre 1 e 4 horas após a última escovação	18 (72%)	19 (82%)	15 (63%)
Entre 5 e 12 horas após a última escovação	7 (28%)	4 (18%)	9 (37%)
Após 13 horas da última escovação	0	0	0

FONTE: A autora (2012)

Os microrganismos foram analisados na saliva pela técnica da PCR. A freqüência por grupos pode ser observada na TABELA 11 e FIGURA 5.

TABELA 11 – FREQUÊNCIA DE MICRORGANISMOS NA SALIVA. CURITIBA-PR, 2011

VARIÁVEIS	GRUPO PRÉ- TRANSPLANTE	GRUPO PÓS- TRANSPLANTE	GRUPO CONTROLE	<i>p</i> *
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	11 (44%)	15 (65%)	14 (58%)	0,317
<i>P. gingivalis</i>	21 (84%)	22 (96%)	18 (75%)	0,143
<i>T. denticola</i>	6 (24%)	5 (22%)	11 (46%)	0,207
<i>F. nucleatum</i>	16 (64%)	11 (48%)	18 (75%)	0,154

*Teste Qui Quadrado – $p < 0,05$ - FONTE: A autora (2012)

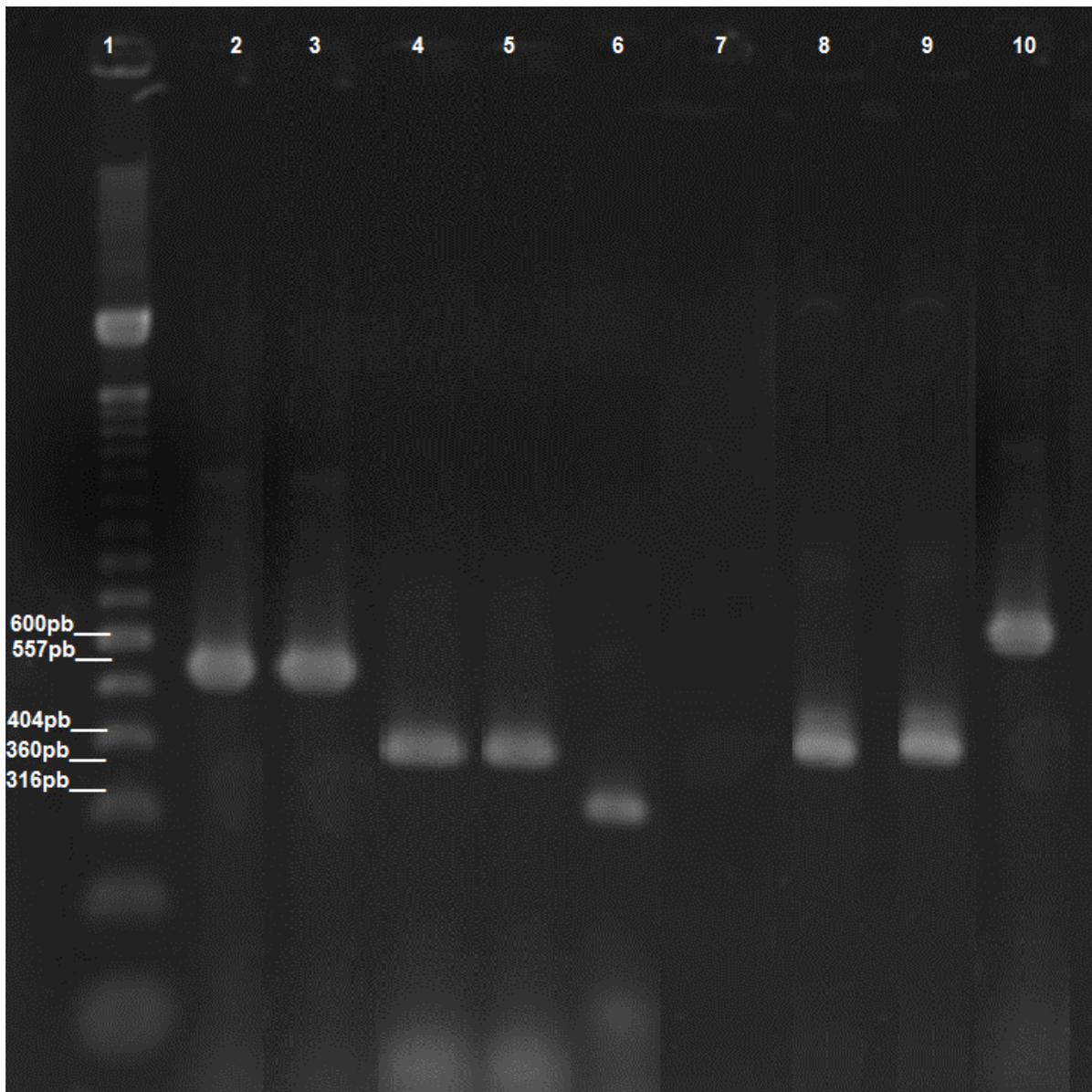


FIGURA 5 – PERFIL DE MIGRAÇÃO ELETROFORÉTICA DOS FRAGMENTOS DE PCR AMPLIFICADOS COM OS INICIADORES DOS DIFERENTES MICRORGANISMOS PRESENTES NA SALIVA. CURITIBA-PR, 2012.
GEL DE AGAROSE 1,5%.

1. Marcador de peso molecular de 100pb (INVITROGEN)
2. DNA de *A. actinomycetemcomitans* (557pb).
3. Amostra de DNA extraído de saliva (032) amplificada com iniciadores de *A. actinomycetemcomitans* (557pb).
4. DNA de *P.gingivalis* (404pb).
5. Amostra de DNA extraído de saliva (032) amplificada com iniciadores de *P. gingivalis* (404pb).
- 6 DNA de *T. denticola* (316pb).
7. Amostra de DNA extraído de saliva (032) amplificada com iniciadores de *T. denticola* (316pb).
- 8 DNA de *F. nucleatum* (360pb).
9. Amostra de DNA extraído de saliva (032) amplificada com iniciadores de *F. nucleatum* (360pb).
- 10 Amostra amplificada com iniciador controle.

FONTE: A autora (2012)

Todos os microrganismos foram observados nos diferentes grupos sem diferenças significativas.

A freqüência de aparecimento de *A. actinomycetemcomytans* foi de 44%, 65% e 58% respectivamente para os grupos pré-transplante, pós-transplante e controle. O *P. gingivalis* foi o microrganismo com maior freqüência entre os indivíduos, estando presente em 96% do grupo pós-transplante, seguido do grupo pré-transplante (84%) e controle (75%). O *T. denticola* apareceu em menor escala entre 22% do grupo pós-transplante e 46% do grupo controle. O *F. nucleatum* foi mais frequente no grupo controle com 75% dos indivíduos e menor no grupo pós-transplante com 48%.

Os microrganismos analisados no biofilme supragengival foram *A. actinomycetemcomytans*, *P. gingivalis*, *T. denticola* e *F. nucleatum* pela técnica da PCR exibidos na TABELA 12 e FIGURA 6.

Um total de 36 (50%) amostras de biofilme supragengival foram descartadas por apresentarem baixas quantidades de DNA (FIGURA 7). Os dados da TABELA 12 excluem estas amostras.

TABELA 12 – FREQUÊNCIA DE MICRORGANISMOS NO BIOFILME SUPRAGENGIVAL. CURITIBA-PR, 2011

VARIÁVEIS	GRUPO PRÉ- TRANSPLANTE	GRUPO PÓS- TRANSPLANTE	GRUPO CONTROLE	<i>p</i> *
<i>A. actinomycetemcomytans</i>	1 (8%)	0	0	0,435
<i>P. gingivalis</i>	1 (8%)	1 (12%)	0	0,467
<i>T. denticola</i>	2 (16%)	0	0	0,180
<i>F. nucleatum</i>	7 (58%)	3 (38%)	4 (30%)	0,475

*Teste Qui Quadrado – $p < 0,05$

FONTE: A autora (2012)

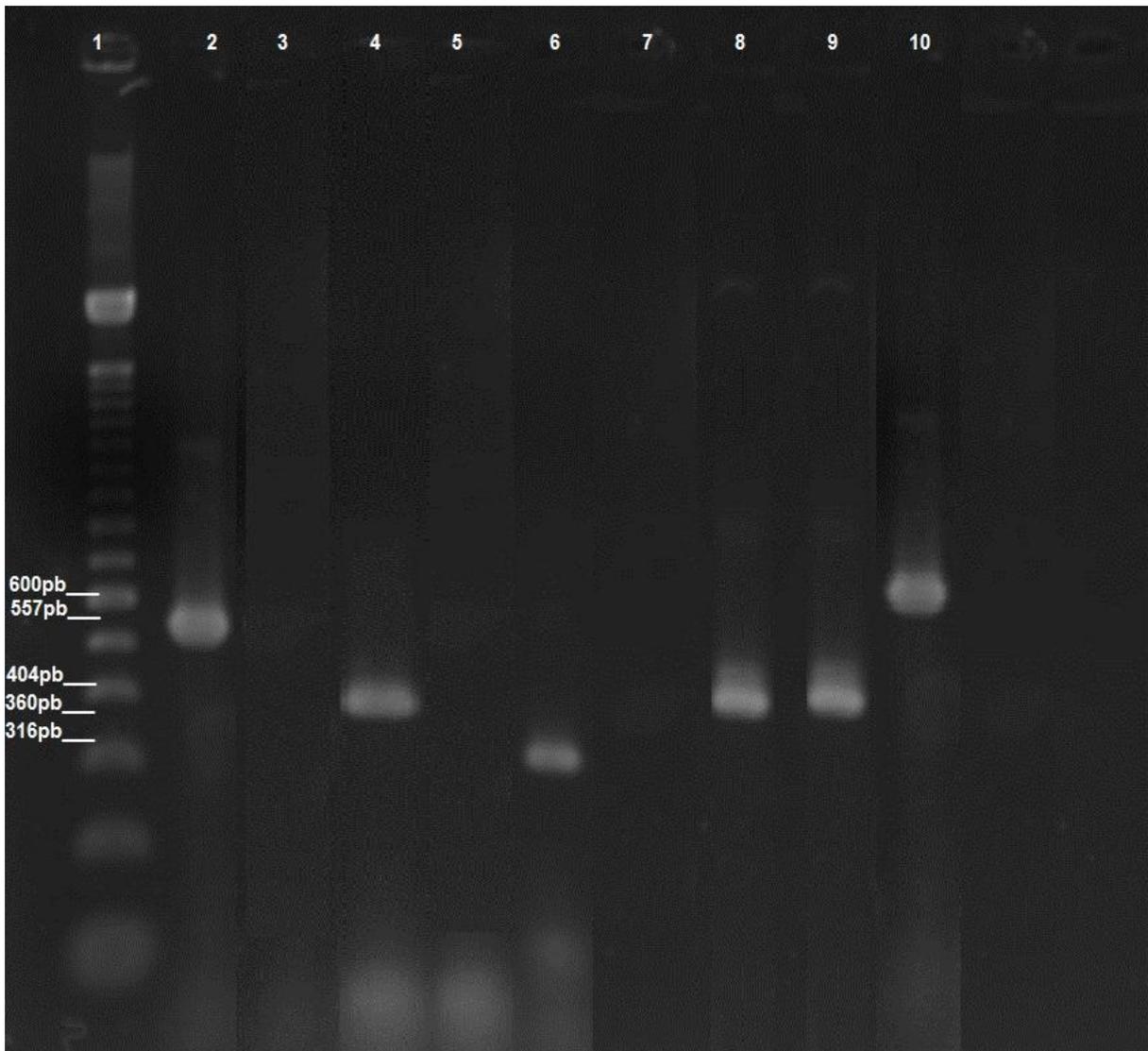


FIGURA 6 – PERFIL DE MIGRAÇÃO ELETROFORÉTICA DOS FRAGMENTOS DE PCR AMPLIFICADOS COM OS INICIADORES DOS DIFERENTES MICROORGANISMOS NO BIOFILME SUPRAGENGIVAL CURITIBA-PR, 2011.

ELETROFORESE EM GEL DE AGAROSE 1,5%.

1. Marcador de peso molecular de 100pb (INVITROGEN)
2. DNA de *A. actinomycetemcomitans* (557pb).
3. Amostra de DNA extraído do biofilme supragengival (026) amplificada com iniciadores de *A. actinomycetemcomitans* (557pb).
4. DNA de *P. gingivalis* (404pb).
5. Amostra de DNA extraído do biofilme supragengival (026) amplificada com iniciadores de *P. gingivalis* (404pb).
6. DNA de *T. denticola* (316pb).
7. Amostra de DNA extraído do biofilme supragengival (026) amplificada com iniciadores de *T. denticola* (316pb).
8. DNA de *F. nucleatum* (360pb).
9. Amostra de DNA extraído do biofilme supragengival (026) amplificada com iniciadores de *F. nucleatum* (360pb).
10. Amostra amplificada com iniciador controle.

FONTE: A autora (2012)

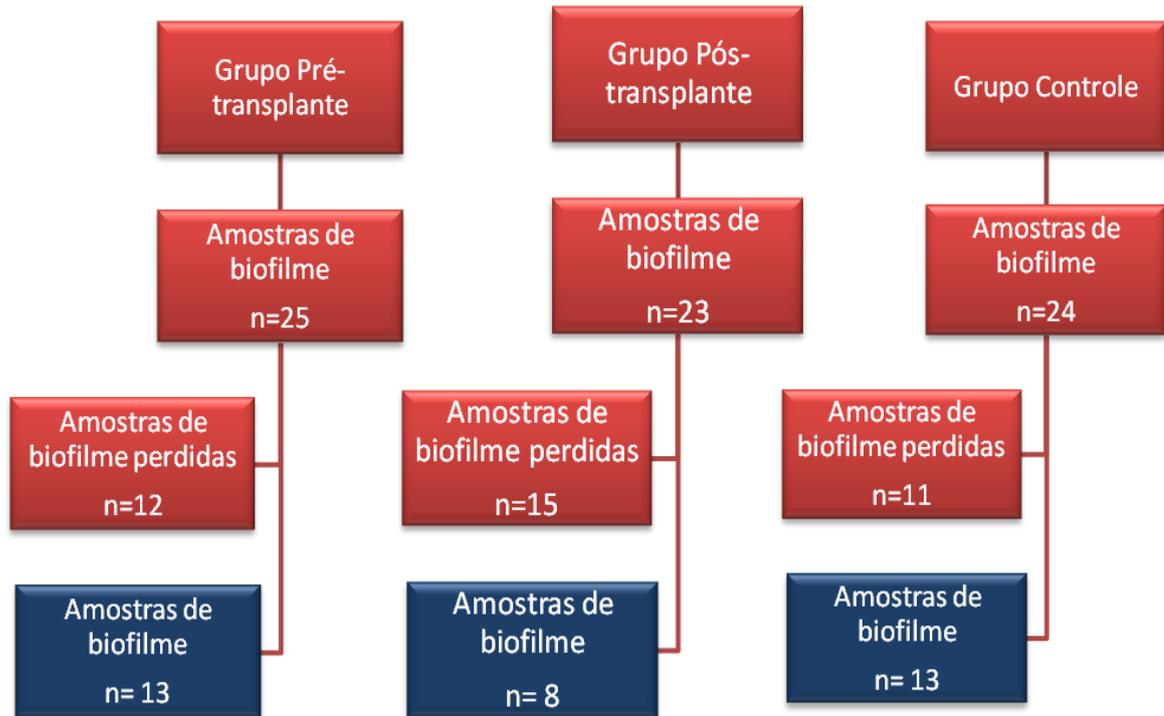


FIGURA 7 – FLUXOGRAMA DA DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS DE BIOFILME SUPRAGENGIVAL POR GRUPO. CURITIBA-PR, 2011.

O microrganismo *A. actinomycetemcomytans* foi encontrado em apenas uma amostra do grupo pré-transplante. O microrganismo *P. gingivalis* foi identificado em uma amostra do grupo pré-transplante e uma do grupo pós-transplante. O microrganismo *T. denticola* foi observado em dois indivíduos do grupo pré-transplante. O microrganismo *F. nucleatum* foi observado em todos os grupos. A presença variou entre 30% dos indivíduos do grupo controle e 58% do grupo pré-transplante. Diferença significativa não foi observada entre os grupos de nenhum microrganismo.

Os dados de frequência de microrganismos na saliva e no biofilme supragengival foram cruzados para comparar a presença dos microrganismos nos diferentes grupos. Estes resultados são observados no GRÁFICO 3 e TABELAS 13.

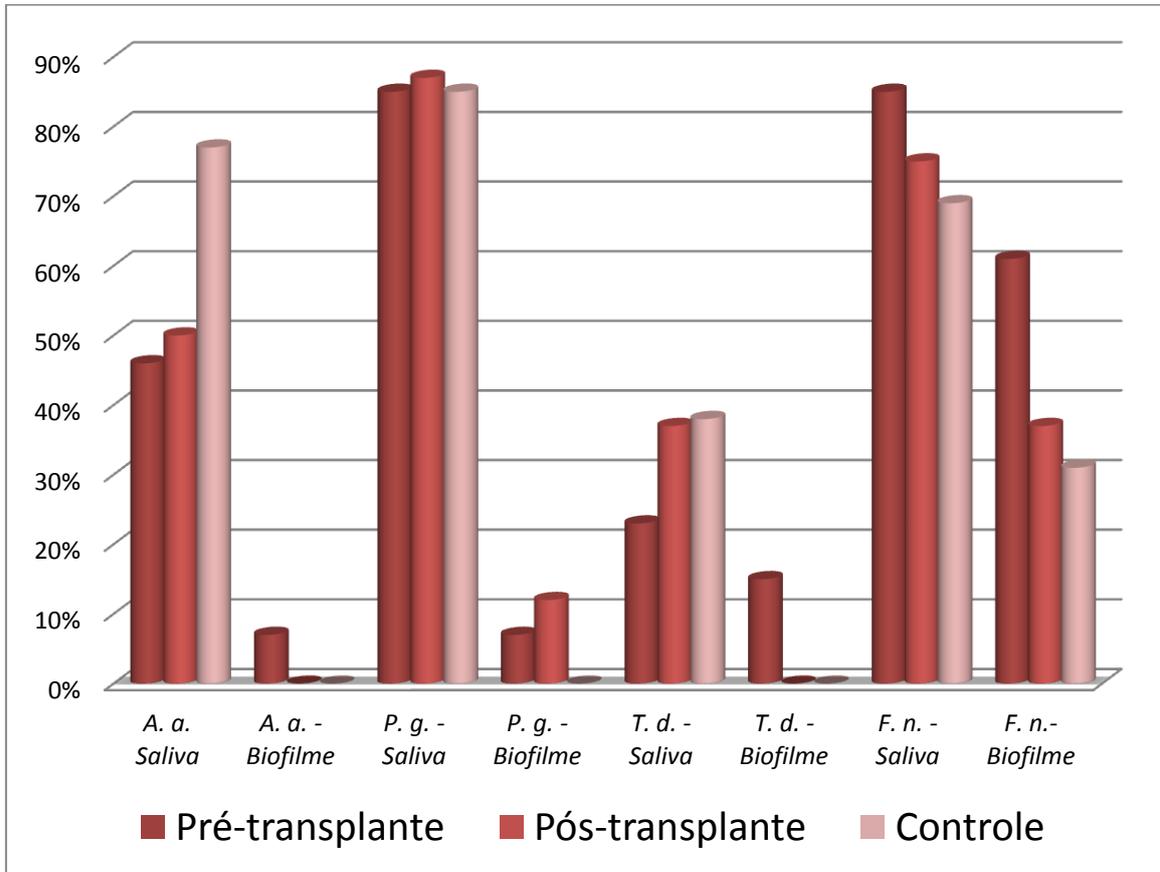


GRÁFICO 3 – COMPARAÇÃO ENTRE MICRORGANISMOS PRESENTES NA SALIVA E NO BIOFILME. CURITIBA-PR, 2011

TABELA 13 – PRESENÇA DE MICRORGANISMOS NA SALIVA E BIOFILME SUPRAGENGIVAL. CURITIBA-PR, 2011

VARIÁVEIS NA SALIVA		VARIÁVEIS NO BIOFILME		p^*
<i>A. actinomycetemcomytans</i>				
Pré-Transplante		Positivo	Negativo	0, 538
	Positivo	1 (15%)	6 (86%)	
	Negativo	0	6 (100%)	
Pós-Transplante		Positivo	Negativo	-
	Positivo	0	4 (100%)	
	Negativo	0	4 (100%)	
Controle		Positivo	Negativo	-
	Positivo	0	10 (100%)	
	Negativo	0	3 (100%)	

VARIÁVEIS NA SALIVA		VARIÁVEIS NO BIOFILME		<i>p</i> *
<i>P. gingivalis</i>				
Pré-Transplante		Positivo	Negativo	0,846
	Positivo	1(9%)	10 (91%)	
	Negativo	0	2 (100%)	
Pós-Transplante				0,875
	Positivo	1 (14%)	6 (86%)	
	Negativo	0	1 (100%)	
Controle				-
	Positivo	0	11 (100%)	
	Negativo	0	2 (100%)	
<i>T. denticola</i>				
Pré-Transplante		Positivo	Negativo	0,038
	Positivo	2 (67%)	1 (33%)	
	Negativo	0	10 (100%)	
Pós-Transplante				-
	Positivo	0	3 (100%)	
	Negativo	0	5 (100%)	
Controle				-
	Positivo	0	5 (100%)	
	Negativo	0	8 (100%)	
<i>F. nucleatum</i>				
Pré-Transplante		Positivo	Negativo	0,045
	Positivo	7 (78%)	2 (22%)	
	Negativo	0	3 (100%)	
Pós-Transplante				0,357
	Positivo	3 (50%)	3 (50%)	
	Negativo	0	2 (100%)	
Controle				0,176
	Positivo	4 (45%)	5 (55%)	
	Negativo	0	4 (100%)	

*Teste Exato de Fisher – $p < 0,05$
 FONTE: A autora (2012)

Ao comparar as amostras de saliva e biofilme supragengival, uma maior frequência de microrganismos na saliva foi observada. Em geral, quando os microrganismos foram encontrados no biofilme supragengival, também estavam presentes na saliva, exceto para *A. actinomycetemcomitans* em uma única amostra do grupo pré-transplante. Como esperado, quando os microrganismos eram

encontrados na saliva nem sempre estavam presentes no biofilme supragengival (ver tabela 13).

A comparação entre o IHO-S e a presença de microrganismos na saliva pode ser visualizada na TABELA 14.

TABELA 14 – COMPARAÇÃO ENTRE O IHO-S DO BIOFILME SUPRAGENGIVAL E A PRESENÇA DE MICRORGANISMOS NA SALIVA. CURITIBA-PR, 2011

IHO-S	MICRORGANISMOS NA SALIVA		p^*
<i>A. actinomycetencomytans</i>			
Pré-Transplante	Positivo	Negativo	0, 496
	Satisfatório	5 (62%)	
	Insatisfatório	9 (52%)	
Pós-Transplante			0, 122
	Satisfatório	2 (18%)	
	Insatisfatório	6 (50%)	
Controle			0, 097
	Satisfatório	1 (14%)	
	Insatisfatório	9 (53%)	
<i>P. gingivalis</i>			
Pré-Transplante	Positivo	Negativo	0, 382
	Satisfatório	2 (25%)	
	Insatisfatório	2 (12%)	
Pós-Transplante			0, 522
	Satisfatório	0	
	Insatisfatório	1 (9%)	
Controle			0,092
	Satisfatório	0	
	Insatisfatório	6 (35%)	
<i>T. denticola</i>			
Pré-Transplante	Positivo	Negativo	0, 349
	Satisfatório	7 (88%)	
	Insatisfatório	12 (70%)	
Pós-Transplante			0, 455
	Satisfatório	8 (72%)	
	Insatisfatório	10 (83%)	
Controle			0,264
	Satisfatório	5 (72%)	
	Insatisfatório	8 (47%)	

IHO-S		MICRORGANISMOS NA SALIVA		p^*
<i>F. nucleatum</i>				
Pré-Transplante		Positivo	Negativo	0, 287
	Satisfatório	4 (50%)	4 (50%)	
	Insatisfatório	12 (70%)	5 (30%)	
Pós-Transplante				0, 070
	Satisfatório	3 (27%)	8 (73%)	
	Insatisfatório	8 (67%)	4 (33%)	
Controle				0,586
	Satisfatório	5 (72%)	2 (28%)	
	Insatisfatório	13 (76%)	4 (24%)	

*Teste Exato de Fisher – $p < 0,05$

FONTE: A autora (2012)

A frequência de *A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis* na saliva foi maior em indivíduos com IHO-S satisfatório para os grupos pós-transplante e controle. No grupo pré-transplante foi maior em IHO-S insatisfatório. A maior frequência de *T. denticola* na saliva foi observada em indivíduos com IHO-S insatisfatório nos grupos pré-transplante e controle. Enquanto que, as maiores frequências de *F. nucleatum* na saliva foram observadas em indivíduos com IHO-S insatisfatório em todos os grupos. Não foram observadas diferenças significativas em nenhum grupo quanto à frequência de aparecimentos dos microrganismos na saliva.

A comparação entre o IHO-S e a presença microrganismos no biofilme supragengival está descrita na TABELA 15.

TABELA 15 – COMPARAÇÃO ENTRE O IHO-S DO BIOFILME SUPRAGENGIVAL E A PRESENÇA DE MICRORGANISMOS NO BIOFILME SUPRAGENGIVAL. CURITIBA-PR, 2011

VARIÁVEIS		MICRORGANISMOS NO BIOFILME		p^*
<i>A. actinomycetemcomitans</i>				
Pré-Transplante		Positivo	Negativo	0, 692
	IHO-S Satisfatório	0	4 (100%)	
	Insatisfatório	1 (11%)	8 (89%)	
Pós-Transplante				-
	IHO-S Satisfatório	0	12 (100%)	
	Insatisfatório	0	6 (100%)	

VARIÁVEIS		MICROORGANISMOS NO BIOFILME		p^*
Controle				-
IHO-S	Satisfatório	0	5 (100%)	
	Insatisfatório	0	8 (100%)	
<i>P. gingivalis</i>				
Pré-Transplante		Positivo	Negativo	0, 692
IHO-S	Satisfatório	0	4 (100%)	
	Insatisfatório	1 (11%)	8 (89%)	
Pós-Transplante				0, 750
IHO-S	Satisfatório	0	2 (100%)	
	Insatisfatório	1 (17%)	5 (83%)	
Controle				-
IHO-S	Satisfatório	0	5 (100%)	
	Insatisfatório	0	8 (100%)	
<i>T. denticola</i>				
Pré-Transplante		Positivo	Negativo	0, 538
IHO-S	Satisfatório	1 (25%)	3 (75%)	
	Insatisfatório	1 (11%)	8 (89%)	
Pós-Transplante				-
IHO-S	Satisfatório	0	2 (100%)	
	Insatisfatório	0	6 (100%)	
<i>T. denticola</i>				
Controle				-
IHO-S	Satisfatório	0	5 (100%)	
	Insatisfatório	0	8 (100%)	
<i>F. nucleatum</i>				
Pré-Transplante		Positivo	Negativo	0, 424
IHO-S	Satisfatório	3 (75%)	1 (25%)	
	Insatisfatório	4 (50%)	4 (50%)	
Pós-Transplante				0, 357
IHO-S	Satisfatório	0	2 (100%)	
	Insatisfatório	3 (50%)	3 (50%)	
Controle				0,490
IHO-S	Satisfatório	1 (20%)	4 (80%)	
	Insatisfatório	3 (38%)	5 (62%)	

*Teste Exato de Fisher – $P < 0.05$

FONTE: A autora (2012)

No biofilme supragengival os microrganismos foram observados em maior frequência em indivíduos com IHO-S insatisfatório em todos os grupos. Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

A comparação entre o uso de medicamentos e a presença de *F. nucleatum* no biofilme supragengival pode ser visualizada na TABELA 16.

TABELA 16 – COMPARAÇÃO ENTRE O USO DE MEDICAMENTOS E A PRESENÇA DE *F. nucleatum* NO BIOFILME SUPRAGENGIVAL. CURITIBA-PR, 2011

GRUPOS	IHO-S	<i>F.n.</i> Biofilme	MEDICAMENTOS	AMOSTRA (n)
Pré-transplante	Satisfatório	Positivo	Nenhum	3
		Negativo	Outros	1
	Insatisfatório	Positivo	Nenhum	3
			Antibiótico	1
		Negativo	Nenhum	2
			Outros	2
Pós-transplante	Satisfatório	Negativo	Nenhum	2
	Insatisfatório	Positivo	Antibiótico	2
			Outros	1
		Negativo	Nenhum	1
			Antibiótico	1
			Outros	1
	Controle	Satisfatório	Positivo	Nenhum
Negativo			Nenhum	3
Outros			1	
Insatisfatório		Positivo	Nenhum	3
		Negativo	Nenhum	4
			Analgésico	1

FONTE: A autora (2012)

O uso de antibiótico foi observado em uma amostra positiva de *F. nucleatum* com IHO-S insatisfatório no grupo pré-transplante e em duas amostras do grupo pós-transplante. Os demais indivíduos que apresentaram IHO-S insatisfatório, não apresentaram o microrganismo e não usavam de antibióticos.

5 DISCUSSÃO

Estudos prévios sobre saúde bucal de crianças e adolescentes com AF relataram as conseqüências do TCTH na condição de saúde bucal (YALMAN et al., 2001; MASSEROT et al., 2008; ALTER, 2005 e ROSENBERG et al., 2005). Entretanto, estudos que descrevam a frequência de microrganismos periopatógenos para pacientes submetidos ao TCTH são escassos.

Este estudo investigou fatores comportamentais, variáveis socioeconômicas e a presença de quatro microrganismos patógenos periodontais (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola* e *F. nucleatum*) na saliva e no biofilme supragengival de crianças e adolescentes com AF e saudáveis. Nowzari et al. (2001) foram os únicos até o momento a descrever a microbiota do biofilme supragengival de um paciente com AF e doença periodontal grave. Pattni et al. (2000) observaram a presença de patógenos no biofilme subgengival em adultos com diferentes tipos de leucemias antes e após o TCTH.

Neste estudo o biofilme foi coletado dos indivíduos enquanto esperavam para consulta médica no STMO-HC o que impossibilitou a padronização do tempo de ausência de escovação antes da coleta de biofilme supragengival. Este fato pode ter interferido na quantidade de biofilme coletado, o que inviabilizou a análise de algumas amostras. A ausência de dados microbiológicos sobre a composição da microbiota bucal de indivíduos com AF dificultou a comparação com a literatura, que foi realizada com outras populações e com indivíduos saudáveis.

A idade de seis anos foi escolhida por haver melhor colaboração com a coleta de saliva e biofilme supragengival e 18 anos por ser o último ano da adolescência, segundo o Art. 2º das Disposições Gerais do Estatuto da Criança e do Adolescente. BRASIL (1990).

A idade média da descoberta do diagnóstico da AF foi de aproximadamente sete anos como descrito por Gluckman et al. (1995) e Ilurdoz et al. (2003).

A renda familiar foi considerada com base no salário mínimo em vigor no ano de 2011, pelo Ministério do Trabalho. Não houve diferença significativa entre os ganhos dos indivíduos com AF e saudáveis.

O acompanhamento da criança pela mãe, durante a coleta de dados, foi mais frequente para os grupos com AF. No grupo controle o acompanhamento na clínica odontológica foi realizado pela mãe, avós, tios e outros em maior proporção. Resultados semelhantes foram observados por Faquinello et al. (2007) que verificaram que 90% das crianças hospitalizadas eram acompanhadas pelas mães. O acompanhamento predominante pela mãe pode ser devido ao fato da AF ser uma doença que requer maiores cuidados, visitas médicas constantes e internamento em alguns momentos.

No que diz respeito ao acesso odontológico, os grupos pré-transplante e controle utilizaram o serviço odontológico público em menos de um ano para avaliação de rotina. Em geral, o grupo pós-transplante visitou o cirurgião-dentista do serviço privado liberal em menos de um ano para avaliação de rotina. Esse dado sugere que os pacientes com AF podem ter recebido orientações sobre cuidados bucais e após o TCTH procuram atendimento especializado. Estes resultados diferem dos observados por Tekcicek et al. (2007) que avaliou 26 pacientes com AF na Turquia, dos quais 62% nunca haviam consultado o cirurgião dentista. Esta diferença pode ser justificada pelo ano da pesquisa e por eventuais diferenças culturais entre Turquia e Brasil. O curto período entre as consultas mostra o aumento do acesso odontológico e a conscientização dos pacientes com AF para alterações da cavidade bucal decorrentes da doença, sugerindo que estes indivíduos devem ser regularmente acompanhados por cirurgião dentista (FALCI et al., 2011; MATTIOLI et al., 2010).

O aumento do acesso odontológico e de informações sobre como cuidar da saúde bucal sugere que os hábitos de higiene bucal sejam mais eficazes diminuindo a presença de problemas bucais e a necessidade de tratamento odontológico. Entretanto, na maioria dos indivíduos que apresentavam hábitos de escovação de três vezes ou mais ao dia, o índice de higiene oral foi insatisfatório para os grupos pré-transplante e controle. Estes dados sugerem que, embora exista aumento do

acesso odontológico, informações sobre cuidados da saúde bucal não são repassadas de maneira eficiente para o entendimento desses indivíduos. Sendo importante aperfeiçoar a transmissão de conhecimento sobre saúde bucal para esta população.

Ainda que a escovação seja realizada regularmente é necessário observar a sua eficiência e incentivar a utilização de fio dental entre crianças e adolescentes, uma vez que entre 60% e 70% afirmaram não usar esse recurso de higiene bucal. Açıkgöz et al. (2005) verificaram que dos 15 pacientes com AF estudados, seis escovavam os dentes duas vezes ao dia e os demais pacientes não escovavam os dentes regularmente resultando em valores insatisfatórios de IHO.

Falhas nos hábitos de higiene bucal favorecem o acúmulo de biofilme supragengival visível sobre a coroa dentária. Araujo et al. (2007), Tekcicek et al. (2007) e Yalman et al. (2001) observaram a presença de biofilme supragengival visível em pacientes com AF e os valores encontrados foram semelhantes ao desse estudo.

Kerveiler et al. (2000) relataram que 66% dos indivíduos com AF apresentavam algum tipo de deformidade no polegar, braços e/ou mãos. Embora, não existam trabalhos mostrando a relação entre a má formação esquelética das mãos dos portadores de AF e dificuldades na higienização dentária, este pode ser um dos fatores que contribuíram para a deficiência nos hábitos de higiene entre os indivíduos com AF e conseqüente acúmulo de biofilme supragengival obtendo IHO insatisfatório nestes indivíduos. Outros fatores ainda podem estar relacionados ao acúmulo de biofilme, como a alteração da composição e fluxo salivar. Mattioli et al. (2010) observaram redução significativa no fluxo salivar e componentes da saliva de pacientes com AF e saudáveis. Estas alterações salivares associadas à deficiência na higienização podem aumentar o risco de problemas bucais nos indivíduos com AF, uma vez que a saliva fora dos padrões normais apresentaria suas funções de limpeza e antimicrobiana comprometidas.

A presença de biofilme supragengival associado à debilidade do hospedeiro, fatores ambientais e comportamentais pode aumentar o risco do indivíduo as

doenças bucais. A frequência de microrganismos periodontopatógenos no biofilme supragengival entre os grupos pré, pós-transplante e controle foi respectivamente de 62%, 38% e 30%. Em um único indivíduo do grupo pré-transplante foi observada a presença dos quatro microrganismos analisados. No grupo pós-transplante foi observada a presença de *P. gingivalis* e *F. nucleatum* e no grupo controle foi observado apenas o *F. nucleatum*. Entre os microrganismos estudados no biofilme supragengival o *F. nucleatum* foi o que apareceu em maior frequência. Resultados semelhantes foram encontrados por Salako et al. (2003). Estes resultados podem ser explicados pelo fato do *F. nucleatum* ser um colonizador primário e coagregador de microrganismos no biofilme, assim, os demais microrganismos avaliados aderem ao biofilme através de ligações com o *F. nucleatum* e necessitariam de maior tempo para colonização (KOLENBRANDER et al., 2006).

Nowzari et al. (2001) observaram a presença de *A. actinomycetemcomitans* e *F. nucleatum* no biofilme supragengival de um paciente com onze anos, periodontite agressiva e AF. Os microrganismos *T. denticola* e *P. gingivalis* não foram avaliados.

A presença de *A. actinomycetemcomitans* tem sido observada com maior frequência em jovens com periodontite agressiva (CORTELLI et al., 2005), em indivíduos após o TCTH (PATTNI et al., 2000), em indivíduos jovens sistemicamente saudáveis (KIMURA et al., 2002) e em jovens com e sem gengivite (GAFAN et al. 2004). A presença de microrganismos em diferentes situações sistêmicas e clínicas confirma a teoria da hipótese da placa ecológica, em que apenas a presença do microrganismo não é suficiente para o desenvolvimento da doença (MARSH, 2003).

A maior frequência de *P. gingivalis* antes do TCTH foi avaliado por Pattni et al. (2000) em indivíduos com Leucemia Linfóide Aguda, Leucemia Mielóide Aguda, Leucemia Mielóide Crônica, Mieloma, Mielodisplasia e Linfoma de non-Hodgkins. Após três meses de TCTH verificaram a redução de 12% para 5% do microrganismo e em seis meses não foi detectada a presença de *P. gingivalis* nos mesmos indivíduos. A justificativa para a redução de *P. gingivalis* foi o uso de terapia medicamentosa antibiótica.

O grupo pré-transplante pode ter apresentado maior frequência de microrganismos no biofilme supragengival, devido ao regime de condicionamento antes do TCTH, que promove pancitopenia e resulta na vulnerabilidade para infecções virais, fúngicas e bacterianas (SONIS et al. 1995).

A ausência de microrganismos *P. gingivalis* (grupo controle) e *T. denticola* (grupos pós-transplante e controle) foi semelhante ao observado por Kimura et al. (2002) em 144 crianças saudáveis, entre dois e 13 anos de idade.

Em geral a baixa frequência de microrganismos no biofilme supragengival desse estudo pode ser explicada pela limitação de padronização do tempo entre a coleta de biofilme e a escovação dos dentes. Por exemplo, microrganismos como *A. actinomycetencomitans* podem ser encontrados nas superfícies dentais dentro de seis horas, mas em níveis extremamente baixos (LI et al., 2004). Neste estudo, terapia antibiótica não pode ser considerada como fator redutor de frequências dos microrganismos no biofilme, já que os indivíduos que apresentaram resultados negativos para presença dos microrganismos não faziam uso de antibióticos entre os dias da coleta.

Os microrganismos colonizadores do biofilme fazem parte da microbiota bucal residente e estão presentes na saliva. A diversidade bacteriana encontrada na saliva é considerada como uma importante ferramenta de triagem (GIANNOBILE et al., 2000). Nesse estudo verificou-se a alta frequência dos microrganismos na saliva tanto de crianças com AF como crianças saudáveis. Apenas um indivíduo do grupo pré-transplante não apresentou nenhum microrganismo na saliva, neste estudo. Sakai et al. (2007) e Sirinian et al. (2002) tiveram 18% e 51%, respectivamente, dos indivíduos com ausência de microrganismos na saliva.

Ooshima et al. (2003) observaram a presença do microrganismo *A. actinomycetencomitans* em 50% das amostras salivares avaliadas, provavelmente por ser um microrganismo transitório da cavidade bucal. Entretanto, dados controversos foram observados por Umeda et al. (1998), Sirinian et al. (2002), Sakai et al. (2007), Kulecki et al. (2008) e Rotimi et al. (2010) que verificam a presença de *A. actinomycetencomitans* em 1,8%, 15%, 4,7%, 24% e 31% respectivamente. A

baixa frequência de *A. actinomycetencomitans* nestes estudos pode ser justificada pela idade e condições de saúde bucal dos indivíduos avaliados, uma vez que este microrganismo é frequentemente associados à doença periodontal agressiva juvenil (NOWZARI et al., 2001) e a infecções bucais, endocardites e septicemias (KUO et al., 2008).

As maiores frequências de *P. gingivalis* foram observadas no grupo pós-transplante (96%) e controle (75%). Resultados diferentes foram observados por Sirinian et al. (2002), Sakai et al. (2007), Kulecki et al. (2008) e Rotimi et al. (2010), e que verificaram a presença em 15%, 6,3%, 12% e 1,7%, das crianças avaliadas respectivamente.

Neste estudo as frequências de *T. denticola* observadas foram semelhantes às encontradas por Sirinian et al. (2002), Sakai et al. (2007) e Kulecki et al. (2008) em pacientes com saúde gengival satisfatória, aonde este microrganismo é raramente encontrado (OKADA et al., 2000). Entretanto, esta afirmação não pode ser respondida com este estudo por não haver sido realizado nenhum tipo de avaliação gengival.

Os microrganismos analisados neste estudo foram observados em maiores frequências na saliva do que no biofilme supragengival como os encontrados por Li et al. (2004), Papaionnou et al. (2009) e Saygun et al. (2011). Embora os microrganismos estudados apresentem potencial periodontopatógenos, a presença na saliva não causa a doença no hospedeiro. A interação constante da saliva com o meio bucal é importante para o início da colonização do biofilme. A migração dos microrganismos acontece por meio de células do epitélio da mucosa jugal, que ao aderirem nos dentes iniciam a formação e maturação do biofilme, em condições de saúde bucal, as bactérias presentes no biofilme estarão em equilíbrio com o hospedeiro até que as condições ambientais sejam alteradas.

Uma alta frequência de microrganismos na saliva foi observada tanto em indivíduos com IHO satisfatório como insatisfatório. Como, a maioria dos indivíduos realizou a coleta de saliva poucas horas após a higienização dental, as bactérias

presentes no biofilme eram desorganizadas e liberadas na cavidade bucal, permanecendo no epitélio bucal e depois dissociadas para a saliva.

Análise estatística com as variáveis idade, entre seis a doze anos e 13 a 18, e a presença de microrganismos em relação ao sexo foram realizadas. Entretanto diferenças significativas não foram observadas, optou-se por não expressar esses dados nos resultados. Embora, a elevada freqüência dos microrganismos na saliva possa ser explicada por fatores hormonais devido à idade transitória da infância para a adolescência (UMEDA et al. 2004).

A presença de microrganismos tanto em indivíduos com AF e saudáveis assim como em estudos que avaliam os microrganismos na presença e ausência de doença reforçam a hipótese da placa ecológica (MARSH et al., 2011), onde é necessária a mudança de hábitos para iniciar a doença e não apenas a presença do microrganismo no biofilme. Diferenças de resultados entre estudos microbiológicos podem ser justificadas pela utilização de diferentes métodos, grupos de idades, fase de dentição e etnias (KULECKI et al., 2008).

Os resultados deste estudo mostraram que apesar da ausência de uniformização do tempo de coleta do biofilme pós-escovação não foram observadas diferenças significativas entre os grupos na frequência de presença dos microrganismos estudados na saliva e biofilme supragengival. Estes dados sugerem que as alterações sistêmicas observadas nos pacientes com AF e o condicionamento pré-transplantes não afetou a distribuição destes microrganismos na saliva e no biofilme supragengival. A avaliação da composição do biofilme subgengival e do quadro de saúde periodontal permitirão verificar os riscos destes indivíduos a doença periodontal.

6 CONCLUSÃO

Dentro das limitações do presente estudo conclui-se que:

Os indivíduos desse estudo tiveram idade, diagnóstico da AF e renda familiar semelhantes nos três grupos estudados.

Consultas de rotina regulares ao cirurgião-dentista, escovação igual ou superior a três vezes ao dia, sem o uso de fio dental e enxaguatório bucal foram caracterizados como fatores comportamentais da amostra estudada.

Não houve diferença significativa entre os grupos na frequência de presença dos microrganismos estudados na saliva e biofilme supragengival, sugerindo que as alterações sistêmicas observadas nos pacientes com AF e o condicionamento pré-transplantes não afetou a distribuição destes microrganismos na saliva e no biofilme supragengival.

A presença dos microrganismos foi maior na saliva do que no biofilme supragengival. A presença de microrganismos foi maior em pacientes com IHO-S insatisfatório.

Não houveram diferenças significativas em relação aos hábitos de higiene bucal relatados e IHO-S observado, sugerindo que apesar do acesso odontológico, a higienização não está sendo realizada de maneira eficiente.

REFERÊNCIAS

ALTER, B. Fanconi ' s Anemia , transplantation , and cancer. **Pediatric Transplantation**, v. 9, p. 81-86, 2005.

ASHIMOTO, A.et al. Polymerase Chain Reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. **Oral microbiology and immunology**, v. 11, n. 4, p. 266-273, 1996.

ARAUJO, M. R. et al. Fanconi's anemia: clinical and radiographic oral manifestations. **Oral diseases**, United Kingdom, v. 13, n. 3, p. 291-295, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17448211>>. Acesso em: 10/11/2011.

AUERBACH, A.D. Fanconi anemia diagnosis and the diepoxybutane (DEB) test. **Exp Hematol**, Netherlands, v. 21, n. 6, p. 731-733, 1993.

AÇIKGÖZ, A.et al. Oral and dental findings in Fanconi's anemia. **Pediatric hematology and oncology**, Netherlands, v. 22, n. 6, p. 531-9, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16169820>>. Acesso em: 10/11/2011.

BRASIL. Presidência da República. Lei nº 8.069 de 13 de julho de 1990. Estatuto Da Criança e do Adolescente. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília – DF, 13 de julho de 1990.

CECCALDI, R. et al. Spontaneous abrogation of the G 2 DNA damage checkpoint has clinical benefits but promotes leukemogenesis in Fanconi anemia patients. **The Journal of Clinical Investigation**, Michigan, v. 121, n. 1, p.184-194, 2011.

CORTELLI, J. R. et al. Prevalence of periodontal pathogens in Brazilians with aggressive or chronic periodontitis. **Journal of clinical periodontology**, v. 32, n. 8, p. 860-866, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15998269>>.

CURTIS, R. E. et al. Impact of chronic GVHD therapy on the development of squamous-cell cancers after hematopoietic stem-cell transplantation: an international case-control study. **Blood**, Washington, v. 105, n. 10, p. 3802-3811, 2005. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1895092&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 10/11/2011.

DAHLLÖF, G.; BÅGESUND, M.; RINGDÉN, O. Impact of conditioning regimens on salivary function, caries-associated microorganisms and dental caries in children after bone marrow transplantation. A 4-year longitudinal study. **Bone marrow transplantation**, London, v. 20, n. 6, p. 479-483, 1997. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9313881>>. .

DEWHIRST, F.E. et al. The diversity of periodontal spirochetes by 16SrRNA analysis. **Oral. Microbiol. Immunol**, v. 15, n. 3, p. 196-200, 2000.

FALCI, S. G. M. et al. Fanconi ' s anemia in dentistry : a case report and brief literature review. **Rev Odonto Cienc**, Porto Alegre, v. 26, n. 3, p. 272-276, 2011.

FAQUINELLO, P.; HIGARASHI, I. H.; MARCON, S. S. o Atendimento humanizado em unidade pediátrica. **Texto Contexto Enfermagem**, Brasil, v. 16, n. 4, p. 609-616, 2007.

FONSECA, R. B.; SECOLI, S. R. Medicamentos utilizados em transplante de dos antimicrobianos potencialmente interativos. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, Brasil, v.42, n.2, p. 706-714, 2008.

GALE, R.P. et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease. **Br J Haematol**, v. 67, n. 4, p. 397- 406, 1987.

GAFAN, G. P. et al. Prevalence of Periodontal Pathogens in Dental Plaque of Children. **Society**, v. 42, n. 9, p. 4141-4146, 2004.

GIANNOBILE, W. V. et al. Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease: current state and future directions. **Periodontology 2000**, Denmark, v. 50, n. 2, p. 52-64, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19388953>>. .

GLUCKMAN, E. et al. Bone marrow transplantation for Fanconi anemia. **Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation**, United States, v. 86, n. 7, p. 2856-2862, 1995. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21220033>>.

GREENE J.C.; VERMILLION J. THE SIMPLIFIED ORAL HYGIENE INDEX. **J Am Dent Assoc**, v. 68, n. Janeiro, p. 7-13, 1964.

HAHN T. et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease after human leukocyte antigen-identical sibling transplants for adults with leukemia. **J Clin Oncol**, v. 26, n. 35, p. 5728-5734.

HAFFAJEE, A D. *et al.* Microbial complexes in supragingival plaque. **Oral microbiology and immunology**, United Kingdom, v. 23, n. 3, p. 196-205, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18402605>>.

HOLT, S. C.; EBERSOLE, J. L. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the “red complex”, a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. **Periodontology 2000**, Denmark, v. 38, p. 72-122, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15853938>>. .

ILURDOZ, M. S. D. et al. Anemia de Fanconi . Consideraciones actuales. **Anales Sis San Navarra**, v. 26, n.1, p.63-78, 2003.

JENKINSON, H. F.; LAMONT, R. J. Oral microbial communities in sickness and in health. **Trends in Microbiology**, v. 13, n. 12, 2005.

JOENJE, H; PATEL, K. J. The emerging genetic and molecular basis of Fanconi anaemia. **Nature reviews. Genetics**, United Kingdom, v. 2, n. 6, p. 446-457, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11389461>>. .

JÚNIOR, R. H. **Efeito da Doença Periodontal no Transplante de Medula Óssea**, 2009.

KERVILER, E. et al. The Clinical and Radiological Features of Fanconi's Anaemia. **Clinical Radiology**, v.55, p. 340-345, 2000.

KIMURA, S. et al. Periodontopathic bacterial infection in childhood. **Journal of periodontology**, v. 73, n. 1, p. 20-6, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11846195>>.

KINANE, D. F.; BERGLUNDH, T.; LINDHE, J. Patogênese da Periodontite. In:_____. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantodontia Oral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. p.271-291.

KOLENBRANDER, P. E. et al. Bacterial interactions and successions during plaque development. **Periodontology 2000**, v. 42, n. 5, p. 47-79, 2006.

KUO, L. C.; POLSON, A. M.; KANG, T. Associations between periodontal diseases and systemic diseases: a review of the inter-relationships and interactions with diabetes, respiratory diseases, cardiovascular diseases and osteoporosis. **Public health**, v. 122, n. 4, p. 417-33, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18028967>>. Acesso em: 8/1/2012.

KULEKCI, G. et al. Salivary detection of periodontopathic bacteria in periodontally healthy children. **Anaerobe**, United States, v. 14, n. 1, p. 49-54, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17869137>>. Acesso em: 10/11/2011.

KUTLER, D. I. et al. A 20-year perspective on the International Fanconi Anemia Registry (IFAR). **Blood**, Washington, v. 101, n. 4, p. 1249-1256, 2003.

LANG, N. P.; MOMBELLI, A.; ATTSTROM, R. Biofilmes e Cálculos Orais. In: LINDHE, J. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantodontia Oral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. p.173-196.

LAGERVALL, M.; JANSSON, L.; BERGSTRÖM, J. Systemic disorders in patients with periontal disease. **Journal of Clinical Periodontology**, Denmark, v. 20, p. 293-299, 2003.

LI, J.; HELMERHORST, E. J.; LEONE, C. W. et al. Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm. **Journal of applied microbiology**, v. 97, n. 6, p. 1311-8, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15546422>>.

- LOBITZ, S.; VELLEUER, E. Guido Fanconi (1892-1979): a jack of all trades. **Nature reviews. Cancer**, England, v. 6, n. 11, p. 893-898, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17036037>>.
- LOE, H. The gingival index, the plaque index and the retention index systems. **J Periodontol**, United States, v.38, n. 6, p. 610-616, 1967.
- LÓPEZ, R.; DAHLÉN, G.; BAELUM, V. Subgingival microbial consortia and the clinical features of periodontitis in adolescents. **European Journal of Oral Sciences**, Denmark, 2011. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1600-0722.2011.00875.x>>. Acesso em: 10/11/2011.
- LUCAS, V. S.; ROBERTS, G. J.; BEIGHTON, D. Oral health of children undergoing allogeneic bone marrow transplantation. **Bone marrow transplantation**, London, v. 22, n. 8, p. 801-808, 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9827979>>.
- MALAMUD, D. Salivary diagnostics- The future is now. **Journal of the American Dental Association**, United States, v. 137, p. 284-285, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21917749>> .
- MARSH, P. D. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? **Microbiology**, Paris, v. 149, n. 2, p. 279-294, 2003. Disponível em: <<http://mic.sgmjournals.org/cgi/doi/10.1099/mic.0.26082-0>>. Acesso em: 24/6/2011.
- MARSH P.D.; NYVAD B. A microbiota oral e biofilmes formados sobre os dentes. In: FEJERSKOV O.; KIDD, E. **Cárie dentária, a Doença e seu tratamento clínico**, São Paulo, Editora Santos, 2000. p. 31.
- MARSH, P. D.; DEVINE, D. A. How is the development of dental biofilms influenced by the host? **Journal of clinical periodontology**, v. 38 Suppl 1, p. 28-35, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21323701>>.
- MASSEROT, C. et al. Head and neck squamous cell carcinoma in 13 patients with Fanconi anemia after hematopoietic stem cell transplantation. **Cancer**, Atlanta, v. 113, n. 12, p. 3315-3322, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18831513>>. Acesso em: 10/11/2011.
- MATTIOLI, T. M. F. et al. Salivary flow rate, calcium, urea, total protein, and amylase levels in fanconi anemia. **Journal of pediatric hematology/oncology**, United States, v. 32, n. 2, p. 46-49, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20147854>> .
- MEDEIROS, L. A.; PASQUINI, R. Anemia aplásica adquirida e anemia de Fanconi - Diretrizes Brasileiras em Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, Brasil, v. 32, p. 40-45, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842010000700008&lng=pt&nrm=iso&tling=pt>. Acesso em: 10/11/2011.

MILLER, C. S. et al. Salivary biomarkers of existing periodontal disease: a cross-sectional study. **Journal of the American Dental Association**, United States, v. 137, n. 3, p. 322-329, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16570465>>.

NOWZARI, H. et al. Case Report Aggressive Periodontitis Associated With Case Report. **J Periodontol**, United States, November, p. 1601-1606, 2001.

OKADA M, HAYASHI F, NAGASAKA N. Detection of Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in dental plaque samples from children 2–12 years of age. **J Clin Periodontol**, v. 27, p 763–768, 2000.

OOSHIMA T. et al. Occurrence of periodontal bacteria in healthy children: a 2-year longitudinal study. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 31, p. 417–425, 2003.

OTAN, F. et al. Recurrent aphthous ulcers in Fanconi ' s anaemia : a case report. **International Journal of Paediatric Dentistry**, England, n. January 2002, p. 214-217, 2004.

PADILHA, A. R. S. (Coord.) **Projeto de Saúde Bucal Brasil 2010**. Ministério da Saúde. 2011. Projeto Concluído.

PAGE, R.C. The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of a paradigm. **Ann Periodontol**, United States, v. 3, p. 108-120, 1998.

PAPAIOANNOU, W. et al. The microbiota on different oral surfaces in healthy children. **Oral microbiology and immunology**, Washington, v. 24, n. 3, p. 183-189, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19416446>>. .

PASQUINI, R.; ZANIS NETO, J. Anemia de Fanconi. **Hematologia: Fundamentos e Prática**, Brasil, p.170-179, 2001.

PATTNI, R. et al. Changes in the periodontal status of patients undergoing bone marrow transplantation. **Journal of periodontology**, v. 71, n. 3, p. 394-402, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10776926>>.

PINTO, F. O. et al. Diagnosis of Fanconi anemia in patients with bone marrow failure. **Haematologica**, Italy, v. 94, n. 4, p. 487-95, 2009. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2663612&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 10/11/2011.

PINTO, V.G. Identificação de problemas. In:_____. **Saúde bucal coletiva**. São Paulo, Editora Santos, 2000. p.192.

RAPAPORT, S. I. Anemias devido à Insuficiência da Eritropoiese. In:_____. **Hematologia introdução**. São Paulo, Livraria Roca, 1990.p.128-141.

- REED, K. et al. The association of Fanconi's anemia and squamous cell carcinoma. **Cancer**, Atlanta, v. 52, n. 5, p. 926-8, 1983. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6347359>>. .
- ROSENBERG, P. S. et al. Risk of head and neck squamous cell cancer and death in patients with Fanconi anemia who did and did not receive transplants. **Blood**, Washington, v. 105, n. 1, p. 67-73, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15331448>>. Acesso em: 9/12/2011.
- ROTIMI et al. Prevalence of periodontal bacteria in saliva of Kuwaiti children at different age groups. **Journal of Infection and Public Health**, v.3, p. 76-82, 2010.
- RYAN, M. E. Clinical applications for host modulatory therapy. **Compendium**, v. 23, n. November, p. 1071-1082, 2002.
- SAKAI, V.T. et al. Prevalence of four putative periodontopathic bacteria in saliva of a group of Brazilian children with mixed dentition: 1-year longitudinal study. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 17, p.192-199, 2007.
- SALAKO, N. O. et al. The bacteriology of the supragingival plaque of child dental patients in Kuwait. **Medical principles and practice**, Kuwait, v. 13, n. 4, p. 191-5, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15181322>>. Acesso em: 5/10/2011.
- SALUM, F. G. et al. Squamous cell carcinoma of the tongue after bone marrow transplantation in a patient with Fanconi anemia. **Brazilian dental journal**, Brasil, v. 17, n. 2, p. 161-5, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16924346>>. .
- SAYGUN, I. et al. Salivary infectious agents and periodontal disease status. **Journal of periodontal research**, Denmark, v. 46, n. 2, p. 235-239, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21261620>>. Acesso em: 2/10/2011.
- SCANNAPIECO, F. A. Inflammation : From Gingivitis to Systemic Disease ? **Compendium**, v.25, n.5, p. 17-26, 2004.
- SCHOFIELD, I.; WORTH, A. Malignant mucosal change in Fanconi's anemia. **Journal of Oral Surgery**, England, v. 38, p. 619-622, 1980.
- SIRINIAN, G.; SHIMIZU, T.; SUGAR, C.; CHEN, C. Periodontopathic Bacteria in Young Backgrounds in Los Angeles. **J Periodontol**, London, v. 73, n.2, p. 283-288, 2002.
- SLOTS, J. et al. Detection of Putative Pathogens in Subgingival Specimens by 16S Ribosomal DNA Amplification with the Polymerase Chain Reaction. **Clin Infect Des**, v. 20, n. 2, p. 305-307, 1995.

SOCRANSKY, S S et al. Microbial complexes in subgingival plaque. **Journal of clinical periodontology**, Denmark, v. 25, n. 2, p. 134-144, 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9495612>>. .

SMITH, S.; MARX, M.; JORDAAN, C.; NIEKERK, C. V. Clinical aspects of a cluster of 42 patients in South Africa with Fanconi Anemia. **Fanconi Anemia, Clinical, Cytogenetic and Experimental Aspects**, v. Springer-V, p. 34-46, 1989.

SOCRANSKY, SIGMUND S; HAFFAJEE, A. D. Infecções Periodontais. In: LINDHE, J. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantodontia Oral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. p.197-254.

SONIS A.L. et al. The Oral Health of Long-term Survivors of Acute Lymphoblastic Leukaemia: a Comparison of Three Treatment Modalities. **Oral Oncol**. V. 31, n. 4, p. 250-252, 1995.

SUSIN, C. et al. Prevalence and risk indicators for chronic periodontitis in adolescents and young adults in south Brazil. **Journal of Clinical Periodontology**, Denmark, v. 38, n. 4, p. 326-333, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21299588>>. Acesso em: 10/11/2011.

TABA, M. et al. Diagnostic Biomarkers for Oral and Periodontal Diseases. **Dent Clin North Am**, United States, v. 49, n. 3, p. 1-21, 2005.

TEKCICEK, M. et al. Oral and dental findings in children with Fanconi anemia. **Pediatric Dentistry**, England, v. 29, n. 3, p. 248-252, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17688024>>. .

UMEDA M, et al. The utility of whole saliva to detect the oral presence of periodontopathic bacteria. **J Periodontol**,v.69, p.828–833, 1998.

YALMAN, N. et al. The effect of bone marrow transplantation on systemic an oral health in Fanconi's aplastic anemia. **The Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, United States, v. 25, n. 4, 2001.

ZHANG, L. et al. The clinical value of salivary biomarkers for periodontal disease. **Periodontology 2000**, Denmark v. 51, p. 25-37, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19878467>>.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.	82
APÊNDICE 2 - TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.	85
APÊNDICE 3 - FICHA CLÍNICA.....	87

APÊNDICE 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título: ANÁLISE DE MICRORGANISMOS NA SALIVA E BIOFILME DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM ANEMIA DE FANCONI.

Pesquisadores: Karine Fatima Lyko
José Miguel Amenábar Céspedes.

Local da Pesquisa: Ambulatório de Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas.

Endereço: Rua General Carneiro nº 181 - 15º andar - Tel:(41) 3360-1007
Alto da Glória - Curitiba - PR

PROPÓSITO DA INFORMAÇÃO AO PACIENTE E DOCUMENTO DE CONSENTIMENTO

Você, PAI / MÃE / RESPONSÁVEL, e também seu FILHO(A) está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa, coordenada por uma cirurgiã-dentista, Karine Fatima Lyko - CRO 21.327.

Para que você possa participar é necessário que você leia este documento com atenção. Se houver palavras que você não entende, por favor, solicite todas as informações que julgar necessárias para o seu entendimento aos responsáveis pelo estudo até que você entenda tudo claramente.

Este documento serve para fornecer a você informações sobre a pesquisa e, se assinado, dará a sua permissão para participar no estudo. O documento descreve o objetivo, procedimentos, benefícios e eventuais riscos ou desconfortos caso queira participar. Você só deve participar do estudo se você quiser. Você pode se recusar a participar ou se retirar deste estudo a qualquer momento.

INTRODUÇÃO

O condicionamento pré-transplante com quimioterapia, radioterapia e imunossupressores pode servir de fator de risco para o desenvolvimento de doença na mucosa gástrica e bucal com alterações gengivais e doença cárie. Doenças periodontais e gástricas têm sido relatadas em estudos e alerta para a importância da realização rotineira de exames clínicos criteriosos da boca. As doenças periodontais são inflamações que acontecem na gengiva e podem provocar sangramento e perda óssea, sendo as bactérias periapatogênicas as responsáveis pelo desenvolvimento de tal doença.

PROPÓSITO DO ESTUDO

Analisar a presença de microrganismos na saliva e na placa bacteriana supragengival e subgengival.

SELEÇÃO

Poderão participar da pesquisa crianças e adolescentes de 6 a 18 anos com Anemia de Fanconi.

Também podem participar da pesquisa crianças e adolescentes de 6 a 18 anos que não apresentem qualquer doença sistêmica.

Não poderão participar do estudo indivíduos com neutropenia severa, que usam aparelho ortodôntico e que tenham utilizado antibiótico até 3 meses antes do estudo.


MARIA JOSE MOCELIN
Membro do Comitê de Ética em Pesquisa
em Seres Humanos do HC/UFPR
Matrícula 7462

DESCRIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

Caso você participe da pesquisa, será necessário responder algumas perguntas sobre a sua saúde, realizar um exame na sua boca e coletar saliva e placa bacteriana. Este exame será realizado da seguinte forma:

- Exame clínico odontológico sem nenhum procedimento em ambiente com luz artificial e com o auxílio de espelho odontológico, sonda exploradora, cureta periodontal e espátula de madeira, para avaliar se há ou não presença de cárie e alterações na gengiva.
- Coleta de saliva e placa bacteriana para identificação de microrganismos. Para coletar a saliva você deverá mastigar um pedaço de borracha de 1cm durante 3 minutos e em seguida será orientado a expelir a saliva em frasco estéril. A placa bacteriana será recolhida de todos os dentes e também entre o dente e a gengiva com o auxílio de um instrumento que parece uma concha chamada de cureta Gracey. As amostras serão então colocadas em tubos esterilizados e a seguir os tubos serão colocados em isopor com gelo até o transporte para o laboratório de Bioquímica da UFPR onde ficarão armazenados em um freezer até o momento da análise.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA

A decisão em participar deste estudo é voluntária. Você pode decidir não participar no estudo. Uma vez que você decidiu participar do estudo, você pode retirar seu consentimento e participação a qualquer momento. Se você decidir não continuar no estudo e retirar sua participação, você não perderá qualquer benefício ao qual você tem direito.

CUSTOS

Não haverá nenhum custo a você relacionado aos procedimentos previstos no estudo.

PAGAMENTO PELA PARTICIPAÇÃO

Sua participação é voluntária, portanto você não será pago por sua participação neste estudo.

PERMISSÃO PARA REVISÃO DE REGISTROS, CONFIDENCIALIDADE E ACESSO AOS REGISTROS:

O Pesquisador responsável pelo estudo e equipe irá coletar informações sobre você. Em todos esses registros um código substituirá seu nome. Todos os dados coletados serão mantidos de forma confidencial. Os dados coletados serão usados para a avaliação do estudo, membros das Autoridades de Saúde ou do Comitê de Ética, podem revisar os dados fornecidos. Os dados também podem ser usados em publicações científicas sobre o assunto pesquisado. Porém, sua identidade não será revelada em qualquer circunstância.

Você tem direito de acesso aos seus dados. Você pode discutir esta questão mais adiante com seu dentista do estudo.

CONTATO PARA PERGUNTAS

Se você ou seus parentes tiverem alguma dúvida com relação ao estudo, direitos do paciente, ou no caso de danos relacionados ao estudo, você deve contatar o pesquisador do estudo ou sua equipe KARINE FATIMA LYKO ou JOSÉ MIGUEL AMENÁBAR CÉSPEDES (41 3360-4024). Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como um paciente de pesquisa, você pode contatar Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pelo telefone: 3360-1896. O CEP trata-se de um grupo de indivíduos com conhecimento científicos e não



telefone: 3360-1896. O CEP trata-se de um grupo de indivíduos com conhecimento científicos e não científicos que realizam a revisão ética inicial e continuada do estudo de pesquisa para mantê-lo seguro e proteger seus direitos.

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO DO PACIENTE:

Eu, _____, portador (a) do RG _____, responsável pelo menor _____ li e discuti com o investigador responsável pelo presente estudo os detalhes descritos neste documento. Entendo que eu sou livre para aceitar ou recusar sobre a participação do meu filho (a) neste estudo, e que eu posso interromper a participação a qualquer momento sem dar uma razão. Eu concordo que os dados coletados para o estudo sejam usados para o propósito acima descrito

Eu entendi a informação apresentada neste termo de consentimento. Eu tive a oportunidade para fazer perguntas e todas as minhas perguntas foram respondidas.

Eu receberei uma cópia assinada e datada deste Documento de Consentimento Informado.

NOME DO RESPONSÁVEL
(Se menor ou incapacitado)

ASSINATURA

DATA

NOME DO INVESTIGADOR
(Pessoa que aplicou o TCLE)

ASSINATURA

DATA

5

APÊNDICE 2

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título: ANÁLISE DE MICRORGANISMOS NA SALIVA E BIOFILME DE CRIANÇAS E ADOLSCENTES COM ANEMIA DE FANCONI.

Pesquisadores: Karine Fatima Lyko
José Miguel Amenábar Céspedes.

Local da Pesquisa: Ambulatório de Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas.

Endereço: Rua General Carneiro nº 181 - 15º andar - Tel:(41) 3360-1007
Alto da Glória - Curitiba - PR

PROPÓSITO DA INFORMAÇÃO AO PACIENTE E DOCUMENTO DE CONSENTIMENTO

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa, coordenada por uma cirurgiã-dentista, Karine Fatima Lyko - CRO 21.327.

Para você participar é necessário que você leia este documento com atenção. Se houver palavras que você não entende, pergunte aos responsáveis pelo estudo até que você entenda tudo.

Aquí você vai achar informações sobre a pesquisa, se você assinar dará a sua permissão para participar do estudo. Você só deve participar do estudo se você quiser. Você pode se recusar a participar ou se retirar deste estudo a qualquer momento.

INTRODUÇÃO

O condicionamento pré-transplante com quimioterapia, radioterapia e imunossupressores pode ajudar no desenvolvimento de doença no estomago e boca como alterações na gengiva e doença cárie.

PROPÓSITO DO ESTUDO

Analisar se existem microrganismos na saliva e na placa bacteriana que cobre os dentes.

SELEÇÃO

Poderão participar da pesquisa crianças e adolescentes de 6 a 18 anos.

Não poderão participar do estudo pacientes que usem aparelho ortodôntico e que tenham tomado remédio antibiótico até 3 meses antes do estudo.

DESCRIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

Caso você participe da pesquisa, será necessário responder algumas perguntas sobre a sua saúde, realizar um exame na sua boca e coletar saliva e placa bacteriana. Este exame será realizado da seguinte forma:

- Vamos apenas olhar sua boca para procurar cáries e alterações na gengiva.
- Coletar saliva e placa bacteriana. Para coletar a saliva você deverá mastigar um pedaço de borracha de 1cm durante 3 minutos e em seguida será orientado a cuspir a saliva em frasco estéril. A placa bacteriana será recolhida de todos os dentes e também entre o dente e a gengiva com ajuda de um instrumento que parece uma concha.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA

A decisão em participar deste estudo é voluntária. Você pode decidir não participar do estudo, mas se aceitar e decidir voltar atrás poderá fazer a qualquer momento, sem nenhum prejuízo.

CUSTOS

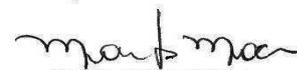
Você não precisa pagar nada para participar do estudo.

PAGAMENTO PELA PARTICIPAÇÃO

Sua participação é voluntária, portanto você não será pago por sua participação neste estudo.

PERMISSÃO PARA REVISÃO DE REGISTROS, CONFIDENCIALIDADE E ACESSO AOS REGISTROS:

O Pesquisador responsável pelo estudo e equipe irá coletar informações sobre você. Seu nome será trocado por um número. Todos os dados coletados serão guardados em segredo. Os dados coletados serão usados para a avaliação do estudo, membros das Autoridades de Saúde ou do Comitê de Ética, podem revisar os dados fornecidos. Você tem direito de acesso aos seus dados. Você pode discutir esta questão mais adiante com seu dentista do estudo.


MARIA JOSE MOCELIN
Membro do Comitê de Ética em Pesquisa
em Seres Humanos do HC/UFPR
Matricula 7462

CONTATO PARA PERGUNTAS

Se você ou seus parentes tiverem alguma dúvida com relação ao estudo, direitos do paciente, ou no caso de danos relacionados ao estudo, você deve contatar o pesquisador do estudo ou sua equipe KARINE FATIMA LYKO ou JOSÉ MIGUEL AMENÁBAR CÉSPEDES (41 3360-4024). Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como um paciente de pesquisa, você pode contatar Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pelo telefone: 3360-1896. O CEP trata-se de um grupo de indivíduos com conhecimento científicos e não científicos que realizam a revisão ética inicial e continuada do estudo de pesquisa para mantê-lo seguro e proteger seus direitos.

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO DO PACIENTE:

Eu li e discuti com o investigador responsável pelo presente estudo os detalhes descritos neste documento. Entendo que eu sou livre para aceitar ou recusar, e que eu posso interromper minha participação a qualquer momento sem dar uma razão. Eu concordo que os dados coletados para o estudo sejam usados para o propósito acima descrito.

Eu entendi a informação apresentada neste termo de consentimento. Eu tive a oportunidade para fazer perguntas e todas as minhas perguntas foram respondidas.

Eu receberei uma cópia assinada e datada deste Documento de Consentimento Informado.

NOME DO PACIENTE

ASSINATURA

DATA

NOME DO INVESTIGADOR
(Pessoa que aplicou o TCLE)_____
ASSINATURA

DATA

S

APÊNDICE 3

FICHA CLÍNICA

Dados do Paciente

 CODIFICAÇÃO:

Grupo Caso () Grupo Controle ()

Data: |__|__|__| Início da entrevista: |__|__|

Data do diagnóstico (se "Caso"): |__|__|__|

TMO: |__| (1)Pré-TMO;(2)Pós-TMO. Doador: |_____|

Nome do Voluntário: _____

Prontuário

Nº: |_____| Telefone: _____

Data de Nascimento: |__|__|__| Idade: |_____|

Sexo: |__| (1) Masculino (2) Feminino

Cor: |__| (1) Amarela (2) Branca (3) Indígena (4)Parda (5) Preta

Procedência: _____ . Zona Rural (1) Zona Urbana (2): |__|

Quantos anos de estudo completou o voluntário(em anos aprovados)? |__|

Grau de parentesco com a criança de quem respondeu o questionário: |__|

(1) Mãe; (2) Pai; (3) Avós; (4) Tios; (5) Outros Quem? _____

Renda familiar: |_____|

Acesso ao dentista: |__| (1) Sim; (2) Não.

Há quanto tempo: |__| (1) Nunca foi; (2) Menos de 1 ano; (3) De 1 a 2 anos; (4) 3 ou mais anos.

Onde: |__| (1) Nunca foi; (2) Serviço público; (3) Serviço privado liberal; (4) Serviço privado (planos e convênios); (5) Serviço filantrópico; (6) Outros.

Por quê?: |__| (1) Nunca foi; (2) Consulta de rotina; (3) Dor; (4) Sangramento gengival; (5) Cavidades nos dentes; (6) Feridas, caroços e manchas na boca; (7) Outros.

Como avalia o atendimento?: |__| (1) Nunca foi; (2) Péssimo; (3) Ruim; (4) Regular; (5) Bom (6) Ótimo.

Recebeu informações sobre como evitar problemas bucais?: |__| (1) Sim; (2) Não.

Considera que necessita de tratamento atualmente?: |__| (1) Sim; (2) Não.

Descrever: _____

Tomou algum medicamento nos últimos três meses? |__|

(1)Nenhum; (2) Analgésico; (3) Antiinflamatório; (4) Antibiótico
 (5)Outro/Especificar: _____

Como foi a prescrição?|____| (1)Prescrição Médica; (2) Prescrição Odontológica; (3) Automedicação;

Informações do histórico médico, medicamentos, dados do trans-operatório e outras informações complementares: _____

Hábitos de Higiene:

Horário da última escovação:|____|____|

Hábitos	Sim/Não	Frequência	Quem executa
Escovação			
Fio Dental			
Dentífrico			
Bochecho			

Cárie Dentária e necessidade de tratamento:

			55	54	53	52	51		61	62	63	64	65			
	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
Coroa																
Raiz																
Trat.																
				85	84	83	82	81	71	72	73	74	75			
	48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38
Coroa																
Raiz																
Trat.																

Dentes Cariados:|____| Dentes Perdidos:|____| Dentes Restaurados:|____|

Índice CPO-D:|____|

Dentes Cariados:|____| Dentes com indicação de extração:|____| Dentes Restaurados:|____| Índice Ceo-d:|____|

Índice de Higiene Bucal:

Biofilme	Molar Direito		Anterior		Molar Esquerdo		Total
	Vestibular	Lingual	Vestibular	Lingual	Vestibular	Lingual	
Superior							
Inferior							
Cálculo	Molar Direito		Anterior		Molar Esquerdo		Total
	Vestibular	Lingual	Vestibular	Lingual	Vestibular	Lingual	
Superior							
Inferior							

Índice de Placa: | ____ | Índice de Cálculo: | ____ | IHO: | ____ |

Índice Periodontal Comunitário:

AG
(5 anos)

CPI
12 anos
15-19 anos

17/16	11	26/27
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
47/46	21	36/37
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Todas as idades

Hemograma:

	VALORES DO PACIENTE	VALORES DE REFERÊNCIA	
		Homem	Mulher
Hemácias		4,5 a 6,0 milhões/mm ³	4,0 a 5,5 milhões/mm ³
Hemoglobina		14 a 18 g/100ml	12 a 14 g/100ml
Hematócrito		40% a 54%	37% a 47%
Leucócitos (global)		4.000 a 10.000 mm ³	
Eosinófilos		100 a 500 absoluta UL/ 1 a 4 relativa %	
Basófilos		0 a 100 absoluta UL/ 0 a 1 relativa %	
Monócitos		200 a 1000 absoluta UL/ 4 a 10 relativa %	
Linfócitos		800 a 3500 absoluta UL/ 20 a 35 relativa %	
Neutrófilos (bast.)		40 a 500 absoluta UL/ 1 a 4 relativa %	
Neutrófilos (seg.)		1500 a 7000 absoluta UL/ 45 a 70 relativa %	
Plaquetas		150.000 a 400.000 mm ³	

ANEXO



Curitiba, 02 de maio de 2011.

Ilmo (a) Sr. (a)
Karine Fátima Lyko
Neste

Prezada Pesquisadora:

Comunicamos que o Projeto de Pesquisa intitulado: "ANÁLISE DE MICROORGANISMOS NA SALIVA E BIOFILME DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM ANEMIA DE FANCONI", foi analisado com pendência pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, em reunião realizada no dia 26 de abril de 2011. Após, analisadas as respostas das pendências encaminhadas pela pesquisadora, este CEP/HC considera do projeto aprovado em 02 de maio de 2011. O referido projeto atende aos aspectos das Resoluções CNS 196/96, e complementares, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Ministério da Saúde.

CAAE: 0073.0.208.000-11
Registro CEP: 2469.076/2011-04

Conforme a Resolução 196/96, solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos.

Data para entrega do primeiro relatório: 02 de novembro de 2011.

Atenciosamente,

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Renato Tambara Filho".

Renato Tambara Filho
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
em Seres Humanos do Hospital de Clínicas/UFPR