



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA



JULIANA RICO PIRES

**“Avaliação clínica e microbiológica de
pacientes portadores de Diabetes mellitus
do tipo 2”**

ARARAQUARA

2004

JULIANA RICO PIRES

**“Avaliação clínica e microbiológica de
pacientes portadores de Diabetes mellitus
do tipo 2”**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia do
Campus de Araraquara da Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, como
parte dos requisitos para a obtenção do título de
Mestre do Programa de Pós-graduação em
Odontologia – Área de PERIODONTIA.

*Orientador: Prof^ª Dr^ª Denise Madalena Palomari
Spolidorio*

ARARAQUARA

2004

Agradecimentos

À Deus

"Em tudo que existe, vejamos a perfeição do Criador.

Aquele que em Seu imenso amor fez o céu, a terra, o mar e

tudo que neles há. Ao homem, porém, dedicou carinho

especial. Fez-nos à sua Imagem e semelhança, deu-nos

inteligência e força para, a cada dia, superarmos os

obstáculos que na vida encontramos".

Neste momento tão especial, volto a Ti o meu olhar e

agradeço por tanto amor e por ter me permitido superar mais

esta etapa. Obrigada, Senhor, por tudo!

Dedicatória

Aos meus Pais

Osvaldo Gomes Pires Filho e Vera Helena Rico Pires,

*...o momento que vivo agora é fascinante e só existe porque
vocês se doaram em silêncio e aceitaram viver comigo o meu
sonho. Compartilharam comigo minhas alegrias e tristezas,
incentivando-me a prosseguir. A vocês não bastam palavras
para expressar meu mais sincero agradecimento. Portanto,
ofereço o sorriso que trago agora, fruto da esperança, da
compreensão, da força, da dignidade, do zelo, do amor e da
determinação que vocês fizeram brotar em mim a partir de
cada gesto de carinho e apoio. Ofereço lhes essa vitória, a
quem devo tudo o que sou.*

Aos que Amo

*Aos meus irmãos Leonardo Rico Pires, Felipe Rico
Pires e Isabela Rico Pires, pelo amor incondicional,
pela paciência, pelo apoio e pelo incentivo, que me
impulsionam a cada dia.*

Agradecimentos especiais

À amiga e orientadora Denise Madalena Palomari

Spolidorio, pela confiança, respeito, apoio, incentivo...

Obrigado por acreditar no meu potencial, por me acolher e me

ajudar em todos momentos científicos e pessoais. Obrigado

pela competência e dedicação que proporcionou o

desenvolvimento desse trabalho.

Agradecimentos especiais

À meus avós, tios e primos Ronaldo, Angela, André, Rosi, Junior, Fábio, Carolina, Juliana e Gustavo, pela amizade, carinho e amparo em todos momentos.

Aos meus amigos Aninha, Cristiane, Tomate, Dario, João, Marília, Solange, Vanessa, Andréa Abi Rached Dantas, pelos momentos compartilhados, pelo companheirismo, pela amizade, pelo incentivo e pelo amor.

Aos amigos Damye, Vivi, Teresinha, Marisa, Dokj, Emi, Viviam, Eduardo Ishi, Jorge Noriega, Roberto Barbeiro, Hewerson (Veio), Mariana, Thaís, Cristiane Duque, Luís por todos momentos agradáveis e alegres, pelo incentivo, pela amizade e pelo carinho.

Às alunas Juliana dos Reis Derceli e Tatiane Tardivo pela amizade conquistada e pelo auxílio na realização dos experimentos laboratoriais.

Aos colegas do curso de pós-graduação em Periodontia Elizangela, Fernando, Samy, Ricardo, Patrícia, Cacá, Ana Emília, Ba, Maurício, Zé Marcos, Luís Henrique, Vanessa, Daniela, Juliana Moraes, Andréia, Emílio, Roberto, Karina, Esmeralda, Sabrina, Josiane, Rafaela, Carla, Fernanda e Cliciane.

A todos do Laboratório de Microbiologia e Patologia Karin, Ewerton, Carina, Murilo, Nara, Fabíola, Mariana, Renata, Andréia e Pedro.

Agradecimentos

Aos Mestres

Minha gratidão àqueles que repartiram comigo seus conhecimentos com dedicação e amizade, no cumprimento de seu dever. Meu carinho àqueles que indo mais longe, doaram afeto e me fizeram crescer.

Ao Prof. Dr. Carlos Rossa Junior pela oportunidade de ingressar na atividade científica (desde a graduação), pelo apoio e incentivo.

À coordenadora do Curso de Pós-Graduação – Área de Periodontia Profa. Dra. Rosemary Adriana Chiérizi Marcantonio pela dedicação, dignidade e ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Luís Carlos Spolidorio pela dedicação e pela amizade, a quem tenho muita admiração.

À Profa. Dra. Elaine Maria Sgavioli Massucato pela disposição e confiança. Cuja convivência trouxe além de amizade, carinho e uma grande admiração.

À Profa Dra. Silvana Regina Orrico pela colaboração na clínica de pacientes diabéticos que foi essencial para a realização do trabalho.

Agradecimentos

À todos docentes do Curso de Pós-Graduação Prof. Dr. Elcio Marcantonio Junior, Profa. Dra. Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio, Prof. Dr. José Eduardo César Sampaio, Prof. Dr. Carlos Rossa Junior, Prof. Joni Augusto Cirelli, Profa. Dra. Silvana Regina Orrico, Prof. Dr. Benedito Egbert de Toledo, Prof. Dr. Ricardo Samih Georges Abi Rached pela formação e exemplo.

À Faculdade de Odontologia de Araraquara na pessoa do Ilmo Diretor Prof. Dr. Ricardo Samih Georges Abi Rached e do vice-diretor Prof. Dr. Roberto Miranda Esberard.

Aos funcionários dos Departamentos de Diagnóstico e Cirurgia e Fisiologia e Patologia: Regina Lúcia, Fernanda, Zezé, D. Maria, D. Teresa, Cláudia, Telma, Sueli, Toninho, Tia Juraci, Wandinha, Edineide, Marcos, Zé Antonio, Glorinha, Andréa, Betinha.

Aos funcionários da Faculdade de Odontologia de Araraquara e em especial aos funcionários da biblioteca, da esterilização, da triagem, do xerox e da seção de pós-graduação.

Ao Dr. Reginaldo Rigoto Giovani (Endocrinologista) pelo auxílio e esclarecimentos quanto ao Diabetes.

Aos pacientes pela colaboração durante a realização deste trabalho.

DADOS CURRICULARES

DADOS PESSOAIS

Nome: Juliana Rico Pires

Filiação: Osvaldo Gomes Pires Filho

Vera Helena Rico Pires

Nascimento: 23/01/1977, SÃO PAULO/SP - Brasil

Carteira de identidade: 230554106 / SSP / SP / 16/12/1987

CPF: 26020537838

1997 - 2000 Curso de Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

2002 - 2004 Curso de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Periodontia, nível de Mestrado, do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	11
2. Revisão de Literatura.....	13
3. Proposição.....	37
4. Material e Método.....	38
4.1. Perfil da amostra.....	38
4.2. Procedimentos clínicos.....	40
4.3. Procedimentos microbiológicos.....	44
4.3.1. Coleta da saliva.....	44
4.3.2. Processamento da Saliva.....	45
4.3.3. Identificação da Células Leveduriformes.....	46
a) Morfologia Colonial.....	46
b) Identificação da Espécie <i>Candida</i>	48
A. Meio Cromogênico.....	48
B. Formação de Tubo Germinativo.....	48
C. Produção de Clamidocomídeo/ Hifa ou Pseudohifa....	51
D. Provas Bioquímicas.....	51
D.1- Fermentação de Carboidratos.....	51
D.2- Assimilação de Carboidratos.....	52
E. Prova de Termotolerância.....	53
4.4. Análise Estatística.....	56
5. Resultados.....	57
6. Discussão.....	70
7. Conclusão.....	79
8. Referências	80
9. Apêndice.....	94
10. Resumo.....	104
11. Abstract.....	105

Introdução

Introdução

O diabetes mellitus é um distúrbio metabólico complexo dos carboidratos, lipídeos e proteínas. A doença associa-se a resistência à insulina e/ ou à sua deficiência. As alterações se devem a uma disfunção das ilhotas pancreáticas, que consistem em um aglomerado microscópico de células do pâncreas, sendo constituído em 68% por células β . Essas células são responsáveis pela produção e armazenamento da insulina. Uma elevação dos níveis de glicemia, resulta em liberação de insulina, mas não em sua síntese o que pode resultar em hiperglicemia (CRAWFORD; COTRAN, 2000).

A expressão da deficiência da insulina manifesta-se por uma variedade de distúrbios metabólicos, sendo dois tipos principais de diabetes primário: a) diabetes tipo 1 (diabetes insulino-dependente) e b) diabetes tipo 2 (diabetes não-insulino-dependente). Esses dois tipos se diferem na apresentação clínica, origem genética, patogênese, lesões das ilhotas pancreáticas e resposta à insulina. O diabetes tipo 2 acomete a maioria dos pacientes diabéticos (80 a 90%) e resulta de um defeito na molécula de insulina ou de uma anormalidade nos receptores para insulina da membrana das células, o que leva a uma diminuição da produção de insulina acarretando em hiperglicemia (REPORT OF EXPERT COMMITTEE., 2003).

As complicações clínicas do diabetes são resultantes da hiperglicemia. Dentre as implicações bucais do diabetes pode-se destacar o aumento da severidade da doença periodontal (LÖE, 1993), ocorrência da diminuição do fluxo salivar ou xerostomia, sensação de queimação ou ardência bucal e infecção por *Candida* spp. (NISHIMURA, 1998), sendo que a frequência

e a gravidade das manifestações clínicas são resultantes da gravidade e da duração do diabetes.

Evidências sugerem existir correlação positiva entre diabetes mellitus e destruição periodontal, baseada no fato da perda de inserção periodontal ocorrer mais freqüentemente e em maior extensão em pacientes diabéticos não controlados. Esse fato é hipoteticamente justificado pela alta susceptibilidade a infecções (CHRISTGAU et al., 1998).

Dentre as outras condições associadas ao diabetes, pode-se destacar a xerostomia e a hipossalivação. A xerostomia é considerada uma sensação subjetiva de ressecamento bucal que freqüentemente, mas não necessariamente, está associada com uma diminuição da quantidade de saliva. O efeito da redução de fluxo salivar pode estar envolvido com desconforto durante fala, mastigação, deglutição, e com a diminuição da resistência a infecções.

Alguns fatores como a transmissão oral de leveduras, o tipo e a duração do diabetes, e o grau de controle glicêmico do paciente têm sido associados com indivíduos diabéticos e microrganismos bucais (HILL et al., 1989; DARWAZEH et al., 1990), entretanto, alguns autores (ALLEN, 1992; VITKOV et al., 2002) consideram que, para muitos indivíduos, o próprio sistema imune e a competição com as demais bactérias bucais mantém o equilíbrio entre saúde e doença, e qualquer alteração neste equilíbrio resultaria em candidose.

A obtenção de dados sobre as interações microbianas e sua relação com fatores clínicos e salivares é necessária para ampliar os conhecimentos a respeito do assunto em questão.

Revisão da Literatura

Revisão da Literatura

Esta revisão de literatura foi subdividida em tópicos com intuito de organizar cada item separadamente de forma a facilitar a leitura e ressaltar a importância do tema proposto.

1-Diabetes Mellitus

2- Alteração do fluxo salivar e xerostomia no Diabetes Mellitus

3- *Candida spp.* na cavidade bucal e candidose no Diabetes Mellitus

4-Doença Periodontal e Diabetes Mellitus

1. *Diabetes Mellitus*

O diabetes mellitus é um grupo heterogêneo de desordens que apresenta como característica comum tolerância alterada à glicose ou o comprometimento do metabolismo dos lipídeos e carboidratos. O desenvolvimento do diabetes mellitus surge a partir de uma resposta secretória defeituosa ou produção deficiente de insulina, ou ainda, de uma incapacidade em utilizá-la, apresentando uma conseqüente hiperglicemia (aumento da taxa de açúcar no sangue) (BRONDANI et al., 2002). Cerca de 3% da população mundial padece de diabetes, tornando-se uma das doenças não-contagiosas mais comuns (TAYLOR et al., 1998).

O diabetes mellitus pode ser originado de uma destruição das células β do pâncreas, também conhecidas como ilhotas pancreáticas, ou ilhotas de Langerhans, cuja função é produzir insulina. As ilhotas consistem em um aglomerado microscópico de células do pâncreas, composto por quatro tipos de células diferentes, as células β , α , δ e PP (polipeptídio pancreático) (CRAWFORD; COTRAN, 2000).

As células β representam cerca de 68% da população de células das ilhotas dos adultos e são responsáveis pela produção e armazenamento da insulina, sendo que o estímulo mais importante que deflagra a síntese e liberação da mesma é a glicose. A ocorrência de uma elevação da glicemia resulta em captação de glicose pelas células β e liberação imediata de insulina. Se o estímulo secretório persistir, ocorre uma estimulação da liberação de insulina e não de sua síntese, que resulta em um quadro de hiperglicemia, visto que a insulina tem como principal função metabólica

aumentar a velocidade de transporte da glicose para outras células do organismo (CRAWFORD; COTRAN, 2000).

Baseado na classificação atualmente aceita pelos membros do Report of Expert Committee (2003), o diabetes mellitus pode ser dividido em 2 tipos principais: tipo 1 e tipo 2 e em variantes que diferem nos padrões de herança, resposta à insulina e origens, incluindo: 1) Diabetes Mellitus tipo 1; 2) Diabetes Mellitus tipo 2; 3) Quadro de intolerância à glicose; 4) Quadro de intolerância à glicose em jejum; 5) Diabetes gestacional e 6) outros tipos específicos de diabetes como aquelas resultantes de doenças do pâncreas, de terapia medicamentosa, de endocrinopatias, de infecções e de desordens genéticas. O diabetes mellitus pode ser um distúrbio secundário ou estar associado a outras condições sistêmicas, como o diabetes gestacional associado à gravidez que acomete de 2 a 5% do total dos casos de diabetes.

Outro grupo de diabetes advém de alterações genéticas das funções das células β e é responsável por menos de 5% dos casos. Este grupo é comumente denominado diabetes do jovem, com início na maturidade (DJIM) e manifesta-se sob a forma de hiperglicemia leve, sendo transmitido com caráter autossômico dominante. Os mecanismos através dos quais as mutações genéticas resultam numa forma autossômica dominante de diabetes mellitus permanecem desconhecidos, mas, presumivelmente, envolvem uma anormalidade no metabolismo da insulina (REPORT OF EXPERT COMMITTEE, 1997; CRAWFORD; COTRAN, 2000).

O diabetes tipo 1, também denominado diabetes mellitus insulino-dependente (DMID) é responsável por 10% do diabetes primário, sendo causado pela destruição das células β do pâncreas. A destruição das células pode ser o

resultado de uma reação autoimune ou de uma infecção viral, entretanto, os indivíduos acometidos apresentam predisposição genética para tal (NISHIMURA et al, 1998; TAYLOR et al., 1998).

A maior parte dos pacientes diabéticos (80 a 90%) apresenta o denominado diabetes tipo 2, também conhecido como diabetes mellitus não-insulino-dependente (DMNID). Em contraste com o diabetes tipo 1, o diabetes tipo 2 parece resultar de um conjunto de múltiplos defeitos genéticos ou polimorfismo. Os dois defeitos metabólicos que caracterizam o diabetes tipo 2 são: 1) um distúrbio na secreção de insulina pelas células β e 2) uma redução da resposta dos tecidos periféricos à insulina (resistência à insulina). Tais defeitos podem ser resultantes de um defeito na molécula de insulina ou de uma anormalidade nos receptores para insulina da membrana das células, o que leva a uma diminuição da produção da mesma (NISHIMURA et al., 1998; TAYLOR et al., 1998; YUAN et al., 2001).

Do ponto de vista fisiológico, a resistência à insulina, independentemente do seu mecanismo, resulta na incapacidade da insulina circulante dirigir apropriadamente o metabolismo da glicose (e de outros combustíveis metabólicos) e em hiperglicemia mais prolongada das células β do pâncreas (CRAWFORD; COTRAN, 2000).

Os pacientes diabéticos tipo 2 são freqüentemente obesos (80%) e apresentam intolerância à glicose, entretanto, a intolerância à glicose pode ser tratada com o controle da dieta e do peso corporal, apesar de alguns pacientes apresentarem a necessidade de associar medicamentos contendo agentes químicos que reduzem os níveis de glicemia (REES, 1994).

Os sinais e sintomas clássicos do diabetes mellitus incluem a tríade: poliúria, polidipsia e polifagia, podendo apresentar prurido de pele, retal ou vaginal, perda de peso, cansaço físico e náusea, dentre outros. Entretanto, tais sintomas estão associados em maior frequência com a falta de controle metabólico do diabetes mellitus tipo 1, e em raros casos de diabéticos tipo 2 descompensados, mas podem ser reversíveis se considerarmos um diagnóstico precoce e uma terapia efetiva (REPORT OF EXPERT COMMITTEE, 2003).

O comprometimento da função da insulina afeta não apenas o metabolismo da glicose, mas também o metabolismo dos lipídeos e dos carboidratos. A assimilação da glicose nos tecidos muscular e adiposo se encontra acentuadamente diminuída, ou até mesmo não existente. Em consequência, ocorrem hiperglicemia de jejum e glicosúria (aumento da taxa de açúcar na urina). A glicosúria induz poliúria (aumento das perdas urinárias), causando uma acentuada perda de água e eletrólitos (CRAWFORD; COTRAN, 2000). Segundo os autores, a deficiência de insulina provoca uma excessiva degradação das reservas adiposas, com consequente aumento nos níveis de ácidos graxos livres. A oxidação desses ácidos graxos no fígado dá origem a corpos cetônicos (ácido acetoacético e ácido β -hidroxibutírico), sendo que o glucagon, hormônio plasmático, acelera a oxidação desses ácidos graxos. A velocidade de formação dos corpos cetônicos pode exceder a velocidade de utilização do ácido acetoacético e do ácido hidroxibutírico pelos músculos e por outros tecidos, produzindo assim, cetonemia e cetonúria. Se a excreção urinária de cetonas estiver comprometida pela presença de desidratação, a concentração plasmática de

íons hidrogênio aumenta, e, em consequência, ocorre cetoacidose metabólica sistêmica, o que leva o paciente ao coma.

As complicações sistêmicas do diabetes estão diretamente relacionadas à hiperglicemia e incluem retinopatia, nefropatia, neuropatia, alterações macrovasculares podendo levar à amputação de membros inferiores e alterações microvasculares como prejuízo no processo de cicatrização de feridas (MEALEY, 1999). Algumas características descritas por Teuscher et al. (1989) incluem cegueira, degeneração sensorial e nervosa, e disfunção renal progressiva que pode resultar em nefropatia diabética, acarretando um aumento na incidência de hipertensão nesses pacientes.

Alguns autores relatam dois mecanismos resultantes da hiperglicemia, possivelmente relacionados com as complicações. No primeiro mecanismo, a glicose é metabolizada pela enzima aldose-redutase, reduzida à sorbitol e finalmente à frutose. Os níveis acumulados de sorbitol e frutose promovem um aumento no influxo de água para o interior da célula, levando a uma lesão celular osmótica. Esses danos ocorrem em alguns tecidos que não necessitam de insulina para o transporte da glicose (por exemplo, nervos, cristalino, rins, vasos sanguíneos). O segundo mecanismo é a produção dos AGEs (Advanced Glycation End Products - produtos finais da glicosilação avançada), produtos não-enzimáticos quimicamente irreversíveis, derivados da glicose e, que acumulam-se no plasma e nos tecidos dos diabéticos (BROWNLEE, 1992), sendo recentemente encontrado na gengiva desses pacientes (SCHMIDT et al., 1996). Alguns estudos relatam que o acúmulo dos AGEs pode afetar a migração e a atividade fagocitária dos neutrófilos

polimorfonucleares, resultando no estabelecimento de uma microbiota subgengival patogênica (SCHMIDT et al., 1996).

Segundo Vlassara (1997), os AGEs ligam-se a receptores de membranas celulares em muitos tipos de células: endoteliais, monócitos, macrófagos e linfócitos, induzindo uma variedade de atividades biológicas, incluindo migração de monócitos, liberação de citocinas e de fatores de crescimento de macrófagos, sendo que todos esses efeitos podem contribuir para as diversas complicações diabéticas.

O tratamento médico do diabetes mellitus tem intuito de abaixar os níveis de glicose no sangue e prevenir o aparecimento das complicações associadas ao distúrbio. Segundo Lomasky et al. (1990), o tratamento pode ser constituído de medidas não medicamentosas, como controle de dieta e de peso corporal, através da redução da ingestão de carboidratos, principalmente, açúcar refinado e de alimentos com alto teor de gordura, da reeducação alimentar e da realização de exercícios físicos.

Entretanto, a terapia medicamentosa (REES, 1994) pode ser utilizada como coadjuvante no controle da glicemia, utilizando-se drogas imunossupressoras, antidiabéticos orais e insulina, além da alternativa do transplante de pâncreas ou de células β do pâncreas. Os antidiabéticos orais podem ser classificados como 1) secretores de insulina, de ação prolongada como as sulfoniluréias, que estimulam a secreção de insulina, ligando-se a receptores nas células β do pâncreas, e os de ação rápida, denominados glicinas, com semelhante mecanismo de ação; 2) sensibilizadores de insulina, como a Metformina, que além da ação hipoglicemiante, tem efeito anorético, produzindo perda de peso concomitante. Apresenta como mecanismo de

ação, a diminuição da produção hepática de glicose. Outra classe de fármacos sensibilizadores de insulina são as glitazonas, sendo seu mecanismo de ação a diminuição da resistência à insulina, melhorando a interação entre esta e seus receptores periféricos, principalmente no tecido muscular hepático e adiposo; 3) inibidores da α -glicosidase que tem dois representantes farmacológicos (acarlose e miglitol) com mecanismo de ação semelhantes: o de inibir parcial e temporariamente a enzima α -glicosidase, que degrada os carboidratos, transformando-os em glicose na digestão intestinal (BPR, 1995^α; MELANDER, 1996; ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE ASSISTÊNCIA AO DIABÉTICO, 2001; DEF, 2003/04^β).

Segundo Malmberg (1997), nos casos de diminuição da produção de insulina, a administração parenteral de insulina auxilia no controle metabólico do diabetes, sendo instituída quando os antidiabéticos orais, mesmo quando utilizados em combinação, não produzirem o controle glicêmico adequado. O uso de insulina também está indicado, substituindo os fármacos orais na intercorrência de infecções graves, acidente vascular cerebral e enfarto agudo do miocárdio já que nesses casos o controle glicêmico melhora o prognóstico e diminui a mortalidade cardiovascular em até 30%.

O controle glicêmico previne o aparecimento das complicações provenientes do diabetes (STEWART et al., 2001) e têm mostrado redução significativa das complicações associadas a ele (REPORT OF EXPERT COMMITTEE, 2003).

^α GUIA do paciente – medicamentos. São Paulo: BPR, 1995

^β DICIONÁRIO de Especialidades Farmacêuticas. 32. ed. Rio de Janeiro: JBM, 2003/04.

Os métodos de eleição para o diagnóstico do diabetes são os testes de glicemia em jejum, associados aos de glicemia pós-prandial e aos de hemoglobina glicada (TSUJI et al., 1991).

Segundo The National Diabetes Data Group of National Institutes of Health (1982), os critérios aceitos para diagnóstico do diabetes após ingestão oral de glicose são: a) taxa de glicemia em jejum: ≥ 140 mg/ dL em pelo menos 2 ocasiões diferentes e b) taxa de glicemia após ingestão de 75g de açúcar: ≥ 200 mg/ dL após 2 horas. O monitoramento da efetividade do controle metabólico é feito por meio da medição dos níveis de proteínas glicosiladas no soro, especialmente, a α -hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}), que se incorporada às células vermelhas do sangue, indicando a taxa de glicose no sangue nos últimos 2 ou 3 meses (SOSKOLNE, 1998).

Observações de Smith (1987), Taylor et al. (1998), Report of Expert Committee (2002), verificaram-se que a diminuição da glicemia causada pelo uso de sulfoniluréias, metformina ou insulina, reduz o risco de retinopatia e nefropatia em 25% dos pacientes diabéticos tipo 2 tratados. Pelo uso desses medicamentos aumentarem a incidência de hipoglicemia, os pacientes diabéticos tipo 2, em tratamento intensivo, podem apresentar um risco aumentado de hipoglicemia durante o tratamento dental. O monitoramento do açúcar no sangue desses pacientes é considerado de grande importância para o tratamento odontológico.

Segundo Nishimura et al. (1998), Moore et al. (2001), os pacientes diabéticos controlados e não controlados se apresentam mais susceptíveis a infecções bucais como doença periodontal e infecções associadas à *Candida spp.* Dentre as manifestações orais importantes do diabetes, pode-se

destacar a diminuição do fluxo salivar, xerostomia, sensação de queimação ou ardência bucal e maior severidade da doença periodontal (Mealey, 1999). Entretanto, a prevalência e as características das complicações bucais dependem do tipo de diabetes estudado (LÖE, 1993; CHAVEZ et al., 2000).

2. Alteração do fluxo salivar e xerostomia no Diabetes Mellitus

A secreção salivar e de outros fluidos provenientes de glândulas exócrinas como lágrimas e secreções nasais apresentam componentes imunológicos (como por exemplo, anticorpos séricos) e não imunológicos (proteínas) que atuam na proteção das superfícies mucosas. A saliva contém proteínas e peptídeos que auxiliam na manutenção da integridade dental e da mucosa contra agentes químicos, físicos e agressão microbiana. Com relação às propriedades protetoras da saliva, pode-se destacar a função de lubrificação dos tecidos moles e duros da cavidade bucal, o que permite adequado funcionamento do sistema mastigatório e digestivo com mínimo trauma, além da saliva apresentar baixa solubilidade, alta viscosidade e adesividade, mantendo os tecidos bucais hidratados.

Quando alguma alteração tecidual está presente, como por exemplo, em casos de gengivite, a quantidade de fluidos bucais aumenta em consequência da secreção do fluido crevicular estar aumentada em decorrência da inflamação gengival. Este fluido, liberado pelas células de

defesa do organismo, é rico em anticorpos séricos contra bactérias orais, células fagocitárias e quimiocinas e contribui para o mecanismo de defesa da saliva (MANDEL, 1989).

Segundo MANDEL (1989), uma população mais velha apresenta alta incidência de disfunção de glândula salivar causada por doenças locais e sistêmicas, desordens imunológicas, radiação, quimioterapia e em consequência dos efeitos colaterais de uma variedade de medicamentos.

Reduções de saliva tem impacto negativo nas cáries dentais e outras infecções orais, sendo que a disfunção salivar tem sido associada com dificuldades no uso de próteses dentais, dificuldade de mastigação, deglutição e higiene oral, geralmente resultando em trauma tecidual, deixando os tecidos friáveis e aumentando o risco de infecções bucais bacterianas e fúngicas (MANDEL, 1989; CHAVEZ et al., 2001).

Muitos pesquisadores têm examinado a relação entre diabetes e secreção salivar (MEURMAN et al., 1998; CHAVEZ et al., 2000). Entretanto, há um número limitado de estudos avaliando o efeito do diabetes e do controle glicêmico no fluxo salivar.

Segundo Mandel e Wotman em 1976 e Chavez et al., em 2000, a xerostomia é uma sensação subjetiva de ressecamento bucal que freqüentemente, mas não necessariamente, está associada com uma diminuição da quantidade de saliva. Fatores como o tipo de coleta de saliva (estimulada ou não), procedimentos e cronometragem da coleta, composição e tipo de glândula secretora (de maior ou menor secreção salivar) podem contribuir para o paciente relatar boca seca e correlacionar com hipossalivação. Entretanto, a prevalência de xerostomia varia numa taxa de 10

a 20% conforme o método de avaliação e a população estudada (FOX et al., 1987).

Segundo alguns autores (NAVAZESH et al., 1992; PAI et al., 2001) o diagnóstico clínico inicial de alteração salivar é difícil, e acreditam que uma combinação de métodos objetivos como, mensuração do fluxo e avaliação da presença clínica de xerostomia, e de métodos subjetivos, pela utilização de questionários sobre a sintomatologia de ressecamento bucal podem ser decisivos para o diagnóstico final.

Dawes et al. (1987) e Fox et al. (1987), verificaram que em pessoas sem comprometimento sistêmico que apresentam fluxo salivar normal, 50% se queixaram de xerostomia, relatando a sensação de boca seca.

Apesar da sensação de xerostomia ser comumente encontrada em pacientes mais velhos, isso pode ser explicado pelo fato de existir alteração da função psicossensorial, que afeta a percepção oral ou por mudanças na composição química da saliva, normalmente encontradas nesses pacientes (TORRES et al., 2002).

Segundo Sreebny et al. (1992) e Chavez et al. (2000), a idade do indivíduo apresenta pouco impacto no fluxo salivar, entretanto, a presença de doenças crônicas e o uso de medicamentos, associados à idade do paciente, diminuem o fluxo salivar numa taxa de 40% ou mais, sendo que as queixas de sensação de boca seca aumentam em 3 vezes em pacientes idosos que utilizam medicamentos xerogênicos. Os autores relataram que o fluxo salivar normal é representado por uma taxa de 0,3 a 0,5mL/min, enquanto que a hipossalivação aparece numa taxa de fluxo salivar de 0,1 a 0,01mL/min.

Um número variado de condições e doenças pode estar associado com xerostomia e hipossalivação como, pacientes irradiados e portadores da Síndrome de Sjögren. Pacientes com quadro depressivos ou que apresentam ansiedade, freqüentemente, relatam sensação de boca seca, mesmo após a medição do fluxo salivar não indicar diminuição. Além disso, drogas xerogênicas como os anticolinérgicos, anti-hipertensivos, diuréticos, antidepressivos tricíclicos e ansiolíticos, dentre outros, são normalmente associados com relato de boca seca e com hipossalivação (BERGDAHL; BERGDAHL, 2000; DANIELS, 2000).

Alterações no fluxo salivar e na composição da saliva de pacientes diabéticos tem sido relatados em vários estudos anteriores. Nos estudos de Harrison e Bowen (1987) e Thorstensson et al. (1989), o fluxo salivar dos pacientes diabéticos apresentou taxas reduzidas, enquanto que nos estudos de Tenovuo et al. (1986) e Meurman et al. (1998) não foram encontradas alterações salivares.

Estudos prévios tem indicado uma associação entre hipertensão ou utilização de medicamentos anti-hipertensivos e boca seca (SREEBNY; VALDINI, 1989). Segundo Dodds et al. (2000), os efeitos da redução de fluxo salivar encontrados em pacientes diabéticos e hipertensos podem acarretar desconfortos durante a fala, a mastigação e a deglutição, além da diminuição da resistência a infecções. Embora tais alterações possam ser resultantes do próprio diabetes, ou do estado hipertenso, ou da associação desses fatores com a utilização de medicamentos, os autores salientam que pacientes nessas condições clínicas devem ter criterioso acompanhamento da saúde bucal.

Algumas investigações têm indicado que pacientes diabéticos normalmente relatam sensação de boca seca e sintomas de diminuição do fluxo salivar (SREEBNY et al., 1992), sendo que os pacientes diabéticos com elevadas taxas de glicose no sangue, apresentam taxas reduzidas de fluxo salivar (MOORE et al., 2001).

Algumas evidências sugerem que o mesmo mecanismo de deteriorização patológica de órgãos associado ao diabetes como neuropatias, mudanças microvasculares, desequilíbrio hormonal, ou a combinação desses fatores pode levar à hipofunção das glândulas salivares (CHAVEZ et al., 2000; COLLIN et al., 2000).

Estudos longitudinais prospectivos e representativos envolvendo pacientes diabéticos mais velhos são necessários para esclarecer os efeitos do diabetes e do controle glicêmico nas alterações salivares (CHAVEZ et al., 2000). Se o pobre controle glicêmico do diabetes levar à disfunção salivar, então, terapias preventivas e intervenções comportamentais médicas de forma a alterar psicologicamente o comportamento do paciente e odontológicas são necessárias para reduzir os problemas de fluxo salivar e alterações bucais, com o intuito de melhorar a qualidade de vida desses pacientes.

3. *Candida spp* na cavidade bucal e candidose no Diabetes Mellitus

A ocorrência de *Candida spp.* na cavidade bucal, estabelece-se sob forma comensal e constitui parte da microbiota bucal normal. As razões para o estabelecimento de infecções são fatores predisponentes, tais como: queda de imunidade do hospedeiro, desordens endócrinas, lesões em mucosa, higiene oral deficiente, tratamento prolongado com antibióticos, corticosteróides e outros (JORGE et al., 1997; VITKOV et al., 1999; SAMARANAYAKE et al., 2002).

Vários fatores de virulência de *Candida albicans* tem determinado com sucesso a colonização ou invasão do tecido do hospedeiro. Dentre os fatores de virulência, os mais estudados são os relacionados à parede celular, à adesão e à produção de enzimas proteolíticas. A parede celular do microrganismo é essencial para o sucesso do patógeno, pois promove proteção contra as alterações osmóticas, principalmente por ser a região de contato entre o organismo e o meio ambiente. As ligações da superfície celular e receptores promovem a colonização das células hospedeiras e tecidos, considerando que enzimas proteolíticas são envolvidas na penetração dos tecidos. Este é outro mecanismo pelo qual *Candida albicans* pode causar dano aos tecidos, pela produção enzimática, como por exemplo, através da produção da enzima fosfolipase que possui como característica a capacidade de lisar membranas celulares, degradando fosfolipídeos encontrados nelas (MCCULLOUGH et al., 1996).

A aderência de espécies do gênero *Candida spp.* às superfícies do hospedeiro é requerida para a colonização inicial e contribui para a sua persistência dentro do hospedeiro. Sem aderência, a taxa de crescimento de *Candida spp.* é insuficiente para manter a colonização na cavidade bucal. Portanto, a aderência é um fator importante durante a progressão do estado de colonização para infecção (VAN BURIK; MAGEE, 2001; VITKOV et al., 2002).

Candida albicans co-agrega e co-adere a certas espécies microbianas existentes na cavidade bucal como, estreptococos e patógenos presentes no biofilme dental, além disso, algumas proteínas salivares intensificam essas interações na presença de doença periodontal e cáries (HOLMES et al., 1995). Nos estudos de Moore et al. (1993), foi verificada alta ocorrência de leveduras associada à periodontite em pacientes imunocomprometidos.

Estudos anteriores mostraram alta incidência (77%) de espécies de *Candida spp.* isoladas da cavidade oral de pacientes diabéticos tipo 1 (WILLIS et al., 2000) e tipo 2 (FISHER et al., 1987; FARAH et al., 2000). Da mesma forma, Manfredi et al. (2002) verificaram a presença de *Candida* na cavidade bucal de 60% dos pacientes diabéticos tipo 1 e 2 estudados.

Candida spp. são encontrados também em indivíduos sadios comportando-se como oportunistas. A presença de *Candida* e a não existência de patologia associada à ela, têm sido vastamente pesquisado. Allen (1992) considera que, para muitos indivíduos, o próprio sistema imune e a competição com as demais bactérias orais mantêm o fungo sob controle, e qualquer alteração neste equilíbrio resultaria em candidose.

Clinicamente, a candidose bucal pode ser considerada uma freqüente e significativa causa de desconforto bucal (ardência e/ ou queimação), acarretando aos pacientes dificuldades de mastigação e deglutição (SAMARANAYAKE et al., 2002).

A classificação das infecções por *Cândida* é ato difícil, em decorrência da variedade de manifestações clínicas. Segundo a classificação de Samaranayake e Mac Farlane (1990), Axell et al. (1997) e revisada por Samaranayake et al. (2002), a candidose oral é dividida em duas categorias, sendo que na primeira, as infecções por *Candida* estão localizadas na região de boca e tecidos adjacentes; e a segunda, como sendo manifestação bucal de infecção sistêmica por *Candida*, encontrando-se lesões na cavidade bucal, na pele e em outras partes do corpo. Entretanto, a terminologia simplificada, usualmente utilizada para as manifestações clínicas e baseada na classificação de Axell et al. (1997) e consiste em: candidose crônica, incluindo lesão hiperplásica e eritematosa e candidose aguda, com as formas pseudomembranosa e eritematosa.

Segundo Samaranayake et al. (2002), pacientes diabéticos apresentam extensas áreas erosivas e se queixam de ardência e queimação bucais.

Olsen e Stenderup (1990) relacionam a presença de candidose crônica ou aguda em pacientes que possuem mais de 400 UFC/mL de *Candida spp.* Entretanto, alguns estudos (WILLIS et al. 2000; WILLIAMS; LEWIS 2000; MANFREDI et al., 2002) relatam que a quantificação de leveduras na saliva dos pacientes não se correlaciona com a evidência clínica de candidose bucal. Os autores acreditam que os fatores locais influenciam

nessa incidência, mas ressaltam que as causas para tal fato continuam desconhecidas.

Sandven (1990), afirma que as espécies de *Candida* são distinguidas entre as demais classes dos Deuteromycetos pela habilidade de formar pseudohifas, exceto a *Candida glabrata*, sendo que entre os gêneros, as espécies são caracterizadas pela morfologia das colônias, assimilação e fermentação dos carboidratos (SHEPPERD et al., 1985).

As colônias de *Candida* crescem em Agar Sabouraud e a espécie *albicans* é a que apresenta crescimento mais rápido, desenvolvendo colônias maduras em aproximadamente três dias. No exame macroscópico, as colônias aparecem sob forma pastosa e enrugada, o que as distingue das demais leveduras.

A importância médica das infecções por *Candida albicans* e o valor científico das leveduras como um modelo para desenvolvimento celular têm estimulado estudos com ênfase na epidemiologia, patogênese, genética e bioquímica das doenças que envolvem esses microrganismos.

Dentro do gênero *Candida spp.*, algumas espécies são de maior importância médica, sendo a *Candida albicans* a mais frequentemente isolada, acreditando-se também ser a mais virulenta para o ser humano (MCCULLOUGH et al., 1996; HANNULLA et al., 1999; MCCULLOUGH et al., 2002).

As outras espécies de *Candida spp.* encontradas nas infecções humanas são *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida dubliniensis*, *Candida guilliermondii*, entretanto, essas espécies estão presentes em pequeno número na microbiota bucal de indivíduos não imunocomprometidos,

e a presença destas não é necessariamente indicativa da doença (SAMARANAYAKE; MAC FARLANE, 1990). Dentre essas, a *Candida dubliniensis* prevalece em paciente diabéticos tipo 1 e 2 dentados (MANFREDI et al., 2002).

Tem sido relatado que muitos indivíduos são portadores de *Candida* em diferentes sítios do corpo humano (ODDS, 1987). Todavia, tem sido demonstrado que muitos destes podem abrigar mais que uma espécie de *Candida* ao mesmo tempo, e que em muitos pacientes hospitalizados e imunocomprometidos a ocorrência é mais comum.

A associação de duas espécies microbianas pode ocorrer através da aderência de *Candida albicans* a outros microrganismos ou por adicionar uma dieta rica em carboidratos ao substrato. Essa interação determina um importante aspecto na patogenicidade da *Candida albicans*.

A habilidade de *Candida albicans* em se alterar fenotipicamente e se adaptar às condições locais, assumindo a forma de hifas nos tecidos e em estruturas que resistam à fagocitose, provavelmente é a maior causa da patogenicidade desses microrganismos. Entretanto, recentemente, outras espécies têm sido associadas com maior frequência a infecções no ser humano, incluindo *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae* e *C. Krusei*, enquanto outras espécies, como *C. guilliermondii*, *C. haemulonii*, *C. Kefyr*, *C. famata*, *C. rugosa*, *C. inconspicua*, *C. holmii*, *C. viswanathii* e *C. zeylanoides* tem sido, ocasionalmente, isoladas no homem (COLEMAN et al., 1998; SAMARANAYAKE et al., 2002).

Considerando que a espécie *Candida albicans* é usualmente encontrada na maioria das formas clínicas de candidose e em algumas

condições menos comuns, devemos ressaltar a prevalência desse microrganismo no trato digestivo e em regiões mucocutâneas do ser humano, sem, no entanto, estabelecer um elo patogênico.

Segundo Arendorf e Walker (1980), Dahlén et al. (1982) não é possível equacionar números específicos de *Candida* em indivíduos com saúde ou com doença. A *Candida spp.* pode se proliferar e produzir candidose clínica quando houver comprometimento imunológico, causado por inúmeros fatores como leucemia, uso de corticosteróide, diabetes mellitus ou infecção por HIV.

Um estudo de *Candida albicans* intra-bucal em adultos registrou um aumento de portadores de leveduras com a idade em paralelo com a prevalência crescente de fumantes (ARENDORF, 1979; ARENDORF et al., 1986), demonstrando que o hábito de fumar está associado ao aumento do número de indivíduos com *Candida albicans*.

A intenção de correlacionar a incidência desses microrganismos a fatores exógenos, como doenças sistêmicas, higiene bucal, idade, sexo, fluxo salivar e doença periodontal com o desenvolvimento de processos patológicos bucais demonstram a importância destes na patogênese de algumas doenças de forma a elucidar questões presentes nas investigações científicas.

O estudo da prevalência de *Candida spp.* na cavidade bucal humana de indivíduos diabéticos é importante do ponto de vista epidemiológico e a redução da incidência desses microrganismos oportunistas pode contribuir para controlar a formação de reservatórios intrabucais de infecção.

4- Doença Periodontal e Diabetes Mellitus

A periodontite é uma doença que afeta os tecidos de suporte dos dentes, sendo caracterizada por perda dos tecidos de inserção periodontal, como o ligamento periodontal, o cemento e o osso alveolar. A etiologia da doença periodontal é multifatorial, sendo que o biofilme microbiano desempenha uma função essencial na etiopatogênese desta infecção (LAMONT; JENKINSON, 1998). Dentre as inúmeras espécies bacterianas isoladas no biofilme associados à periodontite, o grupo de bastonetes Gram-negativos anaeróbios, produtores de pigmento negro mostram-se fortemente relacionadas com infecções periodontais destrutivas (SLOTS, 1979; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 1992).

Experimentos clássicos têm demonstrado que o acúmulo do biofilme dental induz uma resposta inflamatória nos tecidos gengivais de forma reprodutível (LÖE et al., 1965) e que a remoção deste biofilme resulta no desaparecimento dos sinais clínicos da inflamação (THEILADE et al., 1966; NEWBRUM, 1996).

Os mecanismos de defesa do hospedeiro também desempenham um papel essencial na patogênese da doença periodontal. Estudos mostram que as substâncias oriundas dos microrganismos presentes no biofilme dental são patogênicas pelo fato de ativarem alguns mecanismos de defesa do hospedeiro, aumentando o dano tecidual. Algumas dessas substâncias podem causar injúria direta às células e aos tecidos do hospedeiro, outros componentes microbianos, indiretamente, podem ativar o processo

inflamatório ou o sistema imune celular e humoral o que, secundariamente danificaria o periodonto (PAGE; KORNMAN, 1997).

A resposta do hospedeiro contribui para o processo da doença periodontal modulando os efeitos produzidos pelas bactérias (GENCO, 1992), sendo que a resposta imune pode ser, tanto protetora como destrutiva. Vários componentes do sistema imunológico são ativados durante a evolução da doença como, neutrófilos, linfócitos, plasmócitos, macrófagos, anticorpos locais e sistêmicos e o sistema complemento. Este processo patogênico apresenta diferenças na extensão e severidade frente à resposta imunológica de cada hospedeiro (KINANE et al., 1999).

Independente da susceptibilidade do indivíduo, o biofilme dental desempenha papel fundamental no processo patogênico d doença periodontal, de modo que um método eficaz universalmente aceito para interromper a destruição periodontal e manter a cavidade bucal em condições de saúde é o emprego de uma estratégia antimicrobiana, na qual a raspagem e o alisamento radicular, assim como a manutenção de uma boa higiene bucal, são eficazes (PAGE; KORNMAN, 1997).

Evidências sugerem haver uma correlação positiva entre diabetes mellitus e destruição periodontal, baseadas no fato da perda de inserção periodontal ocorrer mais freqüentemente e em maior extensão em pacientes diabéticos não controlados ou descompensados (SAFKAN-SEPPALA; AINAMO, 1992; TERVONEN; OLIVER, 1993; TERVONEN et al., 1994). Alguns fatores podem contribuir para o desenvolvimento da doença periodontal nesses pacientes diabéticos, como defeito na função dos leucócitos polimorfonucleares (PMN), alteração do metabolismo do colágeno,

mudança vascular patológica, comprometimento do potencial de cicatrização de feridas e desequilíbrio microbiológico (ZAMBON, 1988; AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY, 1996; WESTFELT et al., 1996).

Segundo Darveau et al. (1997), a periodontite é uma resposta inflamatória destrutiva dos tecidos periodontais frente a uma microbiota subgengival específica, composta por distintas espécies microbianas, sendo que a combinação dessas bactérias favorece o crescimento do biofilme subgengival e o conseqüente desenvolvimento da doença periodontal. Acredita-se que mudanças da microbiota subgengival de um periodonto saudável para uma microbiota associada à periodontite são capazes de alterar a composição dos subprodutos bacterianos liberados e originar alteração na resposta do hospedeiro. No entanto, a presença de patógenos de maior virulência, tais como, *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans* proporcionam diferenças significativas no desenvolvimento da doença periodontal, com evolução mais rápida do processo infeccioso (MANDELL et al., 1992; HAFFAJEE; SOCRANSKY, 1994).

Pelo fato do diabetes mellitus representar um risco para a doença periodontal nesses indivíduos, alguns aspectos estão negativamente associados à saúde periodontal, como o ineficiente controle metabólico do diabetes, a duração do diabetes, evidências de complicações sistêmicas devido ao avanço do diabetes, idade do paciente e o tempo de início da doença periodontal (CERDA et al., 1994; THORSTENSSON et al., 1996; CHRISTGAU et al., 1998).

Alguns pesquisadores verificaram que a duração do diabetes se apresentava maior nos grupos com doença periodontal severa. Demonstraram ainda que pacientes diabéticos tipo 1 apresentavam maior risco de desenvolver doença periodontal com o aumento da idade, e que a severidade da doença periodontal aumentava proporcionalmente ao tempo de duração do diabetes (CIANCIOLA et al., 1982; RYLANDER et al., 1987; SHLOSSMAN et al., 1990; TERVONEN; OLIVER, 1993). Esses estudos epidemiológicos demonstraram ainda que a perda de inserção ocorria mais freqüentemente e em maior extensão em pacientes diabéticos não controlados.

Alguns estudos tem encontrado correlação positiva entre pobre controle glicêmico e aumento da ocorrência de periodontite em diabéticos tipo 2 (SAFLAM-SEPPALA; AINAMO, 1992; TERVONEN; OLIVER, 1993). Segundo Vki-Jarvinen (1989), as infecções são com freqüência acompanhadas de resistência tecidual à insulina. Sammalkorpi (1989) demonstrou que durante a fase aguda das infecções bacterianas, a resistência à insulina apresenta um aumento de 33%, e no período de coalescência, um aumento de 28%.

No estudo realizado por Nelson et al. (1990) em uma comunidade de índios Pima situada à sudoeste dos Estados Unidos da América, cuja característica era a alta incidência de diabetes tipo 2 e periodontite severa, verificou-se que a incidência de periodontite severa estava associada com o risco aumentado de apresentar pobre controle glicêmico.

Grossi et al. em 1996, sugeriram que as infecções crônicas causadas por gram-negativos e por endotoxemia crônica, como também a

doença periodontal, podem induzir resistência à insulina e um controle metabólico deficiente do diabetes. Essas observações sugerem que com o controle da infecção periodontal, há conseqüentemente o controle metabólico do diabetes.

Em 2001, Stewart et al., concluíram que a manutenção periodontal por meio de tratamento periódico, estava associada a uma melhora de 17,1% no controle glicêmico dos pacientes diabéticos tipo 2.

Proposição

Proposição

O propósito do presente estudo foi avaliar as condições clínicas e microbiológicas da cavidade bucal de pacientes diabéticos tipo 2, antes e o após tratamento periodontal verificando-se:

1. Alteração do fluxo salivar, presença clínica de xerostomia e presença de fatores possivelmente associados com essas disfunções salivares;
2. Prevalência e espécies de *Candida spp.*, além da presença clínica de candidose bucal;
3. Eficácia do tratamento periodontal sobre as condições bucais e sobre a taxa glicêmica.

Material e Método

Material e Método

Este estudo foi conduzido de acordo com as determinações da resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde, publicada em 10 de outubro de 1996, tendo sido inicialmente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP – nº 163/02, conforme cópia no **ANEXO 1**.

3.1. Perfil da amostra

A amostragem envolveu o recrutamento de pacientes da Clínica de Periodontia do curso de pós-graduação em Odontologia do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP. O recrutamento teve como objetivo selecionar 30 voluntários portadores de Diabetes Mellitus do tipo 2 e 30 voluntários não-diabéticos, que apresentassem doença periodontal crônica segundo os critérios estabelecidos pela Academia Americana de Periodontia (ARMITAGE, 1999).

Cada voluntário recebeu o termo de consentimento livre e esclarecido (**ANEXO 2**), elaborado de acordo com as normas do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, e somente após assinatura do mesmo, este foi considerado participante do estudo. Entretanto no decorrer do estudo alguns voluntários desistiram de participar por diversos motivos e o estudo foi conduzido com uma amostra de 20 pacientes diabéticos e 17 pacientes não diabéticos.

Os voluntários foram divididos em 2 grupos:

Grupo I: Pacientes portadores de Diabetes Mellitus do tipo 2;

Grupo II: Pacientes não diabéticos.

Para participar do estudo, os pacientes deveriam preencher os seguintes critérios de inclusão:

Grupo I:

➤ Portador de Diabetes Mellitus do tipo 2 metabolicamente controlado. Baseado nos critérios de controle glicêmico utilizado pelos endocrinologistas, segundo a Associação Americana de Diabetes^φ (2002), considerou-se:

Nível glicêmico (mg/dL)	Quadro clínico
Menor que 150mg/dL (HbA _{1c} - < 6,8%)	Diabetes controlado
De 150 a 240 mg/dL (HbA _{1c} - 7,0 a 10%)	Diabetes pobremente controlado
Maior que 249mg/dL (HbA _{1c} - > 10%)	Descompensado

➤ Autorização médica e os resultados dos exames laboratoriais (hemoglobina glicosilada, glicemia em jejum e pós-prandial) necessários para avaliar o controle metabólico do paciente;

➤ Portador de Doença Periodontal Crônica segundo os critérios estabelecidos pela Academia Americana de Periodontia (ARMITAGE, 1999);

➤ Faixa etária entre 25 e 70 anos.

^φ ADA. Complete Guide to Diabetes, 3rd edition. American Diabetes Association, 2002

GRUPO II:

- Boa saúde geral;
- Doença Periodontal Crônica, segundo os critérios estabelecidos pela Academia Americana de Periodontia (1996 ARMITAGE, 1999);
- Não utilização de drogas que ocasionassem comprometimento sistêmico, como antibióticos e/ou antiinflamatórios não-esteróides nos últimos três meses;
- Faixa etária entre 25 e 70 anos.

Participaram do estudo, 37 pacientes, sendo 20 diabéticos do tipo 2 e 17 pacientes não diabéticos, de ambos os gêneros, sem distinção de raça ou cor, com faixa etária variando entre 25 e 70 anos, independente dos hábitos de higiene bucal ou alimentação e de classes sociais distintas. Para apuração destes dados foram utilizadas fichas de anamnese e questionário de saúde, criteriosamente preenchidos previamente ao exame clínico (ANEXO 3).

3.2. Procedimentos Clínicos

Os exames clínicos realizados foram: exame periodontal; exame clínico da mucosa bucal para determinar a presença clínica de candidose bucal e determinação da presença e do grau de xerostomia clínico. Os exames foram executados por único examinador treinado e calibrado.

➤ Exame Periodontal

Para o exame periodontal foi utilizada sonda periodontal milimetrada tipo Williams, sonda exploradora nº 5, espelho plano e pinça clínica, e prévia secagem com jato de ar, objetivando-se obter sangramento à sondagem (VAN DER WEIJDEN, 1994) e profundidade de sondagem padronizados para preenchimento da ficha periodontal **(ANEXO 4)**.

➤ Exame Clínico da Mucosa Bucal

a) Determinação da presença de Candidose bucal

Baseado na nova classificação das candidoses, proposta por Axell et al. (1997) e modificado pelos pesquisadores envolvidos no estudo, a avaliação teve como objetivo analisar presença ou ausência clínica de candidose bucal, sendo utilizado espelho plano e espátula de madeira.

b) Determinação da presença e do grau de xerostomia

Para avaliação da presença de xerostomia fez-se exame clínico e foi elaborado um escore do grau de severidade desta aparência clínica de hipossalivação (xerostomia), baseado no protocolo proposto por Thomson et al. (2000) e modificado pelos pesquisadores envolvidos no estudo. Para tal avaliação, foi utilizado espelho plano e espátula de madeira e o escore proposto pelos pesquisadores está descrito a seguir:

Sem xerostomia (Figura 01 – pág. 43)

- Presença de saliva fluida em toda extensão da mucosa bucal;
- A mucosa bucal apresenta-se umidificada e hidratada;
- Não se evidencia aderência da espátula de madeira à mucosa.

Xerostomia Leve (Figura 02 pag. 43)

- Presença de saliva menos fluida, mas em toda extensão da mucosa;
- A espátula de madeira desliza sobre a mucosa bucal e fica embebida de saliva.

Xerostomia Moderada (Figura 03 – pág. 43)

- Observam-se regiões com estagnação de saliva em forma de “grumos”, semelhante a “bolhas de sabão”;
- A mucosa bucal fica com aspecto ressecado (desidratado);
- A espátula de madeira fica levemente aderida à mucosa bucal, ficando levemente umedecida pela saliva.

Xerostomia Severa (Figura 04 – pág. 43)

- Não se observa presença de saliva da mucosa bucal;
- Toda mucosa bucal apresenta-se ressecada e brilhante;
- A espátula se adere à mucosa bucal e permanece seca.



Figura 01: Sem Xerostomia



Figura 02: Xerostomia Leve



Figura 03: Xerostomia Moderada



Figura 04: Xerostomia Severa

Os exames clínicos antecederam a coleta da saliva e este procedimento foi realizado em três períodos experimentais, sendo o primeiro período experimental realizado antes do tratamento periodontal (baseline) que consistiu em raspagem e alisamento radicular, instrução de higiene bucal e motivação do paciente. O segundo período experimental foi realizado 30 dias após o tratamento periodontal (30 dias ATP) e o terceiro período experimental foi realizado 90 dias após o tratamento periodontal (90 dias ATP).

3.3. Procedimentos Microbiológicos

3.3.1. Coleta da saliva

A coleta da saliva foi feita sem estimulação, sendo que os pacientes foram instruídos a reterem a saliva e depois dispensarem no funil e frascos previamente identificados e esterilizados, enquanto o examinador registrava, com cronômetro, o tempo de 2 minutos ou até obter no mínimo 3mL do conteúdo salivar (KLOCK; KRASSE, 1987) (**Figura 5 – pág. 47**).

Para determinação do fluxo salivar foi utilizado a metodologia descrita por Krasse (1988), calculando-se a razão entre o volume total de saliva produzido e o intervalo de tempo de secreção em minutos (mL/min) e a avaliação dos dados foi realizada baseando-se no estudo de Torres et al. (2002), conforme Tabela 1 descrita abaixo.

Tabela 1: Interpretação do fluxo salivar

QUANTIDADE DE SALIVA (mL/min.)	INTERPRETAÇÃO
Maior ou igual a 1,0 mL/min	Fluxo normal
Abaixo de 1,0 mL/min	Hipossalivação

Fonte: Torres et al. (2002).

3.3.2. Processamento da saliva

a. Homogeneização e Diluição

Os tubos contendo a saliva foram submetidos a 1 minuto de vibração em agitador de tubos (MARCONI), visando a obtenção de uma suspensão uniforme. Após este procedimento, a saliva foi diluída em séries decimais de 10^{-1} a 10^{-4} em Tampão Fosfato 0,05M pH 7,3 (SORENSEN, 1968).

b. Semeadura do Material

Para o cultivo de *Candida spp.* alíquotas de 100µL de saliva de cada diluição foram inoculadas em placas de Petri contendo meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose, acrescidos de 0,1mg/mL de cloranfenicol (Quemacetina Succinato/ Carlos Erba) e incubadas a 37°C por 48 horas (SANDVEN, 1990).

3.3.3. Identificação das Células Leveduriformes

a. Morfologia Colonial

Após o crescimento das colônias com características leveduriformes, foi feita a contagem em UFC/ mL do inóculo. A morfologia colonial característica desses microrganismos foi confirmada com o auxílio de lupa esteroscópica e, para as colônias distintas, foram feitos esfregaços, corados pelo método de Gram a fim de observar presença de leveduras (SAMARANAYAKE et al., 2002).

As colônias, cujas características microscópicas apresentaram morfologia ovalada e coloração de Gram positivas, foram classificadas como colônias sugestivas de *Candida spp.* Para identificação mais precisa, as colônias de cada amostra, com características morfológicas macroscópicas distintas, foram reinoculadas em Agar Malte a 2%. Após incubação (37°C por 48-96hs) e crescimento, as culturas foram analisadas micro e macroscopicamente (características morfológicas e das culturas) a fim de se confirmar a presença de células leveduriformes características (**Figura 6 – pag. 47**). Posteriormente, as colônias em Agar Malte a 2% acrescidas de Nujol estéril foram estocadas em geladeira a 4°C e mantidas até identificação bioquímica das espécies.



Figura 5: Coleta da saliva



Figura 6: Crescimento de *Candida spp.* em SA (meio de cultura Sabouraud Dextrose Agar)

b. Identificação das Espécies de *Candida*

Para o processo de identificação das espécies de leveduras amostradas, foi realizado o teste em meio cromogênico (BEIGHTON et al., 1995; PFALLER et al., 1996) e os demais testes de identificação, conforme descrito por Sandven (1990) e por Sullivan e Coleman (1998).

- A- Utilização do Meio Cromogênico
- B- Formação do Tubo Germinativo
- C- Produção de Clamidósporo
- D- Provas Bioquímicas
 - D. 1 – Fermentação de Carboidratos
 - D. 2 – Assimilação de Carboidratos
- E. Prova de Termotolerância

A- Meio Cromogênico – CHROMagar *Candida*

As cepas do gênero *Candida*, previamente isoladas, foram repicadas em meio de cultura cromogênico CHROMagar® *Candida* (Probac do Brasil), e incubadas aerobicamente a 37°C por 24 horas para identificação presuntiva das espécies (ODDS; BERNAERTS, 1994; BEIGHTON et al., 1995; PFALLER et al., 1996) (**Figura7 – pag.50**).

B- Formação do Tubo Germinativo

Para visualizar a formação do tubo germinativo microscopicamente, efetuou-se: a) a preparação de cultura de 24 horas da amostra a ser testada; b) a inoculação de uma alçada da cultura em 0,5 mL de soro estéril de coelho; c) a inoculação da suspensão, mantida em banho-

maria a 37°C por 3 horas. Após este período de incubação, 100µL da suspensão foi colocada sobre lâmina e coberta por lamínula e examinada ao microscópio óptico. Para a verificação do tubo germinativo observou-se em microscópio óptico um crescimento prolongado das células leveduriformes sem constrição da base da célula, caracterizando, portanto, a espécie *Candida albicans*. Para identificação presuntiva de *Candida dubliniensis*, todas as amostras identificadas como *Candida albicans* foram submetidas à prova de termotolerância a 45°C (PINJON et al., 1998) (**Figura 8 – pág. 50**).



Figura 7: Teste CHROMagar® *Candida*

LEGENDA:

Espécie	Coloração da colônia
<i>Candida albicans</i>	Verde
<i>Candida parapsilosis</i>	Branco, rosa ou creme
<i>Candida tropicalis</i>	Azul
<i>Candida Krusei</i>	Rosa opaco
<i>Candida guilliermondii</i>	Púrpura, rosa claro
<i>Candida dubliniensis</i>	Verde escuro



Figura 8: Formação de Tubo Germinativo

C. Produção de Clamidocomídeo/ Hifas ou Pseudohifas

Para a realização deste teste, foi utilizado meio Agar Corn Meal (Difco) (pH 5,6).

Após a dissolução do Agar em 100 mL de água destilada, adicionou-se 1mL de Tween 80. O meio foi autoclavado, resfriado e mantido em geladeira (4°C). Concluída a preparação do meio, iniciou-se a prova, distribuindo o meio sobre uma lâmina de vidro no interior de uma placa de Petri. Sobre o meio foi semeada uma única estria da amostra a ser identificada. Para promover a umidade relativa e evitar que o meio ressecasse, manteve-se o material em câmara úmida (Placa de Petri), por 72 horas em temperatura ambiente. Após esse período, retirou-se a lâmina do conjunto e observaram-se, ao microscópio óptico, as estruturas características de clamidocomídeo, hifas e pseudohifas comuns à espécie *Candida albicans* (SULLIVAN e COLEMAN, 1998).

D. Provas Bioquímicas

D.1 - Fermentação de Carboidratos

Para execução das provas bioquímicas, utilizou-se meio de cultura Caldo Vermelho de Fenol (Difco). Após o preparo do meio, este foi vertido em tubos de ensaio, adicionados de tubos tipo “Durhan” no seu interior. Os carboidratos (glicose, maltose, sacarose e lactose) foram preparados numa concentração à 1%, vertidos nos tubos e, posteriormente, autoclavados. Após resfriamento, uma alçada da cultura pura de células leveduriformes após 24

horas foi inoculada no caldo com os respectivos açúcares. A interpretação da prova foi realizada após 72 horas, observando-se a produção de ácido e gás por meio da viragem de pH e produção de gás dentro dos tubos de “Durhan”, respectivamente **(Figuras 9 e 10 – pág. 54)**.

D.2 – Assimilação de Carboidratos

Para a prova de assimilação de carboidratos foi preparado um meio de composição definida **(ANEXO 5)**. Esse meio foi dissolvido em banho-maria, sendo a seguir autoclavado a 120°C por 20 minutos. Para identificação da amostra, foi realizada cultura de 24 horas em meio de Agar Sabouraud Dextrose. Em seguida, foi preparada uma suspensão da referida cultura em solução fisiológica estéril até atingir concentração equivalente ao tubo nº 10 da escala de “McFarland”. Posteriormente, foi adicionado 0,1mL da suspensão sobre uma placa de Petri esterilizada contendo o meio previamente liquefeito e resfriado. Discos de filtro de papel esterilizados foram embebidos nas soluções de açúcares a 10%. Após solidificação do meio para assimilação, os discos de filtros foram sobrepostos sobre o mesmo e distribuídos regularmente. Após este procedimento foi realizada a incubação a 37°C por 72 horas e leitura dos resultados foi realizada após este período de tempo, observando-se a formação de halo de assimilação de açúcar para prova positiva e ausência do mesmo na prova negativa **(Figura 11 – pág. 55)**.

E. Prova de Termotolerância

Para a identificação presuntiva de *Candida dubliniensis*, todas as amostras identificadas como *Candida albicans* e aquelas que apresentaram-se negativas para assimilação de carboidratos, foram incubadas a 42°C e 45°C por 48 horas. Foram consideradas como indicativas de *Candida dubliniensis*, as amostras que não cresceram nestas temperaturas (PINJON et al., 1998).

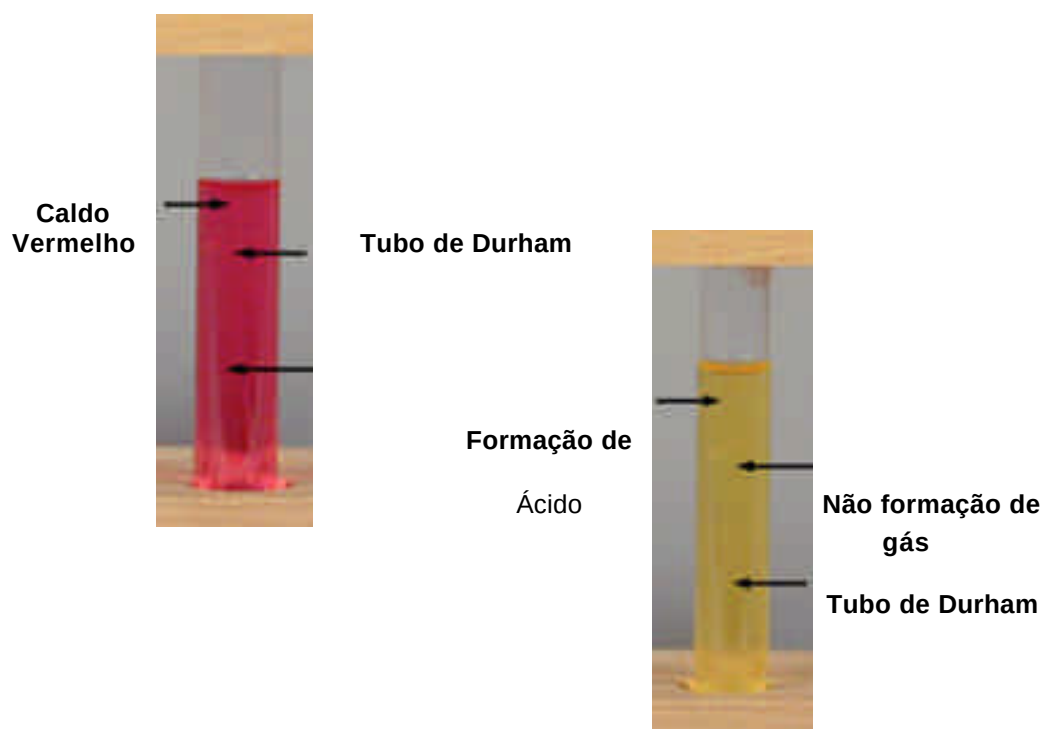


Figura 9: Formação de ácido – Teste de Fermentação de Carboidratos

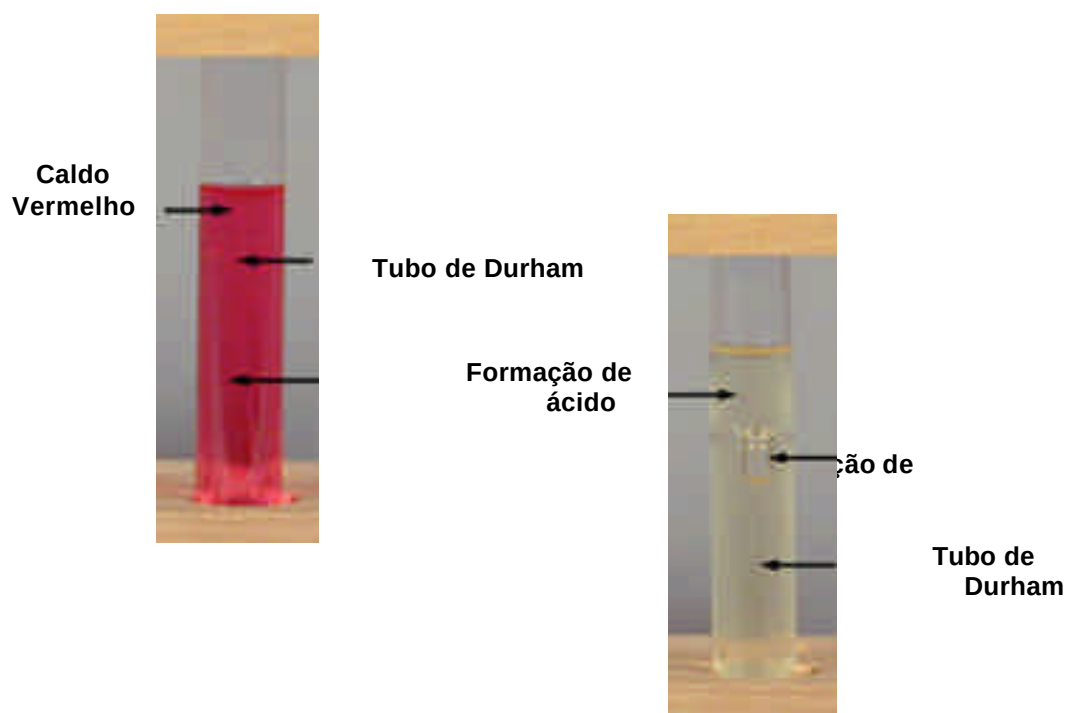


Figura 10: Formação de gás – Teste de Fermentação de Carboidratos.



Figura 11: Teste de Assimilação de Carboidratos

Análise Estatística

Para avaliar estatisticamente as variáveis quantitativas, cujos resultados originaram de uma medição, foram empregados os testes não paramétricos de Mann-Whitney, quando havia dois fatores independentes a serem comparados (Grupo diabético e Grupo não-diabético) e o teste de Friedman quando havia mais de dois fatores relacionados em comparação (períodos de avaliação: baseline, 30 dias e 90 dias). Esses procedimentos não-paramétricos, também chamados de livre distribuição, mostraram-se mais adequados, pois não dependem da forma da distribuição das variáveis analisadas.

O teste de Fisher foi empregado como aproximação de um teste mais adequado para avaliar a mudança na proporção de indivíduos com determinada característica nos dois grupos de um período para outro.

O teste Binomial (SIEGEL, 1975; VIEIRA, 2003) foi utilizado para avaliar se o tratamento periodontal não produziu nenhuma mudança verdadeira nos pacientes, de um período para outro, quanto a uma determinada característica (no grupo não-diabético ou no grupo diabético separadamente), sendo considerada como hipótese nula. Em todos os testes, utilizou-se o nível de 5% de significância como regra de decisão para rejeitar a hipótese nula.

Resultados

Resultados

Verificou-se que 55% dos pacientes diabéticos eram do gênero feminino e 45% do gênero masculino, e o grupo de pacientes não diabéticos era composto de 58,8% do gênero masculino e 41,2% do gênero feminino.

A média da idade dos pacientes diabéticos era de 55 anos para ambos os gêneros e no grupo não diabético foi de 37 anos para o gênero feminino e de 43 anos para o gênero masculino (Tabela 2).

Tabela 2- Distribuição dos pacientes diabéticos e não diabéticos de acordo com o gênero e idade.

Grupo	Gênero	Pacientes		Idade mínima	Idade máxima	Idade média
		n	(%)			
Diabéticos	F	11	(55,0)	38	73	55
	M	9	(45,0)	47	64	55
Não diabéticos	F	7	(41,2)	33	42	37
	M	10	(58,8)	36	56	43

Avaliação do fluxo salivar

Quando comparou-se o fluxo salivar entre os grupos de pacientes diabéticos e não diabéticos verificou-se que as médias foram semelhantes ($p>0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3- Médias do fluxo salivar (mL/min) dos pacientes diabéticos e não diabéticos nos vários períodos avaliados.

Grupo	Estatística	Período		
		Baseline	30 dias	90 dias
Diabéticos	Média $\pm$ DP	0,77 $\pm$ 0,61 ^a	0,74 $\pm$ 0,87 ^a	0,75 $\pm$ 0,44 ^a
Não diabéticos	Média $\pm$ DP	0,70 $\pm$ 0,51 ^b	0,79 $\pm$ 0,43 ^b	0,81 $\pm$ 0,51 ^b

DP - desvio padrão

^aMédias seguidas de letras iguais, nas linhas, não diferem entre si pelo teste Binomial ao nível de 5%.

Mediante os dados apresentados na Tabela 4, verificou-se que o número de pacientes com hipossalivação era maior tanto no grupo de pacientes diabéticos como no grupo de pacientes não diabéticos em todos os períodos analisados, sendo que essa condição clínica permaneceu após o tratamento periodontal.

Tabela 4- Número de pacientes diabéticos e não diabéticos com salivação normal ou hipossalivação de acordo com o fluxo salivar nos vários períodos de avaliação.

Grupo	Fluxo salivar	Período		
		Baseline n (%)	30 dias n (%)	90 dias n (%)
Diabéticos	Normal**	3 (15,0)	4 (20,0)	2 (10,0)
	Hipossalivação	17 (85,0) ^a	16 (80,0) ^a	18 (90,0) ^a
Não diabéticos	Normal**	4 (23,5)	3 (17,6)	3 (17,6)
	Hipossalivação	13 (76,5) ^b	14 (82,4) ^b	14 (82,4) ^b

** Fluxo salivar maior do que 1,0 mL/min.

^a Dados (número e porcentagem) seguidos de letras iguais, nas linhas, não diferem entre si pelo teste Binomial ao nível de 5%.

Avaliação da xerostomia

Para facilitar a análise e interpretação, os dados obtidos foram agrupados e classificados de acordo com a ausência ou a presença de xerostomia. Através das observações clínicas verificou-se que a xerostomia era significativamente mais incidente no grupo de pacientes diabéticos quando comparado ao grupo de pacientes não diabéticos, em todos os períodos analisados ($p \leq 0,05$) (Tabela 5).

A classificação do grau de xerostomia nos pacientes diabéticos variava entre leve a severa enquanto que, nos pacientes não diabéticos, o grau de xerostomia variava entre leve e moderada (Tabela 6).

Tabela 5- Total de pacientes diabéticos e não diabéticos que apresentavam ou não xerostomia nos vários períodos avaliados.

Grupo	Xerostomia	Período		
		Baseline n (%)	30 dias n (%)	90 dias n (%)
Diabéticos	Ausente	5 (25,0)	5 (25,0)	2 (10,0)
	Presente	15 (75,0) *	15 (75,0) *	18 (90,0) *
Não diabéticos	Ausente	11 (64,7)	13 (76,5)	14 (82,4)
	Presente	6 (35,3)	4 (23,5)	3 (17,6)

* Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo de pacientes não diabéticos no período analisado correspondente, pelo teste de Fisher ao nível de 5%.

Tabela 6- Classificação do grau de xerostomia (ausente, leve, moderada e severa) dos pacientes diabéticos e não diabéticos nos vários períodos avaliados.

Grupo	Xerostomia	Período		
		Baseline n (%)	30 dias n (%)	90 dias n (%)
Diabéticos	Ausente	5 (25,0)	5 (25,0)	2 (10,0)
	Leve	4 (20,0)	8 (40,0)	8 (40,0)
	Moderada	8 (40,0)	7 (35,0)	8 (40,0)
	Severa	3 (15,0)	0 (0,0)	2 (10,0)
Não diabéticos	Ausente	11 (64,7)	13 (76,5)	14 (82,4)
	Leve	4 (23,5)	3 (17,6)	2 (11,8)
	Moderada	2 (11,8)	1 (5,9)	1 (5,9)
	Severa	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

A Tabela 7 expressa o número de pacientes com xerostomia e hipossalivação concomitantemente nos vários períodos de avaliação.

Foi possível observar que a presença de hipossalivação juntamente com xerostomia foi significativamente maior no grupo de pacientes diabéticos, bem como a manutenção dessas alterações em todos os períodos analisados quando comparado ao grupo de pacientes não diabéticos.

Tabela 7- Presença de xerostomia e hipossalivação nos pacientes diabéticos e não diabéticos nos vários períodos de avaliação.

Grupo	Período		
	Baseline	30 dias	90 dias
	n (%)	n (%)	n (%)
Diabéticos	13 (65,0) *	12 (60,0) *	13 (65,0) *
Não diabéticos	5 (29,4)	3 (17,6)	3 (17,6)

* Diferença estatisticamente significante em relação ao grupo de pacientes não diabéticos no período analisado correspondente, pelo teste de Fisher ao nível de 5%.

Pode –se observar que catorze pacientes diabéticos faziam uso de medicamentos para diversas condições clínicas, sendo que os medicamentos para controle do diabetes não estavam sendo considerados. Na Tabela 8 observa-se o número de pacientes diabéticos com ou sem xerostomia e a listagem correspondente desses medicamentos. Verificou-se que 6 pacientes diabéticos não tomavam medicamentos e que o grupo de drogas mais utilizado era dos anti-hipertensivos.

Tabela 8- Distribuição dos pacientes diabéticos com xerostomia associados à ingestão de medicamentos nos vários períodos de avaliação.

Medicamentos	Pacientes Diabéticos n (%)	Pacientes diabéticos com xerostomia e que ingeriam medicamento		
		Baseline n (%)	30 dias n (%)	90 dias n (%)
Nenhum	6 (30%)	-	-	-
Anti-hipertensivo	7 (35,0)	5 (25,0)	5 (25,0)	6 (30,0)
Ansiolítico	2 (10,0)	2 (10,0)	1 (5,0)	1 (5,0)
Anti-depressivo	1 (5,0)	0 (0,0)	1 (5,0)	1 (5,0)
Diurético	1 (5,0)	2 (10,0)	2 (10,0)	1 (5,0)
Anti-hipertensivo e Anti-depressivo	1 (5,0)	1 (5,0)	1 (5,0)	1 (5,0)
Anti-hipertensivo e Diurético	1 (5,0)	1 (5,0)	1 (5,0)	1 (5,0)
Anti-hipertensivo e Ansiolítico	1 (5,0)	1 (5,0)	1 (5,0)	1 (5,0)

Os pacientes com pobre controle metabólico do diabetes utilizavam associação de medidas para o controle da glicemia que variavam entre terapia medicamentosa e/ ou não medicamentosa. Com relação a terapia medicamentosa, 5% dos pacientes diabéticos tomavam insulina, 20% dos pacientes associavam insulina e dieta alimentar, 5% dos pacientes usavam hipoglicemiantes orais, 50% dos pacientes associavam dieta alimentar e hipoglicemiante e 20% dos pacientes diabéticos realizavam apenas controle da dieta (Tabela 9).

Tabela 9- Número de pacientes diabéticos submetidos à terapia medicamentosa e/ou dieta alimentar.

Medicamento	Pacientes
	n (%)
Insulina	1 (5,0)
Hipoglicemiante oral	1 (5,0)
Dieta	4 (20,0)
Hipoglicemiante oral e dieta	10 (50,0)
Insulina e dieta	4 (20,0)

Avaliação da quantidade de *Candida spp.*

Os resultados apresentados na Tabela 10 revelam o número de pacientes portadores de *Candida spp.* na saliva. Caracterizou-se como alta concentração de *Candida* na saliva quando os valores encontrados eram maiores que 400 UFC/mL.

Após 90 dias do tratamento periodontal, constatou-se que a ocorrência de contagem alta de *Candida spp.* foi significativamente maior na saliva dos pacientes diabéticos quando comparado ao grupo de pacientes não diabéticos ($p \leq 0,05$). Dentro de cada grupo não se notou mudanças significativas de concentração de *Candida* entre os períodos avaliados.

Tabela 10- Distribuição de pacientes portadores de *Candida spp* nos diversos períodos analisados.

Grupo	Contagem	Período		
		Baseline n (%)	30 dias n (%)	90 dias n (%)
Diabéticos	Baixa	11 (55,0)	15 (75,0)	11 (55,0)
	Alta γ	9 (45,0)	5 (25,0)	9 (45,0) *
Não diabéticos	Baixa	11 (64,7)	16 (94,1)	16 (94,1)
	Alta γ	6 (35,3)	1 (5,9)	1 (5,9)

* Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo de pacientes não diabéticos no período correspondente analisado, pelo teste de Fisher ao nível de 5%.

γ Contagem maior do que 400 UFC/mL

Avaliou-se a possível correlação entre a presença de *Candida spp.* e a hipossalivação (fluxo salivar reduzido) dos pacientes diabéticos e não diabéticos. Neste sentido, os resultados obtidos e demonstrados na Tabela 11 indicam associação entre presença de *Candida* nos pacientes diabéticos e hipossalivação. Mesmo após 30 e 90 dias do tratamento periodontal, observou-se a permanência da levedura na saliva desses pacientes.

Tabela 11- Associação entre presença de *Candida spp* e hipossalivação nos pacientes diabéticos e não diabéticos nos períodos avaliados.

Grupo	Período		
	Baseline n (%)	30 dias n (%)	90 dias n (%)
Diabéticos	9 (45,0)	5 (25,0) *	9 (45,0) *
Não diabéticos	5 (29,4) ^a	0 (0,0) ^b	1 (5,9) ^c

* Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo de pacientes não diabéticos no período analisado correspondente, pelo teste de Fisher ao nível de 5%.

^a Dados seguidos de letras iguais, nas linhas, não diferem entre si pelo teste Binomial ao nível de 5%.

Avaliação da candidose bucal

O grupo de pacientes não diabéticos não apresentavam candidose ao exame clínico. Por outro lado, 35,3% dos pacientes diabéticos examinados, apresentavam candidose bucal, os quais responderam positivamente ao tratamento periodontal, minimizando a manifestação clínica da candidose, conforme ilustra a Tabela 12.

Tabela 12- Número de pacientes diabéticos que apresentavam ou não candidose clínica nos vários períodos de avaliação.

Candidose	Período		
	Baseline n (%)	30 dias n (%)	90 dias n (%)
Ausente	14 (70,0)	19 (95,0)	19 (95,0)
Presente	6 (35,3) ^a	1 (5,9) ^a	1 (5,9) ^a

^a Dados seguidos de letras iguais, nas linhas, não diferem entre si pelo teste Binomial ao nível de 5%.

Avaliação das espécies de *Candida spp.* isoladas

Quanto à identificação das espécies de *Candida*, observou-se presença de colônias de diferentes aspectos morfológicos que após identificação presuntiva por meio da utilização do meio cromogênico CHROMAgar *Candida* e após identificação definitiva das espécies segundo Sandven (1990) (**Anexo 6**), foi observada grande diversidade de espécies presentes na cavidade bucal dos participantes do presente estudo. Nos pacientes diabéticos positivos para *Candida spp.* a espécie predominante foi *C. albicans* em todos os períodos avaliados (51,5%, 33,3% e 75%, respectivamente, no baseline, aos 30 dias e 90

dias). As espécies de *Candida spp.* identificadas podem ser observadas na Tabela 13.

Tabela 13- Frequência relativa* de isolamento de *Candida spp* da saliva dos pacientes diabéticos.

Espécies de <i>Candida</i>	Períodos		
	Baseline	30 dias	90 dias
<i>albicans</i>	51,5%	33,3%	75%
<i>parapsilosis</i>	6,1%	16,7%	12,5%
<i>dubliniensis</i> **	6,1%	8,3%	0
<i>guilliermondii</i>	12,1%	25%	0
<i>tropicalis</i>	24,2%	16,7%	12,5%

* Para o número total de 59 cepas isoladas;

** Sugestivo de *Candida dubliniensis*.

Na Tabela 14, pode-se observar as espécies isoladas do grupo de pacientes não diabéticos, sendo *Candida albicans*, a espécie predominante em todos os períodos (57,1% no baseline, 100% aos 30 dias e 100% aos 90 dias).

Tabela 14- Frequência relativa* de isolamento de *Candida spp* da saliva dos pacientes não diabéticos.

Espécies de <i>Candida</i>	Períodos		
	Baseline	30 dias	90 dias
<i>albicans</i>	57,1%	100%	100%
<i>parapsilosis</i>	14,8%	0	0
<i>dubliniensis</i> **	28,1%	0	0

* Para o número total de 11 cepas isoladas;

** Sugestivo de *Candida dubliniensis*.

No grupo de pacientes diabéticos 3 pacientes apresentavam-se multicolonizados no baseline, 2 desses pacientes apresentavam-se multicolonizados aos 30 dias e apenas 01 desses apresentou-se multicolonizado aos 90 dias (Tabela 15).

Tabela 15- Distribuição dos pacientes diabéticos multicolonizados quanto às espécies de *Candida spp.* nos períodos avaliados.

Pacientes	Associação entre espécies de <i>Candida spp</i>		
	Períodos		
	Baseline	30 dias	90 dias
n (%)			
01 (5%)	<i>albicans, parapsilosis, guilliermondii, dubliniensis, tropicalis</i>	<i>albicans, tropicalis, guilliermondii, dubliniensis</i>	<i>albicans, parapsilosis, tropicalis</i>
01 (5%)	<i>albicans, parapsilosis, tropicalis, dubliniensis</i>	<i>albicans, parapsilosis</i>	-
01 (5%)	<i>albicans, tropicalis, guilliermondii</i>	<i>albicans</i>	-

No grupo de pacientes não-diabéticos, apenas 01 paciente apresentava-se multicolonizado pelas espécies de *Candida albicans*, *parapsilosis* e *dubliniensis* e somente no baseline.

Avaliação da doença periodontal

A Tabela 16 expressa a média do número de sítios com doença periodontal. Foi possível observar que o tratamento periodontal reduziu significativamente o número de sítios com doença em ambos os grupos e a média do número de sítios nos períodos avaliados ($p \leq 0,05$).

Tabela 16- Média do número de sítios com doença periodontal dos pacientes diabéticos e não diabéticos nos períodos avaliados.

Grupo	Estatística	Período		
		Baseline	30 dias	90 dias
Diabéticos	Média± DP	25,36±17,06 ^{*a}	11,11±10,26 ^{*b}	10,45±11,71 ^{*c}
Não diabéticos	Média± DP	43,82±11,66 ^d	21,55±9,44 ^e	17,48±8,01 ^e

*Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo de pacientes não diabéticos, pelo teste de Fisher ao nível de 5%.

^a Médias seguidas de letras iguais, nas linhas, não diferem entre si pelo teste Binomial ao nível de 5%.

DP – desvio padrão

Avaliação da glicemia

A Tabela 17 classifica os pacientes diabéticos quanto ao controle glicêmico em 3 categorias: pobremente controlado (PC), controlado (C) e descompensado (D). Observou-se que no baseline dos 9 pacientes que enquadravam-se no grau de diabetes pobremente controlado, ao final do estudo 7 desses continuavam nessa condição metabólica. Dessa forma, pode-se dizer que os pacientes não apresentavam mudanças significativas no final do estudo quanto à taxa glicêmica. Então, ao nível de 5%, não houve evidência de que o tratamento periodontal exercesse influência sobre a glicemia.

Tabela 17- Número de pacientes (porcentagem) classificados de acordo com o grau de glicemia no início e no final do período de tratamento periodontal (PC= Diabético pobremente controlado, C= controlado e D= descompensado).

	Condição	90 dias			Total
		PC n (%)	C n (%)	D n (%)	
Baseline	PC	7 (35,0)	2 (10,0)	0 (0,0)	9 (45,0)
	C	3 (15,0)	7 (35,0)	0 (0,0)	10 (50,0)
	D	0 (0,0)	1 (5,0)	0 (0,0)	1 (5,0)
Total		10 (50,0)	10 (50,0)	0 (0,0)	20 (100,0)

Discussão

Discussão

A relação entre diabetes e secreção salivar é extensivamente estudada (MEURMAN et al., 1998; CHAVEZ et al., 2000), em decorrência da diminuição de fluxo salivar e consequentemente dos sinais e sintomas clínicos manifestados na cavidade bucal desses pacientes (HARRISON; BOWEN, 1987; THORSTENSON et al., 1989; SREEBNY et al., 1992). Esses dados estão de acordo com os resultados do presente estudo, cujo grupo de pacientes diabéticos apresentou ocorrência de hipossalivação (fluxo salivar menor que 1mL/min.) em todos períodos analisados (Tabela 3 e 4).

Alguns trabalhos mostram que órgãos como fígado, pâncreas, rins são acometidos pela alteração glicêmica, induzida pelo diabetes. Da mesma forma, há evidências que os mesmos mecanismos da patogenia desses órgãos podem também levar à alteração das glândulas salivares (CHAVEZ et al., 2000). Outros fatores descritos na literatura, como idade, fumo, utilização de medicamentos, ansiedade, condições locais obstrutivas e alterações microbianas, podem estar associados a essa disfunção (DANIELS, 2000). Esses fatores podem explicar, em parte, o fato do tratamento periodontal não ter influenciado na hipossalivação dos pacientes do presente estudo (Tabela 4). Por outro lado, verifica-se que pode haver variação de até 50% no fluxo salivar de pacientes clinicamente normais e que não utilizam medicamento (FOX, 1987). No presente estudo, observaram-se resultados semelhantes mostrando que, o grupo de pacientes não-diabéticos, apresentou fluxo salivar diminuído em mais de 70% dos pacientes, em todos períodos (Tabela 4).

Sabe-se que a saliva desempenha papel importante na proteção dos tecidos bucais, atenuando a incidência de cáries dentais e de outras infecções

bucal (MANDEL, 1989; CHAVEZ et al., 2001). Porém a quantidade de saliva considerada necessária para manter a integridade do tecidos e das funções orais normais não foi estabelecida, além de não estarem esclarecidos quais os métodos adequados de avaliação de alteração de fluxo salivar e xerostomia (PAI et al, 2001). De acordo com Chavez et al. (2000) e Pai et al. (2001) não se pode prever a extensão com que inúmeras variáveis biológicas interagem com as outras na cavidade bucal. Todavia, julga-se necessário o desenvolvimento e a padronização de métodos que auxiliem no diagnóstico precoce dessas alterações, prevenindo as seqüelas na orofaringe e o comprometimento da qualidade de vida do indivíduo.

No presente estudo, muitos pacientes não relatavam sintomas de sensação de boca seca, entretanto, clinicamente apresentavam características que evidenciavam alteração de fluxo salivar. Dessa forma, foi desenvolvido e aplicado um questionário com escores que auxiliaram na constatação e mensuração clínica da xerostomia. Portanto, decidiu-se associar a mensuração do fluxo salivar e a avaliação da presença clínica de xerostomia.

Neste estudo, o grupo de diabéticos apresentou prevalência de maior severidade da xerostomia que o grupo de não-diabéticos em todos os períodos avaliados (Tabela 5). Entretanto, os parâmetros de medida de fluxo salivar analisados para esta população, demonstraram que o tratamento periodontal não exerceu influência sobre essa alteração.

Cerca de 60% dos pacientes diabéticos em todo período experimental apresentavam hipossalivação e xerostomia, sendo significativamente maior quando comparados à porcentagem dos pacientes não diabéticos (Tabela 7). Esses resultados estão de acordo com os achados de Dawes et al. (1987) e Fox

et al. (1987), cujos resultados mostram que 50% dos pacientes diabéticos apresentavam fluxo salivar diminuído e relato de xerostomia.

Muitos pacientes diabéticos são também hipertensos, e usam moduladores da circulação sanguínea. Sabe-se que há associação entre xerostomia (característica clínica de fluxo salivar diminuído) e redução do fluxo salivar (SREEBNY; VALDINI, 1989; DODDS et al., 2000). Mandel (1989) também sugere que a alta incidência de disfunção salivar pode estar associada aos efeitos colaterais de uma variedade de medicamentos. Esses relatos de certa forma esclarecem os resultados do presente trabalho que mostra que a maior parte dos pacientes diabéticos que utilizavam medicamentos com suposto efeito xerogênico, apresentavam xerostomia (Tabela 8).

Várias explicações baseadas em dados disponíveis na literatura são plausíveis de serem formuladas para explicar a hipótese de que indivíduos diabéticos e xerostômicos apresentam maior densidade de colonização por *Candida spp.* Uma dessas hipóteses baseia-se em resultados de estudos de aderência às superfícies mucosas, importante para a colonização inicial e progressão da infecção (VAN BURIK; MAGEE, 2001). Portanto, devido a adesão da *Candida spp.* na mucosa, sugere-se que a proliferação das espécies de *Candida spp.* pode ser favorecida pelas condições intrabuciais desses indivíduos, como baixo pH, higienização deficiente, baixo fluxo salivar e interações com a microbiota. Essas informações podem, elucidar os resultados obtidos no presente estudo no qual, após a terapia periodontal, o grupo de pacientes diabéticos apresentou prevalência de hipossalivação juntamente com alta contagem de *Candida spp.*, significativamente maior que o grupo não diabético (Tabela 11).

Outros mecanismos biológicos podem explicar essa aparente persistência de leveduras na saliva. Talvez certa parcela desses pacientes tenha sido continuamente re-exposta e re-infectada por leveduras no ambiente domiciliar, terapia medicamentosa ou ainda pela apresentação de características imunológicas que favoreçam a persistência desses microrganismos na cavidade bucal.

Resultados obtidos por Manfredi et al. (2002) relataram que a quantificação de leveduras na saliva dos pacientes não está relacionada à evidência clínica de candidose e este fato está de acordo com o presente estudo, no qual os pacientes dos dois grupos apresentavam levedura na saliva e alguns não apresentavam clinicamente, candidose bucal.

Dentre os métodos de identificação das espécies de *Candida*, o CHROMAgar *Candida* é recomendado por ser um meio de cultura capaz de fazer identificação presuntiva de espécies de leveduras comumente isoladas de materiais clínicos, facilitando o conhecimento de culturas mistas (ODDS; BERNAERTS, 1994). Os testes de identificação bioquímica descritos por Sandven (1990) foram utilizados por apresentarem especificidade definida (SHEPPERD et al., 1985).

A caracterização morfológica e bioquímica de leveduras do gênero *Candida* de acordo com Sandven (1990), possibilitou a identificação de cepas em espécies distintas.

No grupo de pacientes não diabéticos foram identificadas espécies distintas dentro do gênero *Candida*, nos pacientes positivos para culturas de *Candida spp.* Observou-se predominância da espécie *albicans* em todos os períodos avaliados (Tabela 14), estando de acordo com os achados de

McCulough et al. (1996) e Hannulla et al. (1999) que relatam que *Candida albicans* está frequentemente presente na cavidade bucal do homem, independentemente de serem saudáveis ou apresentarem patologias. Nossos resultados também estão de acordo com Odds (1987) e Fox et al. (1987), que relatam a existência intra-bucal de *Candida spp.* em pelo menos 50% da população saudável.

Diversos trabalhos encontrados na literatura como os de Fisher et al. (1989); Farah et al. (2000) e Manfredi et al. (2002), relatam que *Candida albicans* emerge como a espécie predominante na cavidade bucal de indivíduos diabéticos. Nossos resultados estão de acordo com esses autores, pois houve predominância de *Candida albicans* em todos os períodos avaliados (Tabela 13).

No presente estudo, além de *Candida albicans*, nos pacientes diabéticos, outras espécies foram isoladas, sendo também identificadas *Candida parapsilosis*, *Candida dubliniensis*, *Candida guilliermondii* e *Candida tropicalis*, no *baseline* e 30 dias após terapia periodontal. Entretanto, 90 dias após o tratamento, as espécies de *Candida spp.* isoladas, além da *C. albicans* foram *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis* (Tabela 15). Conforme Manfredi et al. (2002), existe alta prevalência da espécie *C. dubliniensis* em pacientes diabéticos dentados e a alta prevalência dessa espécie na cavidade bucal desses pacientes possa ser devido à associação com *C. albicans* ou com outras espécies de *Candida spp.*

Com relação à frequência de isolamento de espécies múltiplas, a associação de *C. albicans* na cavidade bucal com outras espécies do mesmo gênero ocorreu em pacientes diabéticos do referido estudo (15%), revelando essa espécie em associação com *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* e

C. dubliniensis (Tabela 15) que podem ter ocorrido, em parte, ao acaso, ou dependente de fatores microbiológicos, tais como comensalismo, simbiose, sinergismo ou antibiose. Nossos resultados estão de acordo com relatos da literatura (MCCULLOUGH et al., 1996; MANFREDI et al., 2002; SAMARANAYAKE et al., 2002) onde essas espécies representam menos do que 10% das leveduras isoladas. As outras espécies de *Candida spp.* encontradas nas infecções humanas são *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida dubliniensis*, *Candida guilliermondii*. Entretanto, essas espécies estão presentes em pequeno número na microbiota bucal de indivíduos não imunocomprometidos, sendo que a presença destas não é necessariamente indicativo da doença, segundo SAMARANAYAKE; MAC FARLANE (1990).

Devido Coleman et al. (1998) relatarem a presença de várias espécies de *Candida spp.* em infecções recorrentes, mesmo após tratamento com drogas antifúngicas, decidiu-se proporcionar melhores condições de higiene bucal aos pacientes através de tratamento periodontal, motivação e instrução de higiene e, assim, avaliar o comportamento microbiológico e clínico das infecções por *Candida spp.*, evitando de certa forma, que a utilização de antifúngicos interferisse em nossa investigação.

Com relação aos períodos de avaliação, após o tratamento periodontal, TERVONEN et al. (1994) sugerem que o efeito da terapia pode ser avaliado 1 mês após a completa realização do tratamento, considerado tempo relativamente curto para a reavaliação. Entretanto, Westfelt et al. (1996) acreditam que o processo de cicatrização após terapia periodontal não cirúrgica é gradual e requer alguns meses para se completar. Levando tais fatos em consideração, foi decidido no presente estudo realizar as avaliações após 30

dias e 90 dias da terapia periodontal, visto que não foram encontrados na literatura trabalhos que indicassem um período determinado para que a resolução da doença fosse observada.

A presença ou ausência de sangramento à sondagem é amplamente usada como parâmetro clínico para determinar a presença ou ausência de doença periodontal (NEWBRUM, 1996). A partir disso, os autores decidiram utilizar a quantidade de sítios com profundidade de sondagem menor que 4mm e com ausência de sangramento à sondagem como indicador confiável da estabilidade periodontal, a ser monitorado durante a terapia de manutenção nos períodos de 30 e 90 dias após terapia periodontal.

Na análise dos resultados quanto à doença periodontal, observou-se melhora significativa nos sítios que apresentavam profundidade de sondagem maior que 4mm e sangramento à sondagem, após tratamento periodontal, tanto no grupo de pacientes diabéticos como no grupo de pacientes não diabéticos (Tabela 16), demonstrando uma redução de 50% no número de sítios com doença periodontal. Os estudos de Tervonen et al. (1994); Christgau et al. (1998) corroboram com os resultados do presente estudo nos quais, o efeito do tratamento periodontal em pacientes diabéticos foi semelhante ao do grupo de pacientes não-diabéticos. Tais observações estão de acordo com relatos prévios que estudaram a importância do controle de placa supra e subgengival por um período prolongado de tempo para o sucesso da terapia periodontal (HILL et al., 1989; GROSSI et al., 1996). Dessa forma, pode-se dizer que, o tratamento periodontal pode contribuir para prevenir a formação de reservatórios intrabucais de microrganismos patogênicos e oportunistas, além de auxiliar o paciente na realização da higiene bucal.

O fato é que por mais que pacientes diabéticos não apresentem sinais e sintomas de doença periodontal, são considerados pacientes de risco para o desenvolvimento e progressão de periodontite destrutiva (NELSON et al., 1990). As razões pelas quais pacientes diabéticos podem ter maior susceptibilidade à doença periodontal ainda não estão definidas, mas tem sido relatado que alteração na função de neutrófilos, na síntese e degradação de colágeno e na cicatrização, exercem influência sobre a resposta frente à doença periodontal (ZAMBON, 1988; WESTFELT et al., 1996; ARMITAGE, 1999).

Com relação à glicemia, nenhuma diferença significativa foi encontrada antes e após a terapia periodontal (Tabela 17). Apesar de alguns autores sugerirem que a terapia periodontal pode melhorar o controle glicêmico de pacientes diabéticos tipo 2, o monitoramento da efetividade do controle metabólico do diabetes pode prevenir o aparecimento das complicações (STEWART et al., 2001) e reduzir significativamente o risco de desenvolver complicações associados a ele (REPORT OF COMMITTEE, 2003).

Dessa forma, a terapia das doenças periodontais e a manutenção de saúde bucal deve ser instituída de forma individualizada, com visitas periódicas ao dentista, instrução adequada de higiene bucal e motivação do paciente, além de acompanhamento médico para adequado controle metabólico, uso limitado de medicamentos, controle da dieta e privação da utilização de cigarros de forma a melhorar a qualidade de vida desses pacientes.

Conclusões

Conclusões

Dentro dos limites deste estudo e com base nos resultados, pode-se concluir:

- 1- O fluxo salivar dos pacientes diabéticos foi semelhante ao dos pacientes não diabéticos.
- 2- A xerostomia foi mais prevalente nos pacientes diabéticos;
- 3- Os pacientes diabéticos que apresentavam xerostomia e faziam uso de medicamentos, utilizavam principalmente, anti-hipertensivo;
- 4- A contagem de colônias de *Candida spp.* foi semelhante em todos os pacientes, independente da presença do diabetes e dos períodos analisados;
- 5- A espécie *Candida albicans* foi predominante em ambos os grupos e em todos períodos analisados;
- 6- Com relação ao tratamento periodontal:
 - a- Houve melhora significativa nos parâmetros clínicos periodontais em ambos os grupos;
 - b- Este não demonstrou exercer influência significativa sobre alteração do fluxo salivar, presença clínica de xerostomia, contagem de *Candida spp.*, presença clínica de candidose bucal e taxa glicêmica;
 - c- Este pode prevenir a formação de reservatórios microbianos intrabuciais, diminuindo o risco de contrair infecções.

Referências

Referências*

ALLEN, C. M. Diagnosing e managing oral candidosis. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.123, n.1, p.77-78, Jan. 1992.

ARENDORF, T. M.; WALKER, D. M. Oral Candidal populations in health and disease. **Br. Dent. J.**, London, v.147, n.10, p.262-272, Nov. 1979.

ARENDORF, T. M.; WALKER, D. M. The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man. **Arch. Oral Biol.**, London, v.25, p.1-10, Nov. 1980.

ARENDORF, T. M. et al. Intra-oral yeast in indigent South African community. **J. Dent. Assoc. S. Afr.**, Cape Town, v.41, n.6, p.327-330, June 1986.

ARMITAGE, G. C. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. **Ann. Periodontol.**, Chicago, v.4, n.1, p.1-6, 1999.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE ASSISTÊNCIA AO DIABÉTICO. Diabetes Mellitus tipo 2, do diagnóstico ao tratamento, p.1-14, 2001. Disponível em: <<http://www.anad.org.br/Diabetes%20Mellitus%20tipo%202.htm>> Acesso em: 25 mar. 2003.

AXELL, T. et al. A proposal for reclassification of oral candidosis. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v.84, n.2, p.111-112, Aug. 1997.

* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação – referências – elaboração – Rio de Janeiro: ABNT, 2002. 24p.

BEIGHTON, D. et al. Use of CHROMagar Candida medium for isolation of yeast from dental samples. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v.33, n.11, p.3025-3027, Nov. 1995.

BERGDAHL, M.; BERGDAHL, J. Low unstimulated salivary flow and subjective oral dryness: association with medication, anxiety, depression, and stress. **J. Dent. Res.**, Alexandria, v.79, n.9, p.1652-1658, Sept. 2000.

BRONDANI, M. A.; BRONDANI, A. A. R.; BOS, A. J. G. Diabetes e Periodontia. A hora e a vez da medicina periodontal. **JBM - Endocrinologia**, Rio de Janeiro, v.82, n.1/ 2, p.32-34, jan./ fev. 2002.

BROWNLEE, M. Glycation products and the pathogenesis of diabetic complications. **Diabetes Care**, New York, v.15, n. 12, p.1835-1843, Dec. 1992.

CERDA, J. et al. Periodontal disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM). The effect of age and time since diagnosis. **J. Periodontol.**, Chicago, v.65, n.11, p.991-995, Nov. 1994.

CHAVEZ, E. M. et al. Salivary function in older adults with diabetes. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v.89, n.3, p.305-311, Mar. 2000.

CHAVEZ, E. M. et al. A longitudinal análise of salivary flow in control subjects and older adults with type 2 diabetes. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v.91, n.2, p.166-173, Feb. 2001.

CHRISTGAU, K. et al. Healing response to non-surgical periodontal therapy in patients with diabetes mellitus: clinical, microbiological, and results. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.25, n.2, p.112-124, Feb. 1998.

CIANCIOLA, L. J. et al. Prevalence of periodontal disease in insulin-independent diabetes mellitus (juvenile diabetes). **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.104, n.5, p.653-660, May. 1982.

COLEMAN, D. C. et al. Importance of Candida species other than Candida albicans as opportunistic pathogens. **Med. Mycol.**, Oxford, v.36, supp. 1, p.156-165, Aug. 1998.

COLLIN, H. L. et al. Oral symptoms and signs in elderly patients with type 2 diabetes mellitus: A focus on diabetic neuropathy. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v.90, n.3, p.299-305, Sept. 2000.

CRAWFORD, J. M.; COTRAN, R. S. Pâncreas In: COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Robins patologia estrutural e funcional**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. cap. 20, p.809-833.

DAHLÉN, G. et al., A retrospective study of microbiology samples from oral mucosa lesions. **Oral Surg. Oral Méd. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, Saint Louis, v.53, n.3, p.250-255, Mar. 1982.

DANIELS, T. E. Evaluation, differential diagnosis, and treatment of xerostomia. **J. Rheumatol.**, v.61 (suppl.), p.6-10, Dec. 2000.

DARVEAU, R. P.; TANNER, A.; PAGE, R. C. The microbial challenge in periodontitis. **Periodontol. 2000**, Munksgaard, v.14, p.12-32, Jun. 1997.

DARWAZEH, A. M. et al. The relationship between colonization secretor status an in vitro adhesion of Candida albicans to buccal epithelial cells from diabetics. **J. Med. Microbiol.**, Edinburgh, v.33, n. 1, p.43-49, Sept. 1990.

DAWES, C. Physiological factors affecting salivary flow rate, sugar clearance and the sensation of dry mouth in man. **J. Dent. Res.**, Alexandria, v.66, sp. Iss, p. 648-653, Feb. 1987.

DODDS, M. W.; YEH, C. K.; JOHNSON, D. A. Salivary alterations in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and hypertension. **Community Dent Oral Epidemiol.**, Copenhagen, v.28, n.5, p.373-381, Oct. 2000.

FARAH, C. S.; ASHMAN, R. B.; CHALLACOMBE, S. J. Oral candidosis. **Clin. Dermatol.**, Philadelphia, v.18, n.5, p.553-562, Sept./ Oct. 2000.

FISHER, B. M. et al. Carriage of Candida species in the oral cavity in diabetics patients: relationship to glycaemic control. **J Oral Pathol.**, Copenhagen, v.16, n.5, p.282-284, May. 1997.

FOX, P. C.; BUSCH, K. A.; BAUM, B. J. Subjective reports of xerostomia and objective measures of salivary gland performance. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.115, n.4, p.581-584, Oct. 1987.

GENCO, R. J. Host responses in periodontal diseases: current concepts. **J. Periodontol.**, Chicago, v.63, n.4, p.338-355, Apr. 1992.

GROSSI, S. G. Response to periodontal therapy in diabetics and smokers. **J. Periodontol.**, Chicago, v.67, n.10 suppl., p.1094-1102, Oct. 1996.

HAFFAJEE, A. D.; SOCRANSKY, S. S. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. **Periodontol. 2000.**, Munksgaard, v.5, p.78-111, Jun. 1994.

HANNULA, J. Age-related acquisition of oral and nasopharyngeal yeast species and stability of colonization in young children. **Oral Microbiol Immunol.**, Copenhagen, v.14, n.3, p.176-182, jun. 1999.

HARRISON, R; BOWEN, W. H. Periodontal health, dental caries, and metabolic control in insulin-dependent diabetic children and adolescents.

Pediatr. Dent., Illinois, v.9, n.4, p.283-286, Dec. 1987.

HILL, L. V. et al. Association of oral candidosis with diabetic control. **J. Clin. Pathol.**, London, v.42, n.5, p.502-505, May. 1989.

HOLMES, A. R.; CANNON, R. D.; JENKINSON, H. F. Interactions of *Candida albicans* with bacteria and salivary molecules in oral biofilms. **J. Ind. Microbiol.**, Amsterdam, v.15, n.3, p.208-213, Sept. 1995.

JORGE, A.O. C. et al. Presença de leveduras do gênero *Candida* na saliva de pacientes com diferentes fatores predisponentes e de indivíduos controle. **Rev. Odontol. Univ. São Paulo.**, São Paulo, v.11, n.4, p.279-285, out./ dez. 1997.

KINANE, D. F. et al. Periodontitis modified by systemic factors. **Ann Periodontol.**, Chicago, v.4, n.1, p.54-64, Dec. 1999.

KLOCK, J.; KRASSE, B. Caries status and microbiol conditions in children in 1973 and 1984. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v.95, p.13-17, 1987.

KRASSE, B. **Risco de cáries**. 2.ed. São Paulo: Quintessence, 1988.

LAMONT, R. J.; JENKINSON. H. F. Life below the gum line: pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, Washington, DC, v.62, n.4, p.1244-1263, Dec. 1998.

LÖE, H.; THEILADE, E.; JENSEN, S. B. Experimental gingivitis in man. **J. Periodontol.**, Chicago, v.36, n.1, p.177, 1965.

LÖE, H. Periodontal disease: the sixth complication of diabetes mellitus.

Diabetes Care. New York, v.16, n.1, p.329-334, jan. 1993.

LOMASKY, S. J. et al. Relationship of insulin secretion and glycemic response to dietary intervention in non-insulin-dependent diabetes. **Arch.**

Intern. Med., Chicago, v.150, n.1, p.169-172, jan. 1990.

MCCULOUGH, M.; ROSS, B. C.; READE, P. C. Candida albicans: a review of this history, taxonomy, epidemiology, virulence attributes and methods of strain differentiation. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Copenhagen, v.25, n.2, p.136-144, Apr. 1996.

MCCULOUGH, M. et al. Oral Yeast carriage correlates with presence of oral epithelial dysplasia. **Oral Oncol.**, Oxford, v.38, p.391-393, 2002.

MALMBERG, K. Prospective randomized study of intensive insulin treatment on long term survival after acute myocardial infarction in patients with diabetes mellitus. **BJM.**, v.24, n.314 (7093), p.1512-1515, May. 1997.

MANDEL, I. D. The role of saliva in maintaining oral homeostasis. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.119, n.2, p.298-304, Aug. 1989.

MANDEL, I. D.; WOTMAN, S. The salivary secretions in health and disease. **Oral Sci Rev.**, Copenhagen, v.8, p.25-47, 1976.

MANDEL, R. L. et al. Microbiology of healthy and diseased periodontal sites in poorly controlled insulin-dependent diabetes. **J. Periodontol.**, Chicago, v.63, n.4, p.274-279, Apr. 1992.

MANFREDI, M. et al. The isolation, identification and molecular analysis of Candida spp. Isolated from the oral cavities of patients with diabetes mellitus. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v.17, n.3, p.181-185, Jun. 2002.

MEALEY, B. M. Diabetes and periodontal disease, **J. Periodontol.**, Chicago, v.70, n.8, p.935-949, Aug. 1999.

MELANDER, A. Oral antidiabetic drugs: an overview. **Diabet. Med.**, Chichester, v.13, n.9 suppl. 6, p. S143-147, Sept. 1996.

MEURMAN, J. H. et al. Saliva in non-insulin-dependents diabetic patients and control subjects: the role of the autonomic nervous system. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v.86, n.1, p.69-76, jul. 1998.

MOORE, L. V. et al. Periodontal microflora of HIV positive subjects with gingivitis on adult periodontitis. **J. Periodontol.**, Chicago, v.64, n.1, p.48-56, jan. 1993.

MOORE, P. A. et al. Type 1 diabetes mellitus, xerostomia, and flow rates. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v.92, n.3, p.281-291, Sept. 2001.

NATIONAL DIABETES DATA GROUP (NDDG) OF THE NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH IN THE UNITED STATES. Acceptance of new criteria for diagnosis of diabetes mellitus and related conditions by the Canadian Diabetes Association. **Can. Med. Assoc. J.**, Toronto, v.126, n.5, p.473-476, Mar. 1982.

NAVAZESH, M. et al. Clinical criteria for the diagnosis of salivary gland hypofunction. **J. Dent. Res.**, Alexandria, v.71, n.7, p.1363-1369, Jul. 1992.

NELSON, R. G. et al. Periodontal disease and NIDDM in Pima Indians. **Diabetes Care.**, New York, v.13, n.8, p.836-840, Aug. 1990.

NEWBRUN, E. Indices to measure gingival bleeding. **J. Periodontol.**, Chicago, v.67, n.6, p.555-561, Jun. 1996.

NISHIMURA, F. et al. Periodontal disease as a complication of diabetes mellitus. **Ann. Periodontol.**, Chicago, v.3, n.1, p.20-29, Jul. 1998.

ODDS, F. C. Candida infections: an overview. **Crit. Rev. Microbiol.**, Boca Raton, v.15, n.1, p.1-5, 1987.

ODDS, F. C.; BERNAERTS, R. CHROMagar Candida, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important Candida species. **J. Clin. Microbiol.**, v.32, n.8, p.1923-1929, Aug. 1994.

OLSEN, I.; STENDERUP, A. Clinical mycologic diagnosing of oral yeast infections. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v.48, n.1, p.11-18, Feb. 1990.

PAGE, R. C.; KORNMAN, K. S. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. **Periodontol. 2000**, Munksgaard, v.14, p.9-11, Jun. 1997.

PAI, S. et al. Development of a visual analogue scale questionnaire for subjective assessment of salivary dysfunction. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v.91, n.3, p.311-316, Mar. 2001.

PFALLER, M. A.; HOUSTON, A.; COFFMANN, S. Application of CHROMagar Candida for rapid screening of clinical specimens for *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida Krusei*, and *Candida (Torulopsis) glabrata*. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v.34, n.1, p.58-61, Jan. 1996.

PINJON, E.; SULLIVAN, D.; SALKIN, I et al. Simple, inexpensive, reliable method for differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v.36, p.2093-2095, 1998.

REES, T. D. The diabetic dental patient. **Dent. Clin. North Am.**, Philadelphia, v.38, n.3, p.447-463, jul. 1994.

REPORT OF THE EXPERT COMITE ON THE DIAGNOSIS AND CLASSIFICATION OF DIABETES MELLITUS. **Diabetes Care**, New York, v.20, n.7, p.1183-1197, jul. 1997

REPORT OF EXPERT COMMITTEE ON THE DIAGNOSIS AND CLASSIFICATION OF DIABETES MELLITUS. **Diabetes Care**, New York, v.26, suppl. 1: S5-S20, jan. 2003.

RYLANDER, H. et al. Prevalence of periodontal disease in young diabetics. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.14, n.1, p.38-43, jan. 1987.

SAFKAN-SEPPALA, B. & AINAMO, J. Periodontal conditions in insulin-dependent diabetes mellitus. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.19, n.1, p.24-29, Jan. 1992.

SAMMALKORPI, K. Glucose intolerance in acute infections. **J. Intern. Med.**, Oxford, v.225, n.1, p.15-19, jan. 1989.

SARAMANAYAKE, L. P.; MAC FARLANE, T. W. **Oral candidosis**. London: Wright, 1990.

SARAMANAYAKE, L. P.; CHEUNG, L. K.; SARAMANAYSKE, Y. H. Candidiasis and other fungal diseases of the mouth. **Dermatol. Ther.**, Copenhagen, v.15, n.3, p.251-269, Sept., 2002.

SANDVEN, P. Laboratory identification and sensitivity testing yeast isolats. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v.48, n.1, p.27-36, Feb. 1990.

SCHMIDT, A. M. et al. Advanced glycation endproducts (AGES) induce oxidant stress in the gingival: a potential mechanisms underlying accelerated periodontal disease associated with diabetes. **J. Periodontal Res.**, Copenhagen, v.31, n.7, p.508-515, Oct. 1996.

SHEPHERD, M. G.; POULTER, R. T. M.; SULLIVAN, P. A. Candida albicans: biology, genetics and pathogenicity. **Annu Rev. Microbiol.**, Palo Alto, v.39, p.579-614, 1985.

SHLOSSMAN, M. et al. Type 2 diabetes mellitus and periodontal disease. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.121, n.4, p.532-536, Oct. 1990.

SIEGEL, S. **Estatística não paramétrica** – para as ciências do comportamento. Editora McGraw-Hill do Brasil, Ltda, São Paulo, S. P., 1975.

SLOTS, J. et al. Periodontal therapy in humans. 1. Microbiological and clinical effects of a single course of periodontal scaling and root planning and of adjunctive tetracycline therapy. **J. Periodontol.**, Chicago, v.50, n.10, p.495, 509, Oct. 1979.

SMITH, U. Insulin action-biochemical and clinical aspects. **Acta Med. Scand.**, Stockolm, v.222, n.1, p.7-13, 1987.

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. **J. Periodontol.**, Chicago, v.63, suppl. 4, p.323-331, Apr. 1992.

SORENSEN, E. *Ergebn. Physiol.*, v.12, p.393-406, 1912, apud SOBER, H. A. Ed., **Handbook of biochemistry**: selected data for molecular biology. Cleveland: The Chemical Rubber, 1968, p.195-198.

SOSKOLNE, W. A. Epidemiological and clinical aspects of periodontal diseases in diabetics. **Ann. Periodontol.**, Chicago, v.3, n.1, p.3-12, July 1998.

SREEBNY, L. M.; VALDINI, A.; YU, A. Xerostomia. Part II: Relationship to nonoral symptoms, drugs, and diseases. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v.68, n.4, p.419-427, Oct. 1989.

SREEBNY, L. M. et al. Xerostomia in diabetes mellitus. **Diabetes Care**, New York, v.15, n.7, p.900-904, jul. 1992.

STENDERUP, A. Oral mycology. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v.48, n.1, p.3-10, Feb. 1990.

STEWART, J. E. et al. The effect of periodontal treatment on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.28, n.4, p.306-310, Apr. 2001.

SULLIVAN, D.; COLEMAN, D. *Candida dubliniensis*: characteristics and identification. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v.36, p.329-334, 1998.

TAYLOR, W. et al. Non-insulin dependent diabetes mellitus and alveolar bone loss progresion over 2 years. **J. Periodontol.**, Chicago, v.69, n.1, p.76-83, Jan. 1998.

TENOVUO, J. et al. Immunoglobins and innate microbial factor in whole saliva of patients with insulin dependent diabetes mellitus. **J. Dent. Res.**, Alexandria, v.65, n.1, p.62-66, jan. 1986.

TERVONEN, T.; OLIVER, R. C. Long-term control of diabetes mellitus and periodontitis. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.20, n.6, p.431-435, July 1993.

TERVONEN, T. et al. Prevalence of periodontal pathogens with varying metabolic control of Diabetes mellitus. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.21, n.6, p.375-579, July 1994.

TEUSCHER, A.; EGGER, M.; HERMAN, J. B. Diabetes and hypertension: Blood pressure in clinical diabetic patients and a control population. **Arch. Intern. Med.**, Chicago, v.149, n.9, p.1942-1945, Sept. 1989.

THEILADE, E. et al. Experimental gingivitis in man II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. **J. Periodontal Res.**, Copenhagen, v.1, p.1-13, 1966.

THOMSON, W. M et al. Further testing of the xerostomia inventory. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v.89, n.1, p.46-5, Jan. 2000.

THORSTENSSON, H.; KUYLENSTIERNA, J.; HUGOSON, A. Medical status and complications in relation to periodontal disease experience in insulin-dependent diabetes. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.23, n.3 - Pt. 1, p.194-202, Mar.1996.

THORSTENSSON, H. et al. Some salivary factors in insulin-dependent diabetics. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v.47, n.3, p.175-183, jun. 1989.

TORRES, S. et al. Relationship between salivary flow rates and Candida counts in subjects with xerostomia. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 93, n.2, p.149-154, Feb. 2002.

TSUJI, I. et al. Receiver operating characteristic análisis of fasting plasma glucose, HbA1c, and fructosamine on diabetes screening. **Diabetes Care**, New York, v.14, n.11, p.1075-1077, Nov. 1991.

Van BURIK, J. A. H.; MAGEE, P. T. Aspects of fungal pathogens in humans. **Ann. Rev Microbiol.**, Palo Alto, v.55, p.743-772, 2001

VAN DER WEIJDEN, G. A. et al. Comparison of different approaches to assess bleeding on probing as indicators of gingivitis. **J. Clin. Periodontol**, Copenhagen, v.21, n.9, p.589-594, Oct. 1994.

VIEIRA, S. **Bio Estatística**. Tópicos avançados. Testes não-paramétricos, tabelas da contingência e análise de regressão. Editora Campus, São Paulo, S. P. 2003

VITKOV, L. et al. Glycaemic disorders in denture stomatitis. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v.28, n.9, p.406-409, Oct. 1999.

VITKOV, L. et al. Candida attachment to oral epithelium. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v.17, n.1, p.60-64, Feb. 2002.

VKI-JARVINEN, H. et al. Severity, duration, and mechanisms of insulin resistance during acute infections. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Springfield, v.69, p.317-323, 1989.

VLASSARA, H. Recent progress in advanced glycation end products and diabetic complications. **Diabetes**, New York, v.46, suppl. 2, p.S19, sept. 1997.

WESTFELT, E. et al. The effect of periodontal therapy in diabetics. Results after 5 years. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.23, n.2, p.92-100, Feb. 1996.

WILLIAMS, D. W.; LEWIS, M. A. O. Isolation and identification of candida from the oral cavity. **Oral Dis.**, Copenhagen, v.6, n.1, p.3-11, jan. 2000.

WILLIS, A. M. et al. Isolation of *C. dubliniensis* from insulin-dependent diabetes mellitus patients. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v.9, n.2, p.86-90, Feb. 2000.

YUAN, K. et al. Detection of putative periodontal pathogens in non-insulin-dependent diabetes mellitus and non-diabetes mellitus by polymerase chain reaction. **J. Periodontal Res.**, Chicago, v.36, n.1, p.18-24, Feb. 2001.

ZAMBON, J. J. et al. Microbiological and immunological studies of adults periodontitis in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. **J. Periodontol.**, Chicago, v.59, n.1, p.23-31, jan. 1988.

Apêndice

Anexo 1

Anexo 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Por esse instrumento particular declaro, para os devidos fins éticos e legais, que eu, (nome) _____, (nacionalidade) _____, portador do RG nº _____, residente à _____, na cidade de _____, Estado de _____, concordo voluntariamente em participar da pesquisa: *"AVALIAÇÃO CLÍNICA E MICROBIOLÓGICA DO FLUIDO CERVICAL E DA SALIVA DE PACIENTES DIABÉTICOS"* e declaro que tomei ciência e que fui esclarecido de maneira a não restarem quaisquer dúvidas sobre a minha participação no estudo, de acordo com os termos abaixo relacionados:

1. Fui esclarecido que a referida pesquisa tem por objetivo avaliar laboratorialmente o conteúdo do fluido cervical de sítios com bolsas periodontais (> 4mm) de pacientes diabéticos. Para tanto, os participantes do estudo, dentre os quais me enquadro, serão submetidos a exames clínicos de diagnóstico de Candidose e periodontal de rotina, incluindo exame intrabucal, utilização de sonda periodontal metálica para verificar a profundidade do sulco gengival, presença de placa bacteriana visível e corada sobre os dentes e ocorrência de sangramento gengival após a inserção da sonda no sulco gengival. A coleta do fluido cervical será realizada através da utilização de cones de papel absorvente estéreis (nº 35) que serão armazenados em eppendorf estéril para posterior avaliação laboratorial. A coleta de saliva será realizada através da indução de salivação em tubos estéreis. Receberei em duas oportunidades, no início e no fim do estudo, orientações relacionadas a instruções de higiene bucal (técnica de escovação e uso de fio dental).

2. Fui esclarecido, baseado no item 1, que a realização da pesquisa não implica em riscos significativos aos participantes, visto que os pacientes continuarão com o tratamento odontológico necessário na Clínica de Pacientes Diabéticos da Pós-graduação da Disciplina de Periodontia da

Faculdade de Odontologia de Araraquara, durante todo período necessário para a realização da pesquisa.

3. Como benefícios de minha participação no presente estudo, receberei um exame periodontal e bucal completo e qualquer alteração ou desvio da normalidade, de qualquer natureza (problemas gengivais, cáries, necessidade de próteses, tratamento ortodôntico ou presença de lesões em mucosa bucal) me serão comunicadas e serei encaminhado para atendimento adequado, dentro da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP.

4. Estou ciente que posso solicitar maiores esclarecimentos durante todo o decorrer da pesquisa sobre quaisquer dúvidas relacionadas a minha participação e à metodologia do trabalho e que possuo plena liberdade para desistir da referida pesquisa, retirando o meu consentimento a qualquer momento, sem sofrer nenhuma penalização ou prejuízo de qualquer natureza.

5. Estou ciente que os dados e resultados obtidos na pesquisa serão utilizados para fins didáticos e de divulgação em revistas científicas brasileiras ou estrangeiras; porém, será garantido o completo sigilo de minha identidade, assegurando minha privacidade.

Desta forma, uma vez tendo lido e entendido tais esclarecimentos, dato e assino este termo de consentimento, por estar de pleno acordo com o teor do mesmo.

Araraquara, ____ de _____ de ____.

Assinatura do Voluntário

Assinatura do Pesquisador Responsável¹

¹ Juliana Rico Pires. Telefone (0XX16) 2016480/ 2016360

Anexo 3

Anexo 4

Anexo 5

ANEXO 5:**Meio para prova de Assimilação de Carboidratos:**

Sulfato de amônia $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_2]$	5,0g
Sulfato de magnésio (MgSO_4).....	0,5g
Fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4).....	1,0g
Agar (Difco).....	20g
Água destilada.....	1000mL

Anexo 6

Anexo 6:

A Tabela 19 registra as características de comportamento das espécies de *Candida* frente às Provas de Identificação que serviram de base para a análise dos resultados, com ênfase na classificação desses microrganismos.

Tabela 19– Características bioquímicas, de microcultivo e formação de tubo germinativo de espécies do gênero *Candida*.

Espécies de <i>Candida</i>	Fermentação				Assimilação					Tubo Germ	Clamid	Pseud o/ Hifas verdad
	Glic.	Sac.	Malt.	Lact.	Glic.	Gal.	Sac.	Malt.	Lact			
<i>C. albicans</i>	AG	A/-	AG	-	+	+	+	+	-	+	+	+
<i>C. guilliermondii</i>	AG	A/AG	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+
<i>C. Krusei</i>	AG	-/-	-/-	-/-	+	-	-	-	-	-	-	+
<i>C. parapsilosis</i>	AG	-/-	-/-	-/-	+	+	+	+	-	-	-	+
<i>C. tropicalis</i>	AG	AG	AG	-/-	+	+	+	+	-	-	V	+
<i>C. glabrata</i>	AG	-/-	-/-	-/-	+	-	-	-	-	-	-	-

A= produção de ácido

G= produção de gás

V= variável (+ ou -)

Resumo

PIRES, J. R. Avaliação clínica e microbiológica de pacientes portadores de Diabetes Mellitus tipo 2. Araraquara, 2004.117p. Tese (Mestrado em Periodontia) – Faculdade de Odontologia, Campus de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”.

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do tratamento periodontal em pacientes diabéticos do tipo 2 sobre alterações de fluxo salivar, xerostomia, *Candida spp.* na saliva e candidose bucal clínica. Foram selecionados 20 pacientes diabéticos tipo 2 e 17 pacientes não-diabéticos de ambos os gêneros, com idade média entre 37 e 55 anos, portadores de doença periodontal crônica. Após exame clínico para avaliação das condições clínicas periodontais, presença de xerostomia e presença clínica de candidose bucal, amostras de saliva foram coletadas para mensuração do fluxo salivar (mL/min), contagem das colônias de *Candida spp.* (UFC/mL) e identificação das espécies. Esse procedimento foi realizado antes da terapia periodontal (baseline), que consistiu em raspagem e alisamento radicular, instrução de higiene bucal e motivação do paciente, aos 30 e 90 dias após a mesma. Os resultados demonstraram que os pacientes diabéticos apresentaram maior ocorrência de xerostomia e de candidose bucal, sendo estes colonizados por várias espécies de *Candida spp.* com predominância de *C. albicans*, sem no entanto, implicar no desenvolvimento da candidose clinicamente. A terapia periodontal, a motivação do paciente e a instrução de higiene bucal foram importantes para melhorar as condições clínicas periodontais e evitar a formação de reservatórios intrabucais de infecção.

Palavras chave: Diabetes mellitus do tipo 2; fluxo salivar; xerostomia; *Candida spp.*; doença periodontal.

Abstract

PIRES, J. R. Clinical and microbial analysis of type 2 diabetes mellitus subjects. Araraquara, 2004.117p. Tese (Mestrado em Periodontia) – Faculdade de Odontologia, Campus de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”.

Abstract

In order to investigate the effect of periodontal therapy, in type 2 diabetes mellitus subjects about salivar flow rates, presence of xerostomia, presence of *Candida* species in the saliva and presence of buccal candidose, twenty type 2 diabetes mellitus subjects and seventeen no-diabetes mellitus subjects, with medium age among 33 to 55 years, presenting generalized chronic periodontal disease were selected. After initial clinical exam to analyze periodontal parameters, xerostomia and buccal candidose presence, saliva samples were assessed to quantify as millimeters of saliva generated per minute (mL/min), account yeasts by colony forming units per mL (CFU/mL) and identified species. That procedure was accomplished before periodontal therapy (baseline) that it consisted in scaling and root planning, oral hygiene instructions and patient's motivation to the thirty and ninety days after these. Diabetics subjects showed to having hyposalivation in similar levels in no-diabetics groups and in all the analyzed periods, higher prevalence of xerostomia and higher occurrence of buccal candidose. *Candida albicans* were the prevalent yeast at all periods in both groups, but the presence of yeasts in saliva not implied in the development of buccal candidose. Concluded that the periodontal therapy, the patients' motivation and the buccal hygiene instructions improve periodontal conditions and avoid the formation of microbial reservoirs in mouth.

Key-words: Type 2 diabetes mellitus; salivary flow rates; xerostomia; *Candida* species; periodontal disease.