

Marcelle Marie Buso Ramos

*Condições periodontais e presença de
microrganismos do complexo vermelho de
Socransky na boca de pacientes com e sem
dependência química.*

ARAÇATUBA - SP

2012

Marcelle Marie Buso Ramos

*Condições periodontais e presença de
microrganismos do complexo vermelho de
Socransky na boca de pacientes com e sem
dependência química.*

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia,
Câmpus de Araçatuba – Unesp, para a obtenção do
Grau de “Mestre em Odontologia” – Área de
Concentração em Estomatologia.

Orientador: Prof. Titular Elerson Gaetti Jardim Júnior
Coorientador: Prof. Titular Alvimar Lima de Castro

ARAÇATUBA – SP

2012

Catálogo na Publicação (CIP)

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

B979c Buso-Ramos, Marcelle Marie.
Condições periodontais e presença de microrganismos do complexo vermelho de Socransky na boca de pacientes com e sem dependência química / Marcelle Marie Buso-Ramos. - Araçatuba : [s.n.], 2012
74 f. ; tab. + 1 CD-ROM

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. Dr. Elerson Gaetti Jardim Júnior
Coorientador: Prof. Dr. Alvimar Lima de Castro

1. Usuários de drogas 2. Periodontite 3. Saúde bucal

Black D6
CDD 617.63

Dedicatória

Durante sua breve vida, não vi um dia se quer ela duvidar do seu maior dom, o de ser mãe. E confiante de que fazia um bom trabalho para educar e formar suas três princesas, cobrava resultados à altura de sua própria dedicação. E essa era a troca: uma boa nota, uma boa conduta pela felicidade em seu rosto!

Confesso que quando Deus determinou sua partida desanimei, pois perdi meu maior estímulo: ver o seu orgulho por suas princesas. Contudo, entendi que seu papel foi tão intenso e tão completo que Deus julgou as três princesas capazes de seguirem sozinhas.

E o dom que Ele tinha lhe dado necessitava retornar.

Dona Neusa, tudo está dando certo e continuo com seus ensinamentos como guia, para que um dia, eu possa ver o seu sorriso por mais esta etapa concluída.

Agradecimentos Especiais

Ao Pai, ao Filho e ao Espírito Santo. Quão vã seria a vida sem a presença e zelo que recebo.

À minha irmã, Emmanuelle, cuja trajetória é retórica à minha (a busca de um sonho) e por ter me dado o título de tia.

Ao João Paulo, por ter me dado o privilégio de sentir o amor de tia.

Ao anjo Michelle, cujo exemplo ensinou a não me entregar.

Ao meu pai, Manoel pelo constante investimento em minha formação, crença em minha capacidade, incentivo incondicional e paciência inesgotável. Pai muito obrigada!

Aos meus tios que desempenharam, da melhor forma possível, papel fundamental no apoio moral e religioso de minha formação, cada um com a mesma importância e dedicação nos vários momentos difíceis ao longo desses 12 anos de ausência de minha mãe.

Recebi de Deus outras mães e outros pais.

Às minhas avós, Bernadete e Cecília e ao meu avô João Buso, cuja simplicidade não permitiu entender a ciência em que me envolvo, mas certamente a sabedoria de vida, exemplo de decência e riqueza de suas almas têm valor inestimável.

Ao futuro marido, Marcos, por apoiar e entender a minha dedicação ao caminho da docência escolhido, sempre me ajudando a buscar equilíbrio frente à caminhada. O caminho ao seu lado se tornou mais feliz e colorido!

Ao professor, amigo e orientador Elerson Gaetti Jardim Júnior, por ter, ao longo de 7 anos de convivência, paciência no ensinar e compreensão em minhas limitações, sempre incentivando meu crescimento científico e pessoal. Muito obrigada pelas correções e críticas, pois sei que cada palavra escondia o grande desejo de me ver crescer e vencer.

Deus construiu um laço eterno de amizade!

Agradecimentos

*À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP -
Faculdade de Odontologia de Araçatuba, na pessoa de sua Diretora, Prof^a. Dr^a.
Ana Maria Pires Soubhia, pela oportunidade de realização do Curso de
Mestrado em Estomatologia.*

*Ao meu coorientador e amigo, Prof. Titular Alvimar Lima de Castro, a
personificação da disciplina de Estomatologia da Faculdade de Odontologia de
Araçatuba- UNESP, por todos os ensinamentos cirúrgicos e exemplo de
respeito pelos pacientes, além da paixão pelo diagnóstico a mim transmitidos.*

*À Prof.^a Christiane Marie Schweitzer, pelo exemplo de pessoa e dedicação na
realização da análise estatística deste trabalho.*

*À equipe da sessão de Pós Graduação da Faculdade de Odontologia de
Araçatuba - UNESP, Valéria de Queiróz Marcondes Zagatto, Cristiane Regina
Lui Matos e Lilian Sayuri Mada, pela atenção, ajuda e demonstração de
profissionalismo.*

Ao Hospital Benedita Fernandes, por permitir a realização deste projeto.

*Aos pacientes envolvidos na pesquisa, pela participação e compreensão
durante a realização deste trabalho, contribuindo assim com o desenvolvimento
da ciência.*

*Ao pós-graduando de doutorado, Francisco Isaac Nicolas Ciesielski, meus
eternos agradecimentos pela essencial atuação na análise clínica dos
pacientes envolvidos e pela amizade compartilhada antes e durante o período
de pós-graduação.*

*Ao Prof. Gilberto Aparecido Coclete, por sua contribuição e disponibilidade na
análise radiográfica desta pesquisa, além da amizade fraterna durante esses
anos de convivência.*

*À Prof.^a Dr.^a Ana Cláudia Okamoto, pelo exemplo de amor pela docência,
respeito pela instituição e dedicação na formação de cidadãos conscientes, não
somente bacharéis.*

*Ao amigo e técnico do Laboratório de Microbiologia da Faculdade de
Odontologia de Araçatuba - UNESP, Robson Varlei Ranieri, por ter dado a mim
oportunidade de conhecer um profissional tão competente e motivador, você é
um divisor de águas no laboratório.*

*Aos profissionais e amigos do Departamento de Patologia e Propedêutica
Clínica da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, José Marcelo Tramarim
(nosso Marcelinho), Miriam Regina Mouro Ferraz Lima, Elaine Cristina
Francischini Ferreira e Marli Barbosa dos Santos, agradeço pelo respeito,
amizade e carinho ao longo dos 7 anos em que vocês presenciaram meu
desenvolvimento profissional.*

À VI turma de Odontologia do curso noturno da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, por ter proporcionado os melhores 6 anos de minha vida acadêmica. A vitória e sucesso profissional de cada um de vocês também será uma realização pessoal minha.

Às amigas, Kathlenn Liezbeth de Oliveira e Lídia Regina da Costa Hidalgo e ao amigo Allan Spindola de Ataídes, pelo companheirismo, horas de descontração e apoio.

À Microbiologia e à Estomatologia, ciências apaixonantes que completam minha existência e que situam minha função neste mundo.

À Odontologia que me ofereceu a base profissional e realização pessoal, além de me dar oportunidade de exercer o amor ao próximo a cada paciente.

A Capes pela concessão de Bolsa de Estudo.

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

Minha sincera gratidão, hoje e sempre!

Epígrafe

"Confie no Senhor de todo seu coração, nunca pense que sua própria capacidade é o suficiente para vencer os problemas.

Em tudo quanto for fazer, lembre-se de colocar Deus em primeiro lugar. Ele guiará os seus passos e você andará pelo caminho do sucesso.

Não fique cheio de si, pensando que sua própria sabedoria é a razão do seu sucesso. A verdadeira sabedoria é amar e obedecer ao Senhor, fugindo do mal".

"Meu filho, tenha sempre estas duas coisas em vista: a verdadeira sabedoria e a capacidade de tomar decisões certas.

Se você possuir essas duas qualidades terá sempre forças renovadas. Elas são como uma medalha de honra".

Provérbios, 3:(5-7);(21-22).

Buso-Ramos, M. M. **Condições periodontais e presença de microrganismos do complexo vermelho de Socransky na boca de pacientes com e sem dependência química.** [dissertação]. Araçatuba: UNESP – Univ. Estadual Paulista; 2012.

Resumo

A dependência de drogas tem sérias consequências pessoais, econômicas e sociais, e seu consumo crescente por adolescentes tem sido negligenciado. Assim, esse estudo objetivou avaliar as condições de saúde bucal de pacientes com dependência química e o efeito dessas drogas sobre a ocorrência dos membros do complexo vermelho de Socransky na boca. Foram obtidos dados sobre as condições de saúde, socioeconômicas e sobre o uso de drogas lícitas e ilícitas de 108 pacientes de ambos os sexos que iniciaram a terapia de desintoxicação, bem como de 100 pacientes de ambos os sexos que não apresentavam dependência química, que constituíram o grupo controle. Exames clínicos intra e extrabucais foram realizados e amostras de biofilme supra e subgengival, saliva e das mucosas foram transferidas para água ultrapura no início do período de hospitalização. O mesmo foi realizado com os pacientes do grupo controle. As amostras presentes na água ultrapura foram submetidas à detecção de periodontopatógenos do complexo vermelho de Socransky através de PCR. Cálculos de *Odds ratios* foram realizados para determinar a relevância de inter-relações entre diferentes microrganismos e a significância dos parâmetros clínicos e microbiológicos foi determinada através de regressão logística multivariada. Observou-se que a maioria dos dependentes faz uso de diversos agentes químicos, lícitos e ilícitos, sendo que a maioria se recusou a declarar para quais agentes sentia dependência. A prevalência dos microrganismos estudados foi significativamente maior nos dependentes, embora a diferença entre os dois grupos, dependentes e controle, foi mais pronunciada entre os indivíduos sadios ou com gengivite, nos dois grupos. Os microrganismos estudados também mostraram relação

com parâmetros clínicos das doenças periodontais, como mobilidade dental e perda óssea. Concluiu-se que a dependência química pode vir a ser considerada como um fator facilitador para a colonização bucal por esses patógenos.

Palavras-chave: Usuário de drogas; Periodontite; Saúde Bucal.

Buso-Ramos, M. M. **Periodontal conditions and presence of the Socransky red bacterial complex in mouth of patients with and without chemical dependency.** [dissertação]. Araçatuba: UNESP – Univ. Estadual Paulista; 2012.

Abstract

Drug addiction has serious personal, economic and social consequences, and the growing narcotics consumption by teenagers has been neglected. Thus, this study aimed to assess the oral health status in patients with chemical subsection and the effect of these drugs on the Socransky red complex members occurrence in the mouth. Data have been obtained on health and socioeconomic conditions, and on the use of licit and illicit drugs in 108 patients of both genders who started detoxification therapy, as well as number of 100 patients of both genders who had no addiction, that constituted the control group. Intra and extra oral clinical examinations were performed, and supra and subgingival biofilm, saliva and mucous membranes samples were transferred to ultrapure water at the beginning of the hospitalization period. The same has been done with the control group patients. The samples present in ultrapure water were subjected to detection of Socransky red complex periodontal pathogens by PCR. Calculations of odds ratios were performed to determine inter-relationships relevance between different microorganisms, and the clinical and microbiological parameters significance were determined by multivariate logistic regression. It was observed the most of dependents makes use of various chemical agents, licit and illicit, and most of them refused to declare to which agents felt dependency. The studied microorganisms prevalence was significantly higher in dependent patients, although the difference between the two groups, dependent and controlled, was more pronounced among healthy individuals and with gingivitis, in both groups. The studied microorganisms also showed a relationship with clinical periodontal diseases parameters such as tooth

mobility and bone loss. It was concluded that drug addiction can come to be regarded as a facilitating factor for oral colonization by these pathogens.

Keywords: Drug Users; Periodontitis; Oral Health.

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Sequência de oligonucleotídeos dos iniciadores para detecção do complexo vermelho de Socransky e demais microrganismos.

Tabela 2 - Associações de drogas utilizadas pelos pacientes dependentes.

.

Tabela 3 - Aspectos comportamentais e psicológicos de pacientes com dependência química e do grupo controle.

Tabela 4 - Ocorrência de microrganismos do complexo vermelho de Socransky em pacientes com dependência química. Agrupados todos os resultados obtidos com os diferentes espécimes clínicos.

Tabela 5 - Ocorrência de microrganismos do complexo vermelho de Socransky nos pacientes do grupo controle. Agrupados todos os resultados obtidos com os diferentes espécimes clínicos.

Tabela 6 - Ocorrência dos demais microrganismos avaliados nos pacientes com dependência química. Dados referentes a todos os espécimes clínicos reunidos.

Tabela 7 - Ocorrência dos demais microrganismos avaliados nos pacientes do grupo controle. Dados referentes a todos os espécimes clínicos reunidos.

Tabela 8 – Presença dos microrganismos do complexo vermelho de Socransky no biofilme subgingival dos pacientes com dependência química e do grupo controle.

Lista de Abreviaturas

OMS = Organização Mundial da Saúde

SNC = Sistema Nervoso Central

PCR = Polimerase Chain Reaction (Reação em cadeia da polimerase)

P. g. = *Porphyromonas gingivalis*

T. f. = *Tannerella forsythia*

T. d. = *Treponema denticola*

DNA = Ácido Desoxirribonucleico

pb = Pares de base (número de pares de base)

PCS = Profundidade clínica de sondagem

RG = recessão gengival

CEP = Comitê de Ética em Pesquisa

CPOD =(Índice de dentes permanente) cariados, perdidos e obturados

ATM = Articulação temporo-mandibular

mm = milímetro

ml: = mililitro

µl: = microlitro

min: = minuto

s = segundo

LSD = dietilamida do ácido lisérgico

THC = 9-tetrahydrocannabinol

Sumário

1- Introdução.....	17
2- Proposição.....	21
3- Materiais e Métodos.....	22
3.1 População estudada.....	22
3.2 Exames clínicos.....	23
3.3 Exames clínicos das condições periodontais.....	24
3.4 Exames clínicos das condições dentárias.....	25
3.5 Reprodutibilidades dos questionários e das avaliações clínicas.....	25
3.6 Coleta dos espécimes clínicos.....	26
3.7 Detecção, por PRC, dos microrganismos do complexo vermelho de Socransky e demais microrganismos estudados.....	27
3.8 Análise Estatística.....	28
4- Resultados.....	29
5- Discussão.....	35
6- Conclusões.....	43
7- Referências.....	44

8- Anexos.....	51
8.1 Anexo A – Comitê de ética em Pesquisa	51
8.2 Anexo B – Normas Revista Anaerobe	52
8.3 Anexo C – Questionário.....	61
8.4 Anexo D1 – Tabela 1.....	66
8.5 Anexo D2 – Tabela 2.....	68
8.6 Anexo D3 – Tabela 3.....	69
8.7 Anexo D4 – Tabela 4.....	70
8.8 Anexo D5 – Tabela 5.....	71
8.9 Anexo D6 – Tabela 6.....	72
8.10 Anexo D7 – Tabela 7.....	73
8.11 Anexo D8 – Tabela 8.....	74

*1 Introdução*¹

A utilização de princípios ativos naturais estimulantes, depressores ou alucinógenos pelas civilizações antigas foi empregada, ao longo da história da humanidade, como meio do homem conquistar um patamar de consciência alterada em rituais religiosos, entre os filósofos e até utilizada como tratamento medicinal, entretanto com o conhecimento dos efeitos nocivos, o abuso de drogas sintéticas e naturais na vida contemporânea trouxe ao homem o vício e a dependência química/física os quais são hoje considerados doenças debilitantes pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e elencados dentre os principais problemas de saúde pública no mundo [1].

A dependência química ou física é uma condição orgânica oriunda da utilização prolongada de drogas psicoativas, as quais provocam o aparecimento de sintomas que envolvem o Sistema Nervoso Central (SNC), o qual passa a sofrer os efeitos de crises de abstinência repentina e prolongada quando os efeitos alucinógenos, depressivos ou estimulantes das drogas terminam. Diferente da dependência química, o vício leva o usuário ao consumo compulsivo da droga a fim de obter as sensações de prazer, saciedade e recompensa geradas pelo consumo, gerando inicialmente uma conexão psicológica com as substâncias psicoativas lícitas ou ilícitas utilizadas, porém não necessariamente leva a dependência química/física, podendo o usuário abandonar o abuso a droga lícita ou ilícita moderando seu hábito e ansiedade sem passar por crises de abstinência [2].

Com a popularização do uso de drogas lícitas e ilícitas a partir da década de 60, o consumo de drogas lícitas e ilícitas atualmente constitui fenômeno de distribuição

¹ As citações das referências no texto e a lista de referências estão de acordo com as normas da revista Anaerobe – ANEXO B.

global de forma que a dependência química vêm se alastrando de maneira preocupante, independentemente de condições culturais, econômico-sociais, geográficas e étnico-raciais das populações atingidas [3-5], produzindo modificações profundas na expectativa e qualidade de vida [6,7]. As causas desse fenômeno de exacerbação do consumo de drogas são complexas e envolvem diversos aspectos sociais, educacionais, econômicos e de saúde pública, mostrando uma natureza multifatorial.

O abuso de substâncias psicoativas produz efeitos colaterais significativos, interferindo na sociabilidade dos dependentes, bem como no metabolismo de diferentes sistemas orgânicos, como o cardiovascular, imunológico, neuroendócrino entre outros, levando o/a paciente e/ou seus familiares a procurar atendimento especializado em clínicas de desintoxicação [8-12]. Contudo o reconhecimento de que o uso dessas substâncias também produz efeitos colaterais sobre os componentes do aparelho estomatognático ainda é limitado, [13] sendo que seus efeitos raramente são avaliados e diagnosticados, permanecendo negligenciados pelos próprios profissionais de saúde responsáveis pelo tratamento desses dependentes químicos [3,5,14].

As severas consequências bucais do emprego de ecstasy, cocaína, crack, opióides, anfetaminas e álcool, dentre outros agentes, estão associadas com a vasoconstrição profunda e persistente que essas drogas induzem, podendo levar à necrose tecidual [15], profundo retardo do processo de reparo [16] e a redução do fluxo salivar comprometendo a defesa natural bucal [17]. Esses efeitos podem ser potencializados pelo consumo em associação dos diferentes agentes. Por exemplo, a própria nicotina presente no tabaco, pode exacerbar os efeitos cardiovasculares da cocaína, uma vez que também possui potente atividade vasoconstritora e induz o aumento da liberação e do tempo de atividade de mediadores adrenérgicos [18], e

como as duas drogas são frequentemente utilizadas concomitantemente, pode-se ter um efeito somatório de ambas sobre a saúde bucal do indivíduo.

Uma vez que a doença periodontal é caracterizada pela presença de uma microbiota essencialmente anaeróbia e eventos que envolvem os mediadores pró-inflamatórios [19], os efeitos vasculares desses agentes químicos, lícitos ou ilícitos, podem colaborar para a modificação da microbiota do biofilme microbiano, aumentando o risco de desenvolvimento de infecções periodontais nesses pacientes. Brazier et al.,[20] e Amaral et al. [3] observaram um maior risco de enfermidades periodontais entre pacientes com dependência química, particularmente no gênero feminino, em função de particularidades hormonais que predispõem à inflamação gengival e perda de inserção conjuntiva. Contudo, o efeito vasoconstritor da maioria dos agentes químicos consumidos mascara os efeitos do estrogênio sobre os tecido gengivais e não foi observada diferença significativa entre os dependentes dos dois gêneros quanto aos parâmetros periodontais estudados, embora a ocorrência de periodontopatias tenha se mostrado significativamente mais elevada entre os dependentes, quando comparados aos não dependentes.

A microbiota envolvida nas infecções periodontais é de natureza mista, onde diversas espécies microbianas exercem papéis específicos na etiopatogênese dessas condições [19], destacando-se os anaeróbios Gram-negativos dos gêneros *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Pseudomonas*, *Aggregatibacter*, *Campylobacter* e *Treponema*, particularmente as espécies *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Tannerella forsythia* [19,21]. Esses microrganismos estabelecem profundas inter-relações ecológicas, que parecem determinar, da mesma forma que as condições imunológicas, o risco de desenvolvimento de quadros infecciosos e inflamatórios

periodontais, que poderiam levar à perda de inserção conjuntiva e dos tecidos de suporte dos dentes [22-24].

Em 1998, Socransky et al. [22] demonstraram que a microbiota bucal poderia ser agrupada em cinco complexos diferentes (complexo laranja, complexo roxo, complexo vermelho, complexo verde, complexo amarelo), sendo que o "complexo vermelho", formado por *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*, apresenta maior relevância no desenvolvimento das periodontites, além de determinar um prognóstico mais reservado no tratamento de sítios periodontais inflamados colonizados por esses agentes microbianos [23,24].

Outro fator predisponente ao desenvolvimento de periodontites em dependentes químicos seria que a utilização de entorpecentes lícitos e ilícitos altera a função cerebral e temporariamente muda a percepção, o humor, o comportamento e a consciência do indivíduo [25]. Quando a dependência química se estabelece, o comportamento e o instinto de autopreservação do paciente são modificados ao longo do tempo, conferindo ao usuário o completo abandono de seus hábitos saudáveis de alimentação e de higiene geral e bucal, propiciando o desenvolvimento de infecções, a instalação do complexo vermelho de Socransky e o desenvolvimento das periodontopatias [23].

Dentre as condições bucais mais correlacionadas pela literatura em pacientes com dependência química, destacam-se as infecções nos tecidos de sustentação dos elementos dentários, o bruxismo, disfunções e dores na Articulação Temporomandibular (ATM), além de queimaduras na mucosa jugal provocadas pelo uso local de cocaína e lesões brancas oriundas do tabagismo, [26,27] contudo a participação dos agentes microbiológicos do complexo vermelho de Socransky nesta população, ainda não se encontra evidenciada e correlacionada com as precárias condições clínicas periodontais presentes nos pacientes com dependência química.

2 Proposição

Dessa forma, em função da problemática do consumo de drogas lícitas e ilícitas, particularmente entre os mais jovens, esse estudo teve como objetivos:

a) avaliar, por meio de técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), a distribuição dos microrganismos do complexo vermelho de Socransky e demais microrganismos testados boca de pacientes dependentes químicos e de não dependentes;

b) correlacionar a microbiota detectada com as condições bucais e periodontais dos pacientes com e sem dependência química.

c) correlacionar a microbiota detectada nos pacientes dependentes químicos com os padrões de consumo de drogas.

3 Materiais e Métodos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP (Processo C.E.P. 82186) (ANEXO A) e foi realizado com o consentimento e apoio do Hospital Benedita Fernandes de Araçatuba - SP.

3.1. População estudada

A amostra estudada foi constituída de 108 pacientes, de ambos os sexos, em sua maioria jovens com idade variando de 21 a 60 anos (idade média de $41 \pm 9,95$), recém admitidos em programas de recuperação e desintoxicação (até 7 dias após a entrada nos centros de recuperação), em regime de internato, para recuperação e desintoxicação junto ao Hospital Benedita Fernandes, município de Araçatuba, que assiste pacientes da região de Araçatuba, noroeste do Estado de São Paulo. Foram incluídos na amostra os pacientes que autorizaram a participação na pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. No momento das coletas, os pacientes com dependência tiveram seus históricos de uso de drogas registrados. Os pacientes dependentes deveriam manifestar a dependência há pelos menos 12 meses.

O grupo controle foi constituído de 100 pacientes de ambos os sexos sem dependência química, com idade de $29,7 \pm 20,1$ anos, selecionados através de programa computacional de busca parametrizada desenvolvido pela Prof. Dr. Christiane Marie Schweitzer do Departamento de Matemática da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, tomando-se como critérios principais de seleção a idade, o gênero e as condições bucais dos pacientes.

Os pacientes avaliados não utilizaram antimicrobianos nos 6 meses que precederam o estudo, tampouco apresentavam doenças sistêmicas que pudessem interferir com a condição de saúde bucal ou que limitassem a possibilidade de exames clínicos intrabucais. Pacientes com comorbidades envolvendo o sistema nervoso central e outras limitações neuromotoras que pudessem interferir com as condições de higiene também foram excluídos da amostra, embora recebessem tratamento odontológico. A seleção e acompanhamento desses pacientes foram realizados nas clínicas da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, entre 2009 e 2011.

Formulários padronizados foram preenchidos, constando informações referentes à identificação, idade, condições de saúde sistêmica, consumo de tabaco, bebida alcoólica, uso de drogas ilícitas, período de abstinência (em dias), além do exame físico. O questionário (ANEXO C) foi aplicado por assistentes sociais das entidades envolvidas e os pacientes foram informados do sigilo que norteará a coleta desses dados. As condições emocionais e desvios psiquiátricos obtidos através dos questionários específicos de avaliação aplicados pelos psiquiatras do Hospital Benedita Fernandes. As condições socioeconômicas, culturais e comportamentais das pacientes envolvidas no presente estudo foram avaliadas através de questionário desenvolvido por assistentes sociais.

Os resultados do presente estudo também serão utilizados para a determinação de protocolos de controle ou tratamento das sequelas bucais do uso de drogas ilícitas ou o abuso de drogas lícitas, dentro dos programas estimulados pela Pró-reitoria de Extensão da UNESP.

3.2 Exames clínicos

Após a anamnese, foram realizados os exames clínicos intra e extrabucais. No atendimento da população alvo, todas as lesões teciduais clinicamente detectáveis

foram avaliadas considerando sua localização, formato, superfície, consistência, cor, base de implantação, sintomatologia, presença ou ausência de úlcera. A biópsia das lesões era realizada quando indicada. Aqueles com lesões malignas ou com suspeita clínica de malignidade foram encaminhados para avaliação e conduta resolutiva. Todos os exames clínicos iniciais foram realizados nos sete primeiros dias de internação no centro de recuperação e desintoxicação.

3.3 Exames clínicos das condições periodontais

Os exames clínicos das condições periodontais foram realizados como descrito por Corraini et al. [28]. Avaliou-se a profundidade clínica de sondagem (PCS) do sulco gengival ou bolsa periodontal (distância, em milímetros, da margem gengival até a base da bolsa periodontal ou sulco gengival) e recessão gengival (RG), medida como a distância da junção amelo-cementária até a margem gengival, em milímetros, em seis sítios periodontais (mesiobucal, bucal, distobucal, distolingual, lingual, e mesiolingual) de cada elemento dental permanente erupcionado, excetuando-se os terceiros molares. O nível clínico de inserção foi determinado como a soma dos valores de profundidade clínica de sondagem e o valor da recessão gengival para cada sítio periodontal examinado.

Em dois sítios periodontais (bucal e lingual, no centro das respectivas faces dentais), em cada elemento dental, excetuando-se os terceiros molares, foi avaliada a presença ou ausência de biofilme microbiano visível e cálculo supragengival, sendo que esse último foi definido como a presença de depósitos calcificados localizados nas superfícies visíveis das coroas dentais e superfícies radiculares, estendendo-se até um milímetro no interior do sulco gengival ou bolsa periodontal. Quando a quantidade de cálculo era suficientemente grande para dificultar a realização dos exames clínicos periodontais, o mesmo era parcialmente removido com auxílio de curetas periodontais

previamente à realização da sondagem e da coleta dos espécimes clínicos subgengivais para avaliação microbiológica.

O exame radiográfico das condições periodontais e dentais foi realizado por um único examinador previamente treinado, com filmes periapicais *Kodak Ekta Plus* e uso de posicionadores tipo RINN – RINN Corporation Dentisply pelo método do paralelismo para avaliar quantidade de osso remanescente e padrão de distribuição óssea. O exame era realizado com os pacientes protegidos com colete de chumbo e protetor de tireóide. O filme radiográfico teve um processamento manual padronizado. O exame radiográfico foi realizado no momento inicial do tratamento para dependência química, nas clínicas de recuperação e desintoxicação. O aparelho radiográfico utilizado foi o modelo Spectro II, 70 Kvp, 10 mamp (*Dabi-atlante*).

3.4 Exames clínicos das condições dentárias

Previamente ao exame clínico foi realizada a profilaxia profissional. Para o exame clínico, os dentes foram secos para o exame visual das condições dentais conduzido com auxílio de um espelho plano. Em caso de dúvida, a superfície foi investigada com sonda exploradora. O diagnóstico da cárie foi realizado baseado nos critérios recomendados pela OMS para determinar o índice CPOD.

3.5 Reprodutibilidades dos questionários e das avaliações clínicas

Todos os exames clínicos intrabuciais, periodontais e dentais foram realizados por especialistas, um em cada área, previamente calibrados e acompanhados por auxiliar. Nesse sentido, 15 dias antes do início dos exames foram realizados testes para avaliar a reprodutibilidade dos questionários aplicados (uso de drogas, condições

socioeconômicas e culturais, condições psicológicas e avaliações psiquiátricas) e dos exames clínicos, sendo que 10% do grupo amostral foi submetido a reavaliações após o início do experimento (de 4 a 6 meses) para garantir a manutenção dos critérios de diagnóstico intraexaminador e a reprodutibilidade dos dados obtidos [28].

3.6 Coletas dos espécimes clínicos

A coleta dos espécimes clínicos era feita conforme descrito a seguir, em procedimentos realizados das 8:00 às 9:30 horas.

As coletas do biofilme supragengival e saliva eram realizadas imediatamente antes do exame clínico das condições dentárias das pacientes. Para a coleta de saliva, as pacientes eram orientadas a não beber, comer ou realizar a higiene bucal uma hora antes da coleta. A coleta foi realizada através de dispositivos denominados Salivettes (Aktiengesellschaft, Nümbrecht, Alemanha), adequados para a captação de saliva em pacientes com níveis variados de xerostomia, que permaneceram na cavidade bucal das pacientes por 15 segundos e eram centrifugados a 5.000 x g. por 5 minutos. A seguir, saliva resultante era transferida para criotubos contendo água ultra-pura Milli Q, que foram armazenados a -196°C, para a extração do DNA microbiano.

As amostras do biofilme supragengival foram removidas de três sítios anatômicos equivalentes aos locais em que o periodonto mostrasse maior perda óssea ou de inserção e sangramento gengival. A coleta era realizada com auxílio de curetas esterilizadas e o biofilme transferido para criotubos contendo água ultrapura MilliQ.

Os espécimes do biofilme subgengival foram obtidos, com o uso de cones de papel absorvente esterilizados, após a remoção do biofilme supragengival, dos três sítios periodontais não contíguos com maior profundidade clínica de sondagem e, nos pacientes com periodontite, perda óssea e sangramento gengival. A seguir, depois de permanecerem por 30 segundos no interior dos sulcos gengivais ou bolsas

periodontais, os cones de papel eram transferidos para criotubos contendo água ultrapura e enviadas ao laboratório.

As amostras oriundas das mucosas bucais foram coletadas por meio de zaragatoas que eram friccionadas contra o dorso da língua, assoalho de boca, vestibulo bucal e mucosa jugal. A seguir, como para os demais espécimes clínicos, as zaragatoas utilizadas eram transferidas para tubos contendo água ultra-pura MilliQ.

3.7 Detecção, por PCR, dos microrganismos do complexo vermelho de Socransky e demais microrganismos bucais².

O DNA das amostras clínicas nos criotubos com água Milli Q, era extraído através do “kit” RTP Spin Bacteria DNA (Invitek, GmbH, Berlin, Alemanha), segundo as especificações do fabricante. O DNA foi mantido a -196°C, em nitrogênio líquido, até as reações de amplificação, após quantificação através de espectrofotometria ($A_{260\text{ nm}}$).

A presença de *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* e *Porphyromonas gingivalis*, bactérias pertencentes ao complexo vermelho de Socransky, era detectada através da amplificação do DNA por PCR, empregando-se iniciadores e condições específicas para cada agente infeccioso [29] (Tabela 01, ANEXO D). A amplificação foi realizada em aparelho de PCR (Perkin Elmer, GeneAmp PCR System 2400) programado para: 1 ciclo de 94°C (5 min.); de 30 a 36 ciclos de 94°C (1 min.), temperatura de anelamento de cada iniciador por um tempo que varia de 30s. a 2

²Nota: o estudo, como um todo, envolve a caracterização da microbiota bucal de pacientes dependentes, embora o trabalho de dissertação ora apresentado esteja direcionado ao complexo vermelho, em função de sua relevância. Dados dos demais microrganismos são apresentados em separado nos anexos em função das associações ecológicas e com os parâmetros clínicos estudados.

min., 72°C (30s. a 2 min.) e 1 ciclo de 72°C (5 min.), para a extensão final da cadeia de DNA.

Adicionalmente, avaliou-se presença de microrganismos frequentemente associados com o complexo vermelho de Socransky ou ligados a infecções oportunistas em pacientes com dependência química (*Candida albicans*, *Eikenella corrodens*, ordem *Mollicutes*, *Prevotella intermedia*, *P. loeschei*, *P. nigrescens*), empregando-se iniciadores e condições de amplificação do DNA específicas para cada microrganismo.

Em todas as reações foram utilizadas, como controle positivo, DNA de cepas de referência dos microrganismos estudados. Os produtos da amplificação pelo PCR eram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1%, corados com brometo de etídio (0,5 µg/ml) e fotografados sobre transiluminador de luz UV, com câmara Kodak (Eletrophoresis Documentation and Analyses System 120). Como padrão de peso molecular foi utilizado o marcador 1Kb DNA ladder (Gibco, SP).

3.8 Análise estatística

Os dados socioeconômicos e culturais dos pacientes foram inseridos em tabelas de contingenciamento e submetidos a análise pontual, determinando-se a ocorrência, variância, médias e desvio-padrão de todas as variáveis avaliadas. O teste de Qui-Quadrado de Pearson, com a correção de Bonferroni, foi utilizado para avaliar a significância das possíveis associações entre os aspectos clínicos e microbiológicos, sendo que nas análises dicotômicas utilizaram-se os testes Exato de Fisher e Mann-Whitney. A existência de correlações entre diferentes espécies microbianas na boca era determinada através dos testes de Correlação de Spearman, Pearson e Kendall. A análise foi realizada na Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, FEIS-UNESP. O nível de significância adotado foi de 5%.

4 Resultados

A maioria dos indivíduos que compunham o grupo teste não respondeu o questionamento referente ao padrão de consumo de agentes químicos para os quais mostravam dependência e seus dados clínicos e microbiológicos foram excluídos da análise estatística que procurou correlacionar os perfis de consumo de agentes (Tabela 2) e a microbiota observada. Os resultados apresentados na Tabela 2 evidenciam que o grupo de pacientes usuários de drogas lícitas e ilícitas, mantidos no centro de desintoxicação, fazia uso de ampla variedade de associações de produtos, anteriormente à sua internação, sendo que apenas sete (14,6%) dos pacientes eram dependentes de uma única droga, no caso, o etanol ou o tabaco.

Entre aqueles que responderam a esse questionamento, 85,4% utilizavam mais do que um agente químico, sendo que bebidas alcoólicas (93,7%), tabaco (85,4%), cocaína (41,6%) e crack (39,6%) foram os mais consumidos, quase sempre em múltiplas associações (Tabela 2). A dependência ao tabaco ou álcool, isoladamente, somente foi observada entre indivíduos com mais idade.

Além desses compostos ainda merece consideração o consumo de cocaína (41,6%), crack (39,6%), maconha (33,3%), alucinógenos (12,5%) e êxtase (2,1%), sempre em associação com o consumo e dependência ao álcool e tabaco (Tabela 2). Além desses compostos, uma ampla gama de alucinógenos parece ser utilizada por 12,5% dos pacientes.

Dentre os problemas comportamentais ou psicomodulados relatados, destaca-se a sensação de nervosismo e irritabilidade (teste de Mann-Whitney, $p < 0,05$) e, além da ocorrência de depressão (teste de Mann-Whitney, $p < 0,01$), os quais estiveram presentes em frequência significativamente maior no grupo de dependentes químicos (Tabela 3), embora não se possa estabelecer uma correlação entre essas condições e os aspectos clínicos e microbiológicos observados.

Entre os dependentes químicos, 44 apresentavam gengivite, 18 tinham periodontite, 28 eram periodontalmente saudáveis e 4 pacientes eram desdentados, segundo os critérios de Corraini et al. [28]. Para os pacientes do grupo controle, 30 apresentavam gengivite, 20 apresentavam periodontite, 50 eram periodontalmente saudáveis, segundo os mesmos critérios citados acima.

Quando os dados clínicos são avaliados em seu conjunto, tanto no grupo dos dependentes quanto no grupo controle, observou-se uma associação estatisticamente significativa entre o fator idade e o número de dentes perdidos (teste de Qui-Quadrado, $p < 0,01$) e destruição periodontal (teste de Qui-Quadrado, $p < 0,01$), bem como entre sangramento e presença de biofilme (teste de Qui-Quadrado, $p < 0,05$). A análise estatística mostrou uma relação positiva entre o número de dentes perdidos e a ocorrência de perda óssea no grupo de dependentes (teste de correlação de Pearson, $p < 0,01$) e uma relação inversa entre o número de dentes perdidos e dentes restaurados, nos dois grupos de pacientes (teste de correlação de Pearson, $p < 0,05$).

Quanto aos parâmetros microbiológicos, observa-se que *P. gingivalis* esteve associado a sangramento gengival, tanto nos pacientes do grupo de dependentes químicos (teste de correlações de Spearman, $p < 0,01$), quanto no grupo controle (teste de correlações de Spearman, $p < 0,05$). A presença desse anaeróbio Gram-negativo no biofilme subgengival parece ser a fonte de contaminação da saliva e da mucosa desses pacientes (teste de correlações de Spearman, $p < 0,01$). Sua ocorrência no biofilme subgengival também se mostrou associada com a ocorrência no biofilme supragengival (teste de correlações de Spearman, $p < 0,01$).

A avaliação estatística dos dados microbiológicos mostra que a ocorrência de *T. forsythia* no sulco gengival aumenta significativamente com a idade (teste de correlação de Kendau e teste de correlação de Spearman, $p < 0,01$), com o sangramento gengival e mobilidade dental (teste de correlação de Kendau e teste de

correlação de Spearman $p < 0.05$) e em sítios periodontais com sangramento gengival (teste de correlação de Spearman, $p < 0.01$). No biofilme supragengival, esse patógeno mostrou relação estatística com sangramento gengival, presença do mesmo na mucosa (teste de correlação de Spearman, $p < 0,01$) e, em menor extensão, no biofilme subgengival (teste de correlação de Spearman, $p < 0,05$). As associações entre *T. forsythia* no sulco gengival e/ou biofilme supragengival e os parâmetros periodontais também foram observados entre os indivíduos do grupo controle.

A presença desse anaeróbio também foi mais frequente na mucosa e saliva dos pacientes dependentes que apresentavam lesão de furca (teste de correlação de Kendau, $p < 0.05$), sendo que essa correlação não foi observada nos indivíduos do grupo controle. A participação desse microrganismo no biofilme subgengival mostrou-se associada à colonização do biofilme supragengival (teste de correlação de Kendau e teste de correlações de Spearman, $p < 0.01$), tanto para dependentes químicos quanto no grupo controle. Além desse aspecto, a ocorrência de *T. forsythia* na mucosa bucal dos pacientes está intimamente implicada com a presença do mesmo na saliva (teste de correlação de Kendau, $p < 0.01$), o que não foi observado nos pacientes do grupo controle.

Entre os pacientes dependentes, os dados relativos a *T. denticola* se mostraram pouco significativos, sendo que essa espiroqueta não evidenciou relação positiva com nenhuma das variáveis clínicas periodontais. Por outro lado, os pacientes dependentes com lesão de furca apresentavam uma probabilidade menor de terem aqueles sítios periodontais colonizados por *T. denticola* do que aqueles que não apresentavam esse comprometimento. A presença de *T. denticola* em mucosa mostrou-se associada à presença desse microrganismo no biofilme subgengival e supragengival (teste de correlação de Spearman, $p < 0,05$). No grupo controle, *T.*

denticola mostrou relação positiva com mobilidade dental e sangramento gengival (teste de correlação de Spearman, $p < 0,05$).

Nos dois grupos de pacientes, do ponto de vista ecológico, as principais associações positivas entre os membros do complexo vermelho se deram entre *P. gingivalis* e *T. forsythia*, independentemente da origem dos espécimes clínicos e das condições periodontais dos pacientes (teste de correlações de Spearman, $p < 0,01$), seguida pela associação entre *P. gingivalis* e *T. denticola* e entre *T. forsythia* e essa espiroqueta bucal (teste de correlações de Spearman, $p < 0,05$).

Nos dois grupos experimentais, quando os demais microrganismos são incluídos nessa análise, observa-se que *T. forsythia* apresenta relação positiva estatisticamente significativa com todos os demais microrganismos estudados, como a ordem *Mollicutes*, *P. micra*, *E. corrodens*, *P. intermedia* (teste de correlações de Spearman, $p < 0,01$), *C. albicans*, *P. nigrescens* e *P. loeschei* (teste de correlações de Spearman, $p < 0,05$). Com relação a *P. gingivalis*, observa-se nítida associação estatística entre sua ocorrência e a presença de *P. micra*, ordem *Mollicutes*, *E. corrodens*, *P. intermedia* (teste de correlações de Spearman, $p < 0,01$), seguida pela correlação com *P. nigrescens* (teste de correlações de Spearman, $p < 0,05$). Para *T. denticola*, observa-se associação estatística entre sua ocorrência e a presença de *P. micra*, ordem *Mollicutes*, *P. intermedia* e *P. nigrescens* (teste de correlações de Spearman, $p < 0,05$), seguida pela correlação com *P. nigrescens* e *T. denticola* (teste de correlações de Spearman, $p < 0,05$).

Verifica-se que a ocorrência dos membros do complexo vermelho no biofilme subgengival dos indivíduos com periodontite é semelhantes nos dois grupos de pacientes, enquanto sua ocorrência nos indivíduos sadios ou com gengivite é significativamente mais elevada no grupo de dependentes químicos (teste de Mann-Whitney, $p < 0,05$).

Se os dados de todos os espécimes clínicos forem agrupados, verifica-se que, entre os dependentes, apenas *T. forsythia* encontra-se com uma frequência maior nos pacientes com periodontite, em relação aos periodontalmente sadios. Para os pacientes com gengivite *T. forsythia* foi detectado em uma frequência menor do que observado nos pacientes com periodontite e se mostrou mais frequente do que nos indivíduos sadios. Nesses indivíduos com gengivite, a ocorrência de *T. denticola* foi mais elevada do que nos pacientes com periodontite e nos periodontalmente sadios (Tabela 4). Quando essa avaliação é realizada com os indivíduos do grupo controle, observa-se que *P. gingivalis* e *T. forsythia* são mais prevalentes nos pacientes com periodontite, embora a ocorrência desses dois anaeróbios também tenha se mostrado mais elevada do que nos indivíduos periodontalmente sadios. Os indivíduos do grupo controle com gengivite mostram a mesma prevalência de *T. denticola*, mais elevada do que entre os sadios mas semelhantes entre si (Tabela 5).

Pelos dados apresentados na Tabela 6, referentes aos demais microrganismos, observou-se que entre os dependentes, *C. albicans* esteve associado com saúde periodontal, enquanto *P. intermedia* e *P. loeschei* foram mais frequentes nos pacientes com periodontite. Os demais microrganismos não apresentam relação com as condições periodontais dos pacientes estudados. Entre os indivíduos do grupo controle, observa-se que a ordem *Mollicutes*, *P. intermedia*, *P. loeschei* e *P. nigrescens* estiveram associadas à gengivite e periodontite.

A comparação relativa às Tabelas 6 e 7 revela que *C. albicans*, *P. micra*, *P. intermedia* e *P. loeschei* são significativamente mais prevalentes entre indivíduos com dependência química, sendo que essa diferença é maior entre os pacientes com gengivite ou periodontalmente sadios dos dois grupos. Essas diferenças ficam mais claras quando apenas os espécimes de biofilme subgengival são considerados. Entre os pacientes do grupo controle, sempre que um indivíduo apresentava algum membro

do complexo vermelho fora do sulco gengival, o mesmo microrganismo estava presente no biofilme subgengival. Pela Tabela 8 verifica-se que a maior ocorrência desses microrganismos nos dependentes se deve aos indivíduos sadios e, em menor extensão, pacientes com gengivite.

Em função da recusa de parcela significativa dos pacientes com dependência química em responder o questionário sobre quais drogas utilizava e qual o padrão de consumo, bem como pela ampla gama de padrões de utilização desses agentes, não foi possível estabelecer correlações entre os parâmetros individuais da dependência química e as características microbiológicas obtidas a partir das amostras clínicas.

5 *Discussão*

A partir do século XIX, novos conceitos e o início da descoberta de efeitos colaterais destrutivos oriundos do abuso de drogas lícitas e ilícitas, modificou substancialmente a abordagem médica e terapêutica dada ao usuário de droga e ao dependente químico, transformando o que antes era considerado hábito nocivo ligado ao caráter pessoal do indivíduo, para o conceito de patologia física e psiquiátrica com sérias consequências fisiológicas [30].

Poucos problemas de saúde têm despertado a atenção da sociedade quanto a problemática do consumo e dependência de drogas, lícitas e ilícitas, que provocam efeitos deletérios sobre o aparelho estomatognático e afetam profundamente a saúde sistêmica [14], além de expor o indivíduo a uma sociedade paralela, com regras próprias que dificulta sua recuperação [4]. Esses aspectos ainda são agravados pela existência de múltiplos padrões de uso desses agentes, o que dificulta a prevenção e a própria terapia de desintoxicação [31].

O dependente apresenta grande dificuldade em estabelecer parâmetros de quantidades e frequência de consumo das drogas, que quase sempre, produzem uma sensação de satisfação dependente da liberação de neurotransmissores, destacando-se a dopamina, que é um neurotransmissor ligado a sensação de euforia, bem estar e relaxamento. Contudo, com a tolerância da droga pelo organismo, se tornam necessários o aumento da frequência e a quantidade do consumo do agente químico, afim de se evitar o efeito depressivo que o declínio dos níveis de dopamina acarretam, ou seja, as crises de abstinência [3].

O padrão de consumo de drogas lícitas e ilícitas encontrado no grupo de dependentes químicos do presente estudo, indica que o abuso de drogas lícitas como o álcool e tabaco é o passo inicial da dependência química ou a droga de fácil acesso mantenedora do estado alterado de consciência, pois dentre as associações de abuso

de drogas relatados pelos pacientes ocorre a presença obrigatória de álcool e/ou tabaco. Estes dados corroboram com o estudo de Reddy et al, [32] onde foi observado que dentre 250 pacientes com dependência química estudados, apenas 2.8% dos dependentes químicos relataram que são usuários somente de maconha, enquanto o restante relata o abuso de drogas lícitas (álcool e tabaco) em associação com as drogas ilícitas.

Os aspectos emocionais e psicológicos relatados colaboram para a alteração do humor e desenham um perfil de alto estresse vivido pelo dependente químico nas clínicas de desintoxicação, onde os mesmos se deparam com os efeitos da abstinência e se confrontam com seu real estado físico, de estima pessoal e sua família. O estresse pode colaborar com a reatividade imunológica destes pacientes, haja vista a internação por período integral, os vários casos de internação por ordem judicial e contraditórios a vontade do dependente químico [33].

Um efeito frequente associado a quase todos os agentes químicos utilizados, como o tabaco, a maconha, crack, cocaína e êxtase, é o desenvolvimento de vasoconstrição periférica [34] que diminui o potencial redox dos tecidos destes pacientes e, por conseguinte, pode facilitar a colonização da superfície dos mesmos por microrganismos sensíveis ao oxigênio. Os membros do complexo vermelho de Socransky, acrescidos de outros microrganismos Gram-positivos e, principalmente, Gram-negativos, estão implicados em diversas infecções oportunistas envolvendo a região de cabeça e pescoço [35], sendo comum em outras espécies de primatas e algumas outras espécies de mamíferos [36].

Além desse efeito vasoconstritor, a maconha, considerada uma droga de cunho natural e inofensiva, tem emprego médico-terapêutico em pacientes com doenças debilitantes terminais para alívio da dor, sensação de sedação e relaxamento, porém seu principal agente, o 9-tetrahydrocannabinol (THC), permanece presente no cérebro

até 24 horas após o uso e produz efeito imunossupressor em macrófagos, célula *natural killer* e linfócitos T e B, resultando na diminuição da defesa natural a infecções [37], além de sua atuação carcinogênica e parasimpatolítica que provoca xerostomia, acarretando cáries e periodontopatias [38].

O efeito imunossupressor de agentes químicos também se encontra bem caracterizado para o tabaco [18], álcool [3], cocaína, crack, anfetaminas e êxtase, [10,20,43] sendo acarretado pela vasoconstrição periférica no indivíduo dependente que passar a exibir limitada diapedese de células inflamatórias, células de defesa e o retardo do reparo tecidual local, deixando assim, o dependente químico com alto risco de desenvolver infecções graves. Esse quadro imunossupressor se agrava quando na presença dos efeitos somatórios oriundo do consumo concomitante de vários agentes psicotrópicos pelo dependente químico [39,40].

Dentre as mais de 500 espécies de microrganismos presentes na cavidade bucal, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* e *Porphyromonas gingivalis* parecem estar fortemente associadas às periodontopatias [19,23,41], compondo o grupo denominado por Socransky et al., [22] de complexo vermelho, que apresenta complementariedade metabólica e de virulência entre si e com outros microrganismos bucais, notadamente os membros do chamado complexo laranja, como *Prevotella intermédia* e *Prevotella nigrescens* [41]. A importância dessas espécies para a ecologia microbiana bucal se faz visível quando se verifica a complexidade de associações ecológicas que tais microrganismos estabelecem na boca, como também sugerido no presente estudo onde encontramos associação positiva estatisticamente significativa entre *P. gingivalis* e *T. forsythia*, independentemente do sítio de coleta e condições periodontais dos pacientes com dependência química e do grupo controle.

A dependência pode agravar uma condição periodontal preexistente, o que poderia se dar por exacerbar a colonização do biofilme microbiano bucal por

microrganismos anfíbios capazes de agredir os tecidos periodontais, como já descrito para o tabaco [42-44], além de modificar a susceptibilidade individual à agressão microbiana.

Poucos são os estudos sobre a microbiota bucal de pacientes com dependência química, a não ser os relativos à microbiota anaeróbia periodontal em pacientes tabagistas [42,45-48] e não são conhecidos os efeitos da xerostomia e demais efeitos adversos provocados por essas drogas sobre a contaminação microbiana salivar.

A elevação dos níveis plasmáticos de catecolaminas, associados a esses agentes, possui potente efeito vasoconstritor, sendo que esses efeitos são independentes da dosagem utilizada e da rota de administração [49]. Na gengiva e palato do paciente, os efeitos simpatomiméticos acabam por induzir vasoconstrição periférica severa, podendo levar à necrose tecidual [11], além de reduzir significativamente o potencial redox dos tecidos afetados, permitindo a implantação e proliferação exacerbada de agentes infecciosos anaeróbios, como *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, bem como outros microrganismos anaeróbios que não fazem parte do complexo vermelho, como *P. intermedia*, *P. micra*, além de diminuir o acesso de componentes do próprio sistema de defesa do hospedeiro, como anticorpos e proteínas do sistema complemento, uma vez que a própria inflamação tecidual se mostra menos proeminente entre os dependentes, criando condições mais favoráveis à implantação e disseminação de microrganismos oportunistas [3,33].

Em função da perda óssea e a perda de inserção conjuntiva, como o aprofundamento da bolsa periodontal e sulco gengival, o potencial redox apresenta notável redução, permitindo que a população microbiana anaeróbia, principalmente a parcela Gram-negativa, sofra um aumento significativo [50-53]. Tendo em vista o efeito vasoconstritor da quase totalidade dos agentes químicos utilizados pelos pacientes, é

possível que a ação dessas drogas também provoque uma diminuição significativa da perfusão sanguínea nos tecidos periféricos, mimetizando algumas características das bolsas periodontais, o que poderia explicar as diferenças entre a ocorrência de *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *T. denticola* entre os dois grupos de pacientes, principalmente entre aqueles que se mostravam periodontalmente saudáveis ou portadores apenas de gengivite. Outros anaeróbios, como *P. intermedia* e *P. loeschei* também foram observados mais frequentemente entre os dependentes periodontalmente saudáveis ou com gengivite, em uma prevalência que se assemelhou à observada nos indivíduos do grupo controle com periodontite.

Por outro lado, o aumento na ocorrência de *C. albicans* e *Mollicutes*, que utilizam oxigênio em seu metabolismo, quando disponível, sugere que outros fatores devem estar envolvidos na instalação e proliferação desses oportunistas, fazendo com que a microbiota de dependentes saudáveis ou com gengivite se assemelhe à observada nos pacientes do grupo controle com periodontite. Dentre os candidatos a fatores facilitadores da colonização bucal por esses patógenos, destaca-se a xerostomia, quase universal e de intensidade variável nos dependentes, e o imunocomprometimento produzido pelas drogas.

Alguns estudos sobre a ocorrência desses anaeróbios em pacientes com diferentes condições de saúde periodontal evidenciam que *P. gingivalis* e *T. forsythia* apresentam relação direta com a condição periodontal dos pacientes, particularmente quando perda óssea está presente [3,54,55]. Segundo Ito et al., [55] mostraram que, em sítios periodontais com profundidade clínica de sondagem acima de 3mm, a ocorrência desses anaeróbios foi de 32%, aproximadamente 10 vezes maior do que a observada em sítios periodontais saudáveis.

Em pacientes dependentes de álcool, Amaral et al., [3] observou a ocorrência de *Porphyromonas gingivalis* em todos os sítios subgengivais com 4 mm de

profundidade de sondagem, sendo que os alcoólatras foram considerados um grupo que apresenta uma elevada predisposição às doenças periodontais. No presente estudo, *P. gingivalis* apresentou maior ocorrência nos pacientes com perda óssea, independentemente do grupo estudado, mas sempre observou-se maior prevalência entre os dependentes químicos.

Nesse sentido, a diferença entre dependentes e os não dependentes é mais acentuada entre os periodontalmente sadios e aqueles que possuem gengivite, em função da baixa prevalência entre os membros do grupo controle. Os resultados de Amaral et al., [3] vão nesse mesmo sentido, observando-se semelhança na composição da microbiota em sítios com profundidade de sondagem maior ou igual a 4 mm do grupo dos pacientes sem dependência ao álcool comparado aos sítios saudáveis nos pacientes dependentes de álcool.

A baixa frequência de detecção de *T. forsythia* em indivíduos periodontalmente sadios está bem documentada em estudos realizados ao redor do mundo, onde esse microrganismo se mostra ligado a quadros progressivos de periodontite [50,52,56-58]. Os resultados aqui apresentados mostram que esse anaeróbio Gram-negativo apresentou uma associação com os parâmetros periodontais mais evidente do que a apresentada por *P. gingivalis* e *T. denticola*. Faveri et al., [19] , estudando o papel de periodontopatógenos na severidade da doença periodontal, observou que esse microrganismo apresentava a maior ocorrência em pacientes com episódios mais agressivos de periodontite. No presente estudo, não foram observados pacientes com periodontite agressiva, mas *T. forsythia* mostrou-se fortemente ligada a inflamação gengival e perda óssea periodontal quase sempre associada à presença da *P. gingivalis* e, em menor extensão, com *T. denticola*, como previamente observado por aqueles autores. Esta condição depõe um evidente sinergismo ecológico entre *Porphyromonas gingivalis* e *Tannerella forsythia*, já que as investigações

microbiológicas em pacientes com diversas condições periodontais relatam ocorrências semelhantes e simultâneas destes microrganismos nos sítios periodontais analisados [19,41,54].

Desde a década de 1960, cogita-se a possibilidade de participação de diferentes espiroquetas bucais no desenvolvimento da perda óssea periodontal. Estudos realizados principalmente na Europa Ocidental, Estados Unidos, Japão, Brasil, sudeste asiático [21,52,58-60] evidenciaram que *Treponema denticola*, a espiroqueta bucal mais amplamente estudada, apresenta relação com a perda de inserção conjuntiva e é detectada em frequência muito superior nos pacientes com periodontite ativa. A possibilidade de fermentar aminoácidos, invadir tecidos moles, como ocorre nas gengivites e periodontites necrosantes, além de liberar catabólitos tóxicos torna essa espécie microbiana, bem como demais espécies relacionadas, um alvo adequado para a avaliação dos efeitos ecológicos da dependência química sobre a microbiota residente. No presente estudo, o PCR revelou uma participação modesta de *T. denticola* nos dependentes e não dependentes, quando comparado com os estudos citados acima, embora essa última espécie tenha se mostrado prevalente entre os dependentes.

Os resultados do presente estudo confirmam a associação entre os membros do complexo vermelho e os parâmetros clínicos da periodontite e gengivite. *Porphyromonas gingivalis* e *Tanarella forsythia* foram associadas com sangramento a sondagem e mobilidade dental tanto nos pacientes com dependência química quanto no grupo controle, resultados estes que evidenciam o perfil clássico de atuação de membros do complexo vermelho na progressão da doença periodontal, como descrito por Socransky et al., [22]. Assim como no presente estudo, Ito et al., [55] também observou a presença de *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *T. denticola* em pacientes com sangramento a sondagem e elevada profundidade de sondagem, porém no presente

estudo a associação da *T. denticola*, agente principal em periodontites ulcerativas necrosantes e em gengivites ulcerativas necrosantes, somente foi encontrada nos pacientes do grupo controle com mobilidade dental e sangramento gengival e sua ocorrência apresenta significância estatística em pacientes com periodontite e gengivite do mesmo grupo.

A virulência desses anaeróbios do complexo vermelho ainda pode colaborar para a disseminação dos mesmos para fora da cavidade bucal, onde podem estar envolvidos em diversas infecções à distância, como celulites faciais [61], enfermidades sistêmicas ou profundas, como a aterosclerose das coronárias [62] ou mesmo infecções crônicas graves envolvendo os ossos do viscerocrânio, como as osteomielites dos maxilares [35]. Esses microrganismos são dotados de grande atividade proteolítica, capacidade de adesão e invasão de células do hospedeiro, como eritrócitos, células epiteliais, fibroblastos e outras, o que também facilita a evasão do sistema imunológico, potencial imunossupressor e indutor de inflamação, o que pode levar à destruição dos tecidos periodontais [24,54], que podem ser potencializados pelos efeitos tóxicos das drogas utilizadas.

6 Conclusões

Os dados obtidos no presente estudo permitiram as seguintes conclusões:

- a) Os pacientes com dependência química, particularmente os sadios e os portadores de gengivite, apresentam maior ocorrência dos membros do complexo vermelho, particularmente *P. gingivalis* e *T. forsythia*, do que os não dependentes com as mesmas condições periodontais;
 - b) Os microrganismos do complexo vermelho foram intimamente ligados aos parâmetros clínicos periodontais, como o sangramento e mobilidade dental;
 - c) Não foi possível correlacionar a participação dos microrganismos estudados e um perfil particular de consumo de drogas lícitas ou ilícitas.
-

7 Referências ³

- [1] World Health Organization. The ICD-10 classification of mental and behavioral disorders: clinical description and diagnostic guidelines. Geneva: World Health Organization, 1992.
- [2] J. Camí, M. Farré, Mechanisms of disease, drug addiction, N Engl J Med. 349 (2003) 975-86.
- [3] C.S.F. Amaral, R.R. Luiz, A.T.T. Leão, The relationship between alcohol dependence and periodontal disease, J. Periodontol. 79(2008) 993-998.
- [4] L.B. Duailibi, M. Ribeiro, R. Laranjeira, Profile of cocaine and crack users in Brazil, Cad. Saúde Pública. 24 (4) (2008) 545-557.
- [5] A.R.T. Rooban, R.K.E. Joshua, Dental and oral health status in drug abusers in Chennai, India: a cross-sectional study, J. Oral Maxillo Facial Surg. 12 (2008) 16-21.
- [6] R.D. Hayesa, C.K. Changa, A. Fernandes, M. Broadbentb, W. Leec, M. Hotopfc, R. Stewart, Associations between substance use disorder sub-groups, life expectancy and all-cause mortality in a large British specialist mental healthcare service, Drug and Alcohol Dependence. 118 (2011) 56-61.
- [7] M. Arendta, P. Munk-Jorgensena, L. Sherb, S.O.W. Jensen, Mortality among individuals with cannabis, cocaine, amphetamine, MDMA, and opioid use disorders: A nationwide follow-up study of Danish substance users in treatment, Drug and Alcohol Dependence. 114 (2011) 134-139.

³ As citações das referências no texto e a lista de referências estão de acordo com as normas da revista Anaerobe – ANEXO B.

- [8] A.D. O'Connor, D.E. Rusyniak, A. Bruno, Cerebrovascular and cardiovascular complications of alcohol and sympathomimetic drug abuse, *Med. Clin. N. Amer.* 89 (2005) 1343-1358.
 - [9] G. D'onofrio, B. Becker, R.H. Woolard, The impact of alcohol, tobacco, and other drug use and abuse in the emergency department, *Emerg. Med. Clin. N. Amer.* 24 (2006) 925-967.
 - [10] M.R. Irwin, L. Olmos, M. Wang, E.M. Valadare, S.J. Motivala, T. Fong, T. Newton, A. Butch, R. Olmstead, S.W. Cole, Cocaine dependence and acute cocaine induce decreases of monocyte proinflammatory cytokine expression across the diurnal period: autonomic mechanisms, *J. Pharmacol. Experiment. Ther.* 320 (2007) 507-515.
 - [11] H.S. Brand, S. Gonggrijp, C.J. Blanksma, Cocaine and oral health, *Brit. Dent. J.* 204 (2008) 365-369.
 - [12] R.T. Lange, G. L. Iverson, M.D. Franzen, Effects of day-of-injury alcohol intoxication on neuropsychological outcome in the acute recovery period following traumatic brain injury, *Arch. Clin. Neuropsychol.* 23 (2008) 809-822.
 - [13] C. McGrath, B. Chan, Oral health sensations associated with illicit drug abuse, *British Dental Journal.* 198 (2005) 159–162.
 - [14] M.M. D'amore et al., Oral health of substance-dependent individuals: impact of specific substances, *Journal of Substance Abuse Treatment.* 41 (2011) 179-185.
 - [15] J.A Jaffe, P.L. Kimmel, Chronic nephropathies of cocaine and heroin abuse: a critical review, *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 1 (2006) 655-667.
 - [16] B. Pieper, J.A. Hopper, Injection drug use and wound Care, *Nurs. Clin. N. Amer.* 40 (2005) 349-363.
-

-
- [17] A.M. Laslett, P. Dietze, R. Dwyer, The oral health of street-recruited injecting drug users: prevalence and correlates of problem, *Addiction*. 103 (2008) 1821-1825.
- [18] S.T. Hanna, Nicotine effect on cardiovascular system and ion channels, *J. Cardio. Pharmacol.* 47 (2006) 348-58.
- [19] M. Faveri, L.C. Figueiredo, P.M. Duarte, M.J. Mestnik, M.P.A. Mayer, M. Feres, Microbiological profile of untreated subjects with localized aggressive periodontitis, *J Clin Periodontol.* 36 (2009) 739-749.
- [20] W.J. Brazier, D.K. Dhariwal, D.W. Patton, K. Boshop, Ecstasy related periodontitis and mucosal ulceration - a case report, *Brit. Dent. J.* 194 (2003) 197-199.
- [21] C.A. Ramseier et al., Identification of pathogen and host-response markers correlated with periodontal disease, *J Periodontol.* 80 (2009) 436-446.
- [22] S.S. Socransky, A.D. Haffajee, M.A. Cugini, C. Smith, R. L. Kent Jr., Microbial complexes in subgingival plaque, *J Clin Periodontol.* 25 (1998) 134-144.
- [23] N. Wara-Aswapati, W. Pitiphat, L. Chanchaimongkon. S. Taweechaisupapong, J.A. Boch, I. Ishikawa, Red bacterial complex is associated with the severity of chronic periodontitis in a Thai population, *Oral Diseases*. 15(2009) 354-359.
- [24] M. Kebschull, P.N. Papapanou, Periodontal microbial complexes associated with specific cell and tissue responses, *J Clin Periodonto.* 38 (2011) 17-27.
- [25] F.H. Paim-Kessler, M. Barbosa-Terra, S. Faller, A. Ravy-Stolf, A. Carolina-Peuker, D. Benzano, Brazilian Asi Group, F. Pechansky, Crack users show high rates of antisocial personality disorder, engagement in illegal activities and other psychosocial problems, *Am J Addict.* 21 (4) (2012) 370-80.
- [26] T.D Rees, Drugs and oral disorders, *Periodontology* 2000. 18(1998) 21-36.
-

-
- [27] W. Maloney, The significance of illicit drug use to dental practice, *Webmed Central Dentistry, Drug Abuse*. 1(7) (2010) Wmc00455.
- [28] P. Corraini, V. Baelum, C.M. Pannuti, A.N. Pustiglioni, G.A. Romito, F.E. Pustiglioni, Periodontal attachment loss in anuntreated isolated population of Brazil, *J Periodontol*. 79 (2008) 710-20.
- [29] A. Ashimoto, C. Chen, I. Bakker, J. Slots, Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions, *Oral Microbiol Immunol*. 11 (1996) 266-273.
- [30] A.C.P.R Marques, O uso so álcool e a evolução do conceito de dependência de álcool e outras drogas e tratamento, *Revista IMESC*. 3 (2001) 73-86.
- [31] C. Guindalini, H. Vallada, G. Breen, R. Laranjeira, Concurrent crack and powder cocaine users from Sao Paulo: Do they represent a different group? *BMC Public Health*. 6 (2006) doi:10.1186/1471-2458-6-10.
- [32] S. Reddy, S. Kaul, C. Agrawal, M.G.S. Prasad, J. Agnihotri, N. Bhowmik, D. Amudha, S Kambali, Periodontal status amongst substance abusers in indian population, *ISRN Dentistry* 2012. doi:10.5402/2012/460856
- [33] R. Glaser, J.K. Kiecolt-Glaser, Stress-induced immune dysfunction: implications for health, *Nature Rev*. 5 (2005) 243-251.
- [34] M.B. Gotway, S.R. Marder, D.K. Hanks, J.W.T. Leung, S.K. Dawn, A.D. Gean, G.P. Reddy, P.A. Araoz, W.R. Webb, Thoracic complications of illicit drug use: an organ system approach, *RG*. 22 (2002) 119-135.
- [35] E. Gaetti-Jardim Jr, L.F. Landucci, K.L. Oliveira, I. Costa, R.V. Ranieri, A.C. Okamoto, C.M. Schweitzer, Microbiota asociated with infections of the jaws. *International Journal of Dentistry*. 2012, doi:10.1155/2012/369751.
- [36] E. Gaetti-Jardim Jr., L.M. Monti, F.I.N. Ciesielski, E.C. Gaetti-Jardim, A.C. Okamoto, C.M. Schweitzer, M.J. Avila-Campos. Subgingival microbiota from
-

Cebus apella (capuchin monkey) with different periodontal conditions, *Anaerobe*. 18 (2012) 263-269.

- [37] H. Friedman, C. Newton, T.W. Klein, Microbial infections, immunomodulation, and drugs of abuse, *Clin. Microbiol. Rev.* 16 (2003) 209–219.
 - [38] P.A. Versteeg, D.E. Slot, U. Velden, G.A. van der Weijden, Effect of cannabis usage on the oral environment a review, *Int. J. Dent. Hygiene*. 6 (2008) 315–320.
 - [39] D.T. Hamamoto, N.L. Rhodus, Methamphetamine abuse and dentistry, *Oral Diseases* 15 (2009) 27–37.
 - [40] E.V. Colodel, E.L.F.M. Silva, J.C. Zielak, W. Zaitter, E. Michel-Crosato, E. Pizzatto, Alterações bucais presentes em dependentes químicos, *RSBO*. 6 (2009) 45-48.
 - [41] C. Bodet, F. Chandad, D. Grenier, Pathogenic potential of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* and *Tannerella forsythia*, the red bacterial complex associated with periodontitis, *Pathologie Biologie*. 55 (2007) 154–162.
 - [42] J.J. Zambon et al., Cigarette smoking increases the risk for subgingival infection with periodontal pathogens, *J. Periodontol.* v. 67 (1996) 1050-1054.
 - [43] C. Kazor, W.G Taylor, W.J. Loesche, The prevalence of BANA-hydrolyzing periodontopathic bacteria in smokers, *J. Clin. Periodontol.* 26 (199) 814-821.
 - [44] M. Kubota, M. Tanno-Nakanishi, S. Yamada, K. Okuda, K. Ishihara, Effect of smoking on subgingival microflora of patients with periodontitis in Japa, *BMC Oral Health*. 2011. doi:10.1186/1472-6831-11-1.
 - [45] J.J. Kamma, M. Nakou, P.C. Baehni, Clinical and microbiological characteristics of smokers with early onset periodontitis, *J. Periodontal. Res.* 34 (1999) 25-33.
 - [46] F.M. Eggert, M.H. McLeod, G. Flowerdew, Effects of smoking and treatment status on periodontal bacteria: evidence that smoking influences control of
-

-
- periodontal bacteria at the mucosal surface of the gingival crevice, J Periodontol. 72 (2001) 1210-1220.
- [47] A.J. Van Winkelhoff, C.J. Bosch-Tijhof, E.G. Winkel, W.A. van der Reijden, Smoking affects the subgingival microflora in periodontitis, J. Periodontol. 72 (2001) 666–671.
- [48] S.C. Gomes, F.B. Piccinin, R.V. Oppermann, C. Susin, C.I. Nonnenmacher, R. Mutters, R.A. Marcantonio, Periodontal status in smokers and never-smokers: clinical findings and real-time polymerase chain reaction quantification of putative periodontal pathogens, J. Periodontol. 77 (2006) 1483-1490.
- [49] B. Gontijo, F.V. Bittencourt, L.F.S Lourenço, Skin manifestations of illicit drug use, An. Bras. Dermatol. 81 (2006) 307-17.
- [50] G.I. Lafaurie et al., Demographic, clinical and microbial aspects of chronic and aggressive periodontitis in Colombia: a multicenter study, J. Periodontol. 7 (2007) 629-39.
- [51] Y.M. Wu, J. Yan, D.M. Ojcius, C. Li-Li, G. Zhi-Yuan, P. Jian-Ping. Correlation between infections with different genotypes of human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in subgingival samples and periodontal status of patients, J. Clin. Microbiol. 45 2007 3665-3670.
- [52] T. Eguchi, et al., Microbial changes in patients with acute periodontal abscess after treatment detected by Pado test, Oral Dis. 14 (2008) 180-4.
- [53] G.R. Pearson, J. Hitti, K. Paul, R. Hirschi, M. Weibel, M. Rothen, R.E. Persson, *Tannerella forsythia* and *Pseudomonas aeruginosa* in subgingival bacterial samples from parous women, J. Periodontol. 79 (2008) 508-516.
- [54] B. Rescala, W. Rosalem Jr, R.P. Teles, R.G. Fischer, A.D. Haffajee, S.S. Socransky, A. Gustafsson, C.M. Figueredo, Immunologic and microbiologic
-

profiles of chronic and aggressive periodontitis subjects, *J. Periodontol.* 81 (2010) 1308-16.

- [55] A.K. Ito, K. Ishihara, S. Tomita, T. Kato, Y. Satoru, Investigation of subgingival profile of periodontopathic bacteria using polymerase chain reaction, *Bull Tokyo Dent.Coll.* 51(2010) 139-144.
 - [56] G. Dahlén, Non-odontogenic infections in dentistry. *Periodontology* 2000, 49, (2010) 7-12.
 - [57] L.A. Ximenez-Fyvie, et al., Description of the subgingival microbiota of periodontally untreated mexican subjects: chronic periodontitis and periodontal health, *J. Periodontol.* 77 (2006) 460-71.
 - [58] J.L. Ebersole, et al., Microbiologic and immunologic characteristics of periodontal disease in hispanic americans with type 2 diabetes, *J. Periodontol.* 79 (2008) 637-46.
 - [59] G. Mayanagi, et al., Detection frequency of periodontitis associated bacteria by polymerase chain reaction in subgingival and supragingival plaque of periodontitis and healthy subjects, *Oral Microbiol. Immunol.*, 19 (2004) 379-85.
 - [60] A.P.V. Colombo, et al., Effects of-non-surgical mechanical therapy on the subgingival microbiota of Brazilians with untreated chronic periodontitis: 9 month results. *J. Periodontol.* 76 (2005) 778-84.
 - [61] Y.M. Kouassi, B. Janvier, X. Dufour , G. Bouche, J.-M. Klossek, Microbiology of facial cellulitis related to dental infection, *Médecine et maladies infectieuses*, 41 (2011) 540–545.
 - [62] E. Gaetti-Jardim Jr, S.L. Marcelino, A.C.R. Feitosa, G.A. Romito, M.J. Avila-Campos, Quantitative detection of periodontopathic bacteria in atherosclerotic plaques from coronary arteries, *Journal of Medical Microbiology* (2009), 58, 1568–1575.
-

ANEXO A - Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa

FACULDADE DE ODONTOLOGIA - CÂMPUS DE ARAÇATUBA - JÚLIO DE	
--	---

PROJETO DE PESQUISA

Título: Condições Periodontais e Presença de Microrganismos do Complexo Vermelho de Socransky em Pacientes com Dependência Química.

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 03193412.1.0000.5420

Pesquisador: Elerson Gaetti Jardim Júnior

Instituição: Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 82186

Data da Relatoria: 13/08/2012

Apresentação do Projeto:

O projeto está dentro dos padrões propostos pelo CEP.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar microorganismos presentes no biofilme gengival em pessoas dependentes de drogas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há evidências de risco para os voluntários.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa está descrita dentro dos padrões exigidos e não apresenta, descrito na metodologia, nenhum fator que infrinja a legislação vigente.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Estão dentro das normas.

Recomendações:

Não há recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências identificadas.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O CEP acata a sugestão de aprovação do projeto.

ARACATUBA, 26 de Agosto de 2012



Assinado por:
Ana Claudia de Melo Stevanato Nakamune

Endereço: JOSE BONIFACIO 611/1350		CEP: 16.015-050
Bairro: VILA MENDONÇA		
UF: SP	Município: ARACATUBA	
Telefone: 1836-3632	Fax: 1836-3633	E-mail: adelbem@foa.unesp.br ; cep@foa.unesp.br

ANEXO B - Normas da revista Anaerobe.

Preparation

Use of wordprocessing software.

It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the wordprocessor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your wordprocessor.

Article structure

Subdivision - numbered sections .

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Experimental

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- Title. Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
 - Author names and affiliations. Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
 - Corresponding author. Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. Ensure that telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.
 - Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which
-

the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

A Graphical abstract is optional and should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership online. Authors must provide images that clearly represent the work described in the article. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. See <http://www.elsevier.com/graphicalabstracts> for examples. Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images also in accordance with all technical requirements: [Illustration Service](#).

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). See <http://www.elsevier.com/highlights> for examples.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

Nomenclature and Units

The complete Latin name (genus, species, authority, together with cultivar, strain or culture number where appropriate) should be cited for every organism at first mention. Thereafter the generic name may be abbreviated to the initial except where this could cause confusion. No further abbreviation is permitted.

Nomenclature of Microorganisms. Follow approved bacterial nomenclature to be found online at <http://www.dsmz.de/bactnom/bactname.htm>. Bacterial names with standing in nomenclature can be found online at <http://www.bacterio.cict.fr>. To use a name without standing in nomenclature, write the name in quotation marks at first citation within the text and within the title and abstract, and include an explanation within the text.

Genetic Nomenclature. Standard genetic nomenclature is to be used and any deviations should be endorsed by an appropriate authoritative body.

Database linking

Elsevier encourages authors to connect articles with external databases, giving their readers one-click access to relevant databases that help to build a better understanding of the described research. Please refer to relevant database identifiers using the following format in your article: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN). See <http://www.elsevier.com/databaselinking> for more information and a full list of supported databases.

Math formulae

Present simple formulae in the line of normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many wordprocessors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Table footnotes

Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Save text in illustrations as 'graphics' or enclose the font.
- Only use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times, Symbol.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Produce images near to the desired size of the printed version.
- Submit each figure as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:
<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalised, please 'save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):
EPS: Vector drawings. Embed the font or save the text as 'graphics'.
TIFF: Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.
TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is'.

Please do not:

- Supply files that are optimised for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF, EPS or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for color: in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

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

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Text graphics

Text graphics may be embedded in the text at the appropriate position. If you are working with LaTeX and have such features embedded in the text, these can be left. Further, high-resolution graphics files must be provided separately whether or not the graphics are embedded. See further under Electronic artwork.

Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

References**Citation in text**

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference style

Text: Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text.

The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

Example: '..... as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result'

List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

Examples:

Reference to a journal publication: [1] J. van der Geer, J.A.J. Hanraads, R.A. Lupton, The art of writing a scientific article, *J. Sci. Commun.* 163 (2010) 51–59.

Reference to a book: [2] W. Strunk Jr., E.B. White, *The Elements of Style*, fourth ed., Longman, New York, 2000.

Reference to a chapter in an edited book: [3] G.R. Mettam, L.B. Adams, How to prepare an electronic version of your article, in: B.S. Jones, R.Z. Smith (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*, E-Publishing Inc., New York, 2009, pp. 281–304.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to Index Medicus journal abbreviations: <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>; List of title word abbreviations: <http://www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php>; CAS (Chemical Abstracts Service): <http://www.cas.org/content/references/corejournals>.

Video data

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 50 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary data

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the

electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Submission checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item. Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address
- Telephone and fax numbers

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print, or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

ANEXO C – Questionário socioeconômico e cultural.

QUESTIONÁRIO REFERENTE À PESQUISA DE CONDIÇÕES DE SAÚDE BUCAL DE PACIENTES INTERNADOS PARA DESINTOXICAÇÃO (HOSPITAL BEBEDITA FERNANDES – FOA/UNESP)

Responsáveis: Prof. Dr. Elerson Gaetti-Jardim Jr., Prof. Dr. Gilberto Coclete, Pós-graduando Francisco Isaac Nicolás Ciesielski

NOME: _____ N. _____

IDADE: _____ SEXO: M [] F [] ESTADO CIVIL: _____

FILHOS: _____ ESCOLARIDADE _____

OCUPAÇÃO: _____

1. Você trabalhou com remuneração nos últimos 6 meses?

- A. Não trabalhei
- B. Período integral
- C. Período parcial
- D. Esporádico (bicos)
- E. Outro

2. Qual o grau de escolaridade de seu pai?

- A. Não recebeu educação formal
- B. Primeiro grau incompleto
- C. Primeiro grau completo
- D. Segundo grau incompleto
- E. Segundo grau completo / Superior Incompleto
- F. Superior completo

3. Qual o grau de escolaridade de sua mãe?

- A. Não recebeu educação formal
- B. Primeiro grau incompleto
- C. Primeiro grau completo
- D. Segundo grau incompleto
- E. Segundo grau completo / Superior incompleto
- F. Superior completo

4. Você mora com quem?

- A. Pais
- B. Cônjuge
- C. Amigos
- D. Sozinho
- E. Outros familiares
- F. Companheiro(a)

5. Você pratica a sua religião?

- A. Não tenho religião
- B. Não freqüento, porém oro / rezo ou acredito
- C. Freqüento menos que 1x / mês
- D. Freqüento pelo menos 2x / mês
- E. Freqüento 1x / semana
- F. Freqüento 2x / semana

6. Nos últimos 12 meses, você sentiu dificuldades para fazer amigos(as) em novos grupos?

- A. Não
- B. Sim

7. BEBIDA ALCOÓLICA A. Nunca tomei B. Tomei alguma vez na vida C. Não tomei no último ano D. Tomei no último ano	8. BEBIDA ALCOÓLICA A. Não tomei B. Menos que 1 vez por semana C. 1 ou mais vezes por semana D. Diariamente E. Duas ou três vezes por dia F. Quatro ou mais vezes por dia
9. TABACO (cigarros) A. Nunca fumei B. Fumei alguma vez na vida C. Não fumei no último ano D. Fumei no último ano	10. TABACO (cigarros) A. Não fumei B. Menos que 1 vez por semana C. 1 ou mais vezes por semana D. Diariamente E. Duas ou três vezes por dia F. Quatro ou mais vezes por dia
11. MACONHA OU HAXIXE A. Nunca fumei B. Fumei alguma vez na vida C. Não fumei no último ano D. Fumei no último ano	12. MACONHA OU HAXIXE A. Não fumei B. Menos que 1 vez por semana C. 1 ou mais vezes por semana D. Diariamente E. Duas ou três vezes por dia F. Quatro ou mais vezes por dia
13. ALUCINÓGENOS (LSD, Chá de cogumelo, Mescalina) A. Nunca usei B. Usei alguma vez na vida C. Não usei no último ano D. Usei no último ano	14. ALUCINÓGENOS A. Não usei B. Menos que 1 vez por semana C. 1 ou mais vezes por semana D. Diariamente E. Duas ou três vezes por dia F. Quatro ou mais vezes por dia
15. COCAINA (Exceto crack) A. Nunca usei B. Usei alguma vez na vida C. Não usei no último ano D. Usei no último ano	16. COCAINA (Exceto crack) A. Não usei B. Menos que 1 vez por semana C. 1 ou mais vezes por semana D. Diariamente E. Duas ou três vezes por dia F. Quatro ou mais vezes por dia
17. CRACK A. Nunca usei (nunca pipei) B. Usei alguma vez na vida C. Não usei no último ano D. Usei no último ano	18. CRACK A. Não usei (não pipei) B. Menos que 1 vez por semana C. 1 ou mais vezes por semana D. Diariamente E. Duas ou três vezes por dia F. Quatro ou mais vezes por dia

19. ANFETAMINAS (Hipopagin, Moderex, Inibex, Desobesi, Reativan, Pervetin, Preludin, fórmulas para emagrecimento) A. Nunca usei B. Usei alguma vez na vida C. Não usei no último ano D. Usei no último ano	20. ANFETAMINAS A. Não usei B. Menos que 1 vez por semana C. 1 ou mais vezes por semana D. Diariamente E. Duas ou três vezes por dia F. Quatro ou mais vezes por dia
21. ECSTASY A. Nunca usei B. Usei alguma vez na vida C. Não usei no último ano D. Usei no último ano	22. ECSTASY A. Não usei B. Menos que 1 vez por semana C. 1 ou mais vezes por semana D. Diariamente E. Duas ou três vezes por dia F. Quatro ou mais vezes por dia
23. SOLVENTES ORGÂNICOS (Lança-perfume, Loló, Cola, Gasolina, Tinta, Acetona, Aguarrás, Tíner, Éter, Esmalte, Tinta, Clorofórmio, Benzina) A. Nunca usei B. Usei alguma vez na vida C. Não usei no último ano D. Usei no último ano	24. SOLVENTES ORGÂNICOS A. Não usei B. Menos que 1 vez por semana C. 1 ou mais vezes por semana D. Diariamente E. Duas ou três vezes por dia F. Quatro ou mais vezes por dia
25. OUTRAS DROGAS (medicamentos, anabolizantes, alucinógenos) A. Nunca usei B. Usei alguma vez na vida C. Não usei no último ano D. Usei no último ano	26. OUTRAS DROGAS A. Não usei B. Menos que 1 vez por semana C. 1 ou mais vezes por semana D. Diariamente E. Duas ou três vezes por dia F. Quatro ou mais vezes por dia

27. Qual foi o principal motivo que o levou a fazer este uso pela primeira vez?

- A. Não fiz uso
B. Diversão ou prazer
C. Meus amigos / Namorada(o) usam
D. Por curiosidade
E. Alívio de tensão psicológica ou outros sintomas
F. Aumentar desempenho (no estudo, sexual, social)

28. Se você fez uso não médico de drogas (exceto álcool e tabaco), quem introduziu você neste uso?

- A. Não fiz uso
B. Família
C. Colegas de Faculdade ou escola/amigos/conhecidos
D. Namorado(a)/ companheiro
E. Outros
F. Dois ou mais dos acima

28.a - Qual a primeira droga que teve contato mais frequente?
A. Álcool B. Cigarro C. Maconha D. Crack E. Cocaína F. Outras

29. Considerando os últimos 12 meses, algum membro de sua família bebeu ou usou drogas a ponto de causar problemas em casa, no trabalho, ou com amigos?
A. Não B. Sim

30. Tem dores de cabeça freqüentes? A. Não B. Sim	31. Tem falta de apetite? A. Não B. Sim
32. Dorme mal? A. Não B. Sim	33. Assusta-se com facilidade? A. Não B. Sim
34. Tem tremores de mão? A. Não B. Sim	35. Sente-se nervoso(a), tenso(a) ou preocupado(a) ? A. Não B. Sim
36. Tem má digestão A. Não B. Sim	37. Tem dificuldade de pensar com clareza? A. Não B. Sim
38. Tem se sentido triste ultimamente? A. Não B. Sim	39. Tem se sentido mais irritado que de costume? A. Não B. Sim
40. Encontra dificuldades para realizar com satisfação suas atividades diárias? A. Não B. Sim	41. Tem dificuldades para tomar decisões? A. Não B. Sim
42. Tem dificuldades no serviço (seu trabalho é penoso, causa-lhe sofrimento)? A. Não B. Sim	43. É incapaz de desempenhar um papel útil em sua vida? A. Não B. Sim
44. Tem perdido o interesse pelas coisas? A. Não B. Sim	45. Você se sente uma pessoa inútil, sem préstimo? A. Não B. Sim
48. Tem sensações desagradáveis no estômago? A. Não B. Sim	49. Você se cansa com facilidade? A. Não B. Sim

50. Sente que tem alguém que, de alguma maneira, quer lhe fazer mal? A. Não B. Sim	51. Sente dores na região da face ou nos dentes? A. Não B. Sim
52. Tem notado alguma interferência ou outro problema estranho com seu pensamento ? A. Não B. Sim	53. Ouve vozes que não sabe de onde vêm, ou que outras pessoas não podem ouvir ? A. Não B. Sim
54. Você tem algum outro problema de saúde? A- Não B- Sim	55. Teve algum comportamento que pudesse ser infectado por HIV (drogas injetáveis, relações sexuais sem proteção) A – Não B – Sim
56. Teve algum envolvimento criminal pelo uso de drogas? A – Sim B – Não	57 – Escova os dentes diariamente? A – Sim B – Não
58 – Quantas vezes? A – Uma B – Duas C – Três ou mais	59 – Visitou algum dentista nos últimos 6 meses? A – Sim B – Não
60 – Acredita que o uso de drogas interfere na saúde bucal? A – Sim B – Não	61 – Outras observações

ANEXO D1 - **Tabela 1** - Sequência de oligonucleotídeos dos iniciadores para detecção do complexo vermelho de Socransky e demais microrganismos.

Microrganismo	Oligonucleotídeos	Temp.	Amplicon
		Anel. ¹	(pb) ²
<i>C. albicans</i>	5' GCC GGT GAC GCT CCA AGA GCT G 3'	55 °C	158
	5' CCG TGT TCA ATT GGG TAT CTC AAG GTC 3'		
<i>E. corrodens</i>	5' CTA ATA CCG CAT ACG TCC TAA 3'	45 °C	688
	5' CTA CTA AGC AAT CAA GTT GCC C 3'		
<i>Mollicutes</i>	5' GGG AGC AAA CAC GAT TAG ATA CCC T 3'	55 °C	270
	5' TGC ACC ATC TGT CAC TCT GTT AAC CTC 3'		
<i>P. gingivalis</i>	5' AGG CAG CTT GCC ATA CTG CG 3'	60 °C	404
	5' ACT GTT AGC AAC TAC CGA TGT 3'		
<i>P. intermedia</i>	5' TTT GTT GGG GAG TAA AGC GGG 3'	55 °C	575
	5' TCA ACA TCT CTG TAT CCTGCG T 3'		
<i>P. loescheii</i>	5' TGC CAA CTC CCG ATT TC 3'	54 °C	637
	5' TAC ACC AAG GTT TTC CCC 3'		

Continuação da tabela 1 - Sequência de oligonucleotídeos dos iniciadores para detecção do complexo vermelho de Socransky e demais microrganismos.

<i>P. micra</i>	5' TCG AAC GTG ATT TTT GTG GA 5'	55°C	1074
	5' TCC AGA GTT CCC ACC TCT 3'		
<i>P. nigrescens</i>	5' ATG AAA CAA AGG TTT TCC GGT AAG	55°C	8804
	5' CCC ACG TCT CTG TGG GCT GCG 3'		
<i>T. forsythia</i>	5' GCG TAT GTA ACC TGC CCG CA 3'	60°C	641
	5' TGC TTC AGT GTC AGT TAT ACC T 3'		
<i>T. denticola</i>	5' AAG GCG GTA GAG CCG CCG CTC A 3'	55°C	311
	5' AGC CGC TGT CGA AAA GCC CA 3'		

¹Temp. Anel. = Temperatura de anelamento do primer DNA da amostra;

²pb = pares de bases que quantificam o tamanho do amplicon formado.

ANEXO D2 - **Tabela 2** - Associações de drogas utilizadas pelos pacientes com dependência química.

Drogas e suas associações	n (%)
pacientes que não responderam*	60 (55,5)
álcool+tabaco	16 (33,3)
álcool	6 (12,5)
álcool+tabaco+maconha+cocaína+crack	6 (12,5)
álcool+tabaco+cocaína	2 (4,2)
álcool+tabaco+maconha+alucinógeno+cocaína+crack	2 (4,2)
álcool+tabaco+alucinógeno+cocaína+crack+solventes+outra	2 (4,2)
álcool+tabaco+maconha+crack	2 (4,2)
álcool+tabaco+cocaína+crack	1 (2,1)
álcool+tabaco+maconha+cocaína+crack+anfetamina	1 (2,1)
álcool+tabaco+maconha+cocaína	1 (2,1)
álcool+tabaco+crack	1 (2,1)
álcool+tabaco+alucinógeno+cocaína+crack	1 (2,1)
álcool+tabaco+maconha	1 (2,1)
álcool+tabaco+maconha+cocaína+crack+outras	1 (2,1)
álcool+tabaco+maconha+cocaína+crack+anfetamina+	1 (2,1)
ecstasy+solventes+outras	
álcool+cocaína	1 (2,1)
tabaco+maconha	1 (2,1)
tabaco+alucinógeno+cocaína+crack+solventes+outra	1 (2,1)
tabaco	1 (2,1)

*Alguns pacientes negaram-se a responder sobre sua condição de dependência.

ANEXO D3 - **Tabela 3** - Aspectos comportamentais e psicológicos de pacientes com dependência química e do grupo controle.

Comportamentos	Pacientes n(%)	
	Dependentes ¹	Controle ²
Apreensão	19 (17,6)	8 (8,0)
Nervosismo	31 (28,7)	14 (14,0)
Depressão	35 (32,4)	6 (6,0)
Irritabilidade	26 (24,1)	6 (6,0)
Prostração	15 (13,9)	4 (4,0)

¹Total de dados válidos: 108 indivíduos;

²Total de dados válidos: 100 indivíduos.

ANEXO D4 - **Tabela 4** – Ocorrência de microrganismos do complexo vermelho de Socransky em pacientes com dependência química. Agrupados todos os resultados obtidos com os diferentes espécimes clínicos.

Condições bucais	Microrganismo n (%)		
	<i>P. gingivalis</i>	<i>T. forsythia</i>	<i>T. denticola</i>
Periodontite (n=18)	11(61,1)	17(94,4)**	9 (50,0)
Gengivite (n=44)	30(68,2)	24(77,2)*	36(81,8)
Sadios (n=28)	16(57,1)	15(53,5)	20(71,4)

¹Total de dados válidos: 90 indivíduos.

*Estatisticamente significante com $p < 0,05$.

**Estatisticamente significante com $p < 0,01$

ANEXO D5 - Tabela 5 – Ocorrência de microrganismos do complexo vermelho de Socransky nos pacientes do grupo controle. Agrupados todos os resultados obtidos com os diferentes espécimes clínicos.

Condições bucais	Microrganismo n (%)		
	<i>P. gingivalis</i>	<i>T. forsythia</i>	<i>T. denticola</i>
Periodontite (n=20)	14 (71,7)**	18 (90,0)**	11 (55,0)*
Gengivite (n=30)	13 (43,3)*	12 (50,0)*	20 (66,7)**
Sadios (n=50)	11 (22,0)	14 (28,5)	5 (10,0)

¹Total de dados válidos: 100 indivíduos.

*Estatisticamente significante com $p < 0,05$.

**Estatisticamente significante com $p < 0,01$

ANEXO D6 - Tabela 6 – Ocorrência dos demais microrganismos avaliados nos pacientes com dependência química. Dados referentes a todos os espécimes clínicos reunidos.

Condições	Microrganismos n (%) ¹							
	bucais	<i>C. albicans</i>	<i>E. corrodens</i>	<i>Mollicutes</i>	<i>P. micra</i>	<i>P. intermedia</i>	<i>P. loeschei</i>	<i>P. nigrescens</i>
Periodontite		3 (16,7)	7 (39,0)	15 (83,3)	2 (11,1)	15 (83,3)*	10 (55,5)*	5 (27,8)
Gengivite		13 (29,5)	10 (22,7)	32 (72,73)	7 (15,9)	29 (65,9)	17 (38,6)	14 (31,8)
Sadios		12 (42,8)*	12 (42,8)	19 (67,9)	2 (7,14)	15 (53,5)	8 (28,5)	9 (32,1)
Total		28 (31,1)	29 (32,2)	66 (73,3)	11 (12,2)	59 (65,6)	35 (38,9)	28 (31,1)

¹Total de dados válidos: 90 indivíduos; 18 indivíduos com periodontite; 44 indivíduos com gengivite; 28 indivíduos sadios.

*Estatisticamente significante com $p < 0,05$.

**Estatisticamente significante com $p < 0,01$

ANEXO D7 - Tabela 7 – Ocorrência dos demais microrganismos avaliados nos pacientes do grupo controle. Dados referentes a todos os espécimes clínicos reunidos.

Condições bucais	Microrganismos n (%)¹						
	<i>C. albicans</i>	<i>E. corrodens</i>	<i>Mollicutes</i>	<i>P. micra</i>	<i>P. intermedia</i>	<i>P. loeschei</i>	<i>P. nigrescens</i>
Periodontite	3 (15,0)	6 (30,0)	15 (75,0)**	4 (20,0)	13 (65,0)**	6 (30,0)*	6 (30,0)*
Gengivite	3 (10,0)	11 (36,7)	25 (83,3)**	9 (30,0)	19 (63,3)**	11 (36,7)*	10(33,3)*
Sadios	4 (8,0)	13 (26,0)	23 (46,0)	7 (14,0)	15 (30,0)	7 (14,0)	9 (18,0)
Total	10 (10,)	30 (30,0)	73 (73,0)	20 (20,0)	47 (47,0)	24 (24,0)	25 (25,0)

¹Total de dados válidos: 100 indivíduos; 20 indivíduos com periodontite; 30 indivíduos com gengivite; 50 indivíduos sadios.

*Estatisticamente significativa com $p < 0,05$.

**Estatisticamente significativa com $p < 0,01$

ANEXO D8 - Tabela 8 – Presença dos microrganismos do complexo vermelho de Socransky no biofilme subgengival dos pacientes com dependência química e do grupo controle

Condições	Pacientes n (%)					
	Dependentes ¹			Controle ²		
	<i>Pg</i> ³	<i>Tf</i> ⁴	<i>Td</i> ⁵	<i>Pg</i>	<i>Tf</i>	<i>Td</i>
Periodontite	9 (50,0)	16 (89,0)	8 (44,4)	14 (71,7)	18 (90,0)	11 (55,0)
Gengivite	22 (50,0)	31 (70,4)	27 (61,3)	13 (43,3)	12 (50,0)	20 (66,7)
Sadios	8 (50,0)	12 (80,0)	13 (65)	11 (22,0)	14 (28,5)	5 (10,0)

¹Total de dados válidos: 90 indivíduos; 18 indivíduos com periodontite; 44 indivíduos com gengivite; 28 indivíduos sadios;

²Total de dados válidos: 100 indivíduos; 20 indivíduos com periodontite; 30 indivíduos com gengivite; 50 indivíduos sadios;

³*P. gingivalis*;

⁴*T. forsythia*;

⁵*T. denticola*.