

RAQUEL CHRISTINA BARBOZA GOMES

***HELICOBACTER PYLORI* PRESENTE NO BIOFILME
DENTAL COMO FONTE DE REINFECÇÃO DA
MUCOSA GÁSTRICA**

Tese apresentada ao Programa Integrado de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal da Paraíba e Universidade Federal da Bahia, em cumprimento às exigências para a obtenção do título de Doutora em Odontologia. Área de concentração: Estomatologia.

Orientador: Profº Dr. Lino João da Costa

Co-orientador: Profº Dr. Demétrius Antonio Machado de Araújo

JOÃO PESSOA

2006

RAQUEL CHRISTINA BARBOZA GOMES

**HELICOBACTER PYLORI PRESENTE NO BIOFILME DENTAL COMO
FONTE DE REINFECÇÃO DA MUCOSA GÁSTRICA**

Tese apresentada ao Programa Integrado de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal da Paraíba e Universidade Federal da Bahia, em cumprimento às exigências para a obtenção do título de Doutora em Odontologia. Área de concentração: Estomatologia.

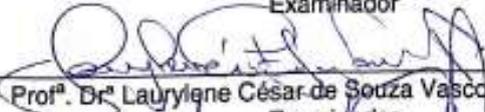
Aprovada em 15/12/2006

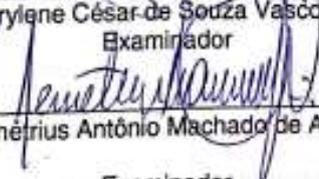
BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Lino João da Costa - UFPB
Orientador

Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk - USP
Examinador

Prof.^a. Dr.^a Ruthinéia Diogenes Alves Uchoa Lins – UEPB
Examinador


Prof.^a. Dr.^a Laurylene César de Souza Vasconcelos – UFPB
Examinador


Prof. Dr. Demétrius Antônio Machado de Araújo - UFPB
Examinador

**Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação**

G633h Gomes, Raquel Christina Barboza.

Helicobacter pylori presente no biofilme dental como fonte de reinfecção da mucosa gástrica / Raquel Christina Barboza Gomes. - João Pessoa, 2006.
105 f. : il.

Orientação: Lino João da Costa.

Coorientação: Demétrius Antonio Machado de Araújo.
Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

1. Helicobacter pylori. 2. Biofilme dental. 3. Tratamento periodontal. I. Costa, Lino João da. II. Araújo, Demétrius Antonio Machado de. III. Título.

UFPB/BC

Aos meus pais, José Maria e Normelita, pelo imenso amor, pela renúncia incondicional e por terem me ensinado os verdadeiros valores da vida.

Ao meu filho, Daniel, cujo amor me aquece e nutre, fazendo feliz a minha existência, minha verdadeira razão de viver.

A Deus, por ter-me proporcionado as oportunidades de crescimento, mostrando-me sempre uma saída para as dificuldades, não me deixando desanimar.

Dedico.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A todos que fazem parte da minha família pelo apoio, amor e carinho, os quais me fizeram sentir forte e segura dos meus ideais.

Aos meus amigos, pelo imenso amor, que nos momentos de maior dificuldade seguraram minhas mãos, não me deixando desistir.

Ao meu Orientador Prof^o. Dr. Lino João da Costa pelas orientações, apoio e colaborações.

Ao Prof^o Heraldo Rocha pela sua grande colaboração, não só na elaboração do projeto, mas também na sua viabilização.

Ao Prof^o Demétrius Antônio pela colaboração e apoio durante todo o desenvolvimento da parte laboratorial da pesquisa.

À Prof^a Solange Costa pelo imenso apoio, carinho e dedicação.

À Tereza Cristina (T-Cris) pelo apoio irrestrito, no laboratório e em todos os momentos, não me deixando desanimar ou desistir frente as minhas limitações laboratoriais.

AGRADECIMENTOS

Ao Corpo Docente da Pós-Graduação em Odontologia por todos os ensinamentos.

*Aos Médicos Dr. Augusto Fraga, Dr. Carlos Feitosa, Dr. Mario Uchôa e Dr. Marcelo Germóglio pela presteza com que realizaram todas as endoscopias, pelo suporte dado aos pacientes na área da gastroenterologia e pelas elucidações das dúvidas frente ao *Helicobacter pylori*.*

Aos funcionários do CEDIPA (Centro de Endoscopia da Paraíba) pelo carinho com que me acolheram e abraçaram a pesquisa.

Aos funcionários do DBM (Departamento de Biologia Molecular) pela solicitude em colaborar.

Aos funcionários da Pós-Graduação em Odontologia pela atenção e ajuda dedicada.

À bibliotecária Izabel França por todo o carinho e cuidado despendido na correção desse trabalho.

*Ao Laboratório Medley pela doação das medicações utilizadas para Terapêutica Sistêmica do *Helicobacter pylori*.*

A todos os colegas que compõe a turma de Doutorado em Odontologia de 2004 por ter-me enriquecido de conhecimento e de experiências de vida.

À UEPB por todo empenho em prol da qualificação do Docente.

Ao chefe do departamento de Odontologia da UEPB Prof. Silvo Romero por ter viabilizado a conclusão do estudo.

As colegas da Disciplina de Periodontia Prof^a Maria das Neves e Prof^a Ruthineia Alves pelo apoio e colaboração.

Ao Prof. Edmilson Mazza por sua dedicação na realização do Tratamento Estatístico dos resultados.

Enfim, a todos que direta e indiretamente me auxiliaram na composição deste trabalho.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivos diagnosticar a presença do *Helicobacter pylori* no biofilme dental em pacientes dispépticos, determinando sua prevalência; avaliar a ação concomitante do tratamento sistêmico e do tratamento periodontal básico, na erradicação do *Helicobacter pylori* na mucosa gástrica e na boca de pacientes com sintomatologia dispéptica, comparando com a erradicação obtida pelos positivos só em estômago; avaliar a ação do tratamento periodontal básico sobre esta bactéria em pacientes infectados apenas na boca; Avaliar a ação do tratamento sistêmico sobre o *Helicobacter pylori* em pacientes infectados apenas na mucosa gástrica. Foram realizados exames bucais em 123 pacientes, e realizadas coletas de amostras a partir do biofilme dental e da mucosa gástrica através de Endoscopia Digestiva Alta. Das amostras coletadas foi extraído o DNA e na seqüência esse material foi submetido ao exame de PCR. Com diagnóstico comprovado da presença do *Helicobacter pylori*, os pacientes foram divididos nos seguintes Grupos: G I – Composto por 19 pacientes com *Helicobacter pylori* na mucosa gástrica e biofilme dental, sendo 16 destes submetidos tratamento sistêmico e ao tratamento periodontal básico; G II – Composto por 14 pacientes com *Helicobacter pylori* apenas no biofilme dental, sendo 8 destes submetidos ao tratamento periodontal básico; G III – Composto por 47 com *Helicobacter pylori* apenas na mucosa gástrica sendo 23 destes submetidos ao tratamento sistêmico; e G IV – Composto por 43 pacientes não infectados pelo *Helicobacter pylori*. Os resultados obtidos demonstraram que no grupo total (pacientes com sintomatologia dispéptica) a prevalência do *Helicobacter pylori* na boca foi de 19,51%, enquanto que para os infectados esse percentual foi de 33,75%. Nos GI e GII apenas um paciente de cada grupo não obteve a erradicação do microrganismo do biofilme dental após tratamento periodontal correspondendo a 6,2% e 12,5% respectivamente; nos GI e GIII, quatro (25%) e três (13%) dos pacientes, não obtiveram sucesso com a terapia sistêmica (Pyloripac® - Lansoprazol 30 mg (1), Claritromicina 500 mg (1), Amoxicilina (triidratada) 500 mg (2); duas vezes ao dia, durante sete dias). Concluiu-se que o *Helicobacter pylori* se apresenta com baixa prevalência na cavidade bucal; os pacientes infectados com o *Helicobacter pylori* na cavidade bucal e na mucosa estomacal, após a terapia sistêmica e Tratamento Periodontal Básico, obtiveram

níveis semelhantes de erradicação do microrganismo quando comparados aos pacientes infectados e tratados apenas na mucosa gástrica; o Tratamento Periodontal Básico mostrou-se eficaz na erradicação do *Helicobacter pylori* no biofilme em pacientes infectados em boca e estômago e só em boca

Palavras-chaves: *Helicobacter pylori*; Biofilme dental; Tratamento periodontal básico; IPC (Índice Periodontal Comunitário); PCR (Reação em Cadeia de Polimerase).

ABSTRACT

It was aimed in the present work (i) to diagnose the presence of *Helicobacter pylori* on biofilm in dyspeptic patients, by estimating its prevalence; (ii) to observe the concomitant action of systemic treatment and basic periodontal treatment for eradicating this microorganism in the gastric mucosa of mouth- and stomach-positive patients, by comparing with eradication obtained in stomach-positive patients; (iii) to evaluate the action of basic periodontal treatment of this bacterium in patient only infecting the mouth; (iv) as well to evaluate the action of systemic treatment of this bacterium in patient infected in the stomach. Buccal exams were performed in 123 patients and collection of samples was carried out from dental biofilm and gastric mucosa, through Upper Digestive Endoscopy. From the samples collected, DNA was extracted and sequencing reaction was performed in PCR – polymerase chain reaction. After confirming the presence of *H. pylori*, the patients were divided into Groups as follows: Group I, composed of 19 patients with *H. pylori* in the gastric mucosa and dental biofilm, 16 of them were treated; Group II, composed of 14 patients with *H. pylori* only on dental biofilm, eight of them were treated; Group III, composed of 47 patients with *H. pylori* only in the gastric mucosa, 23 of them were treated; and Group IV, composed of 43 patients not infected with this bacterium. The patients of Groups I and II received odontological treatment for eradicating *H. pylori* on dental biofilm. Patients of Groups I and III received systemic treatment for the eradication of *H. pylori* in the gastric mucosa. The results obtained were: the presence of *Helicobacter pylori* on biofilm in dyspeptic patients were 19,51% for all the Groups, and 33,75% for the patients infected in the mouth and stomach; in Groups I and II only one patient from each group did not have *H. pylori* eradicated from the dental film after periodontal treatment, corresponding of 6,2% and 12,5%, respectively; in Groups I and III, four (25%) and three (13%) patients did not succeed, respectively, with respect to systemic therapy with Pyloripac-Lansoprazol 30 mg (one capsule), Clarithromycin 500 mg (one capsule), Amoxicillin (trihydrated) 500 mg (two capsules). The medicament was taken half an hour before breakfast and as the case might be half an hour before dinner. It was concluded that: (a) *H. pylori* presented low prevalence in the buccal cavity; (b) patients infected with *H.*

pylori in the buccal cavity and gastric mucosa, after basic periodontal treatment showed similar levels of eradication of *H. pylori*, as compared to patients infected and with treatment applied only to their gastric mucosa. (c) the basic periodontal treatment showed to be effective for eradicating *H. pylori* on biofilm;

Key words: *Helicobacter pylori*; Dental Biofilm ; Basic Periodontal Treatment; Community Periodontal Index (CPI); PCR (Polymerasechain Reaction);

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Classificação das gastrites com base na topografia, morfologia e etiologia, segundo o Sistema Sydney, revisto em 1996 (MARQUES, LAUDANNA, 2001)	32
Quadro 2	Dentes 17 ao 14 (1º); 13 ao 23 (2º); 24 ao 27 (3º); 47 ao 44 (4º); 43 ao 33 (5º); 34 ao 37 (6º).	57
Quadro 3	Dentes 17 e 16 (1º); 11 (2º); 26 e 27 (3º); 47 e 46 (4º); 31 (5º); 36 e 37 (6º).	57
Quadro 4	Quadro 4 – Dentes 16 (1º); 11 (2º); 26 (3º); 46 (4º); 31 (5º); 36 (6º).	58

LISTA DE FOTOGRAFIAS

Foto 1	Termociclador (MJ Research – Ny, USA).	65
Foto 2	Cuba de eletroforese.	66
Foto 3	Corrida em cuba de eletroforese a 100 V.	66
Foto 4	Imagem foto-documentada.	67
Foto 5	ImageMaster® VDS (Pharmacia Biotech)	67
Foto 6	Imagem da foto-documentação dos resultados	72
Foto 7	Imagem da foto-documentação dos resultados	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Avaliação das variáveis: gênero, etnia e grau de instrução segundo o grupo.	69
Tabela 2	Avaliação das variáveis: uso de medicamento nas últimas 4 semanas, história familiar de úlcera péptica, história familiar de câncer gástrico (1º grau), antecedente pessoal de doença gastroduodenal e o tipo gastroduodenal, tabagismo e etilismo.	70
Tabela 3	Avaliação do segundo exame para HP no exame de boca segundo o grupo.	71
Tabela 4	Avaliação do segundo exame para HP no exame de estômago segundo o grupo.	72
Tabela 5	Avaliação do grupo segundo as variáveis: queixa principal que levou a fazer a endoscopia, diagnóstico da endoscopia, teste de uréase, Índice Periodontal Comunitário (IPC) e diagnóstico pós tratamento.	73
Tabela 6	Avaliação Índice Periodontal Comunitário (IPC) segundo o grupo.	74
Tabela 7	Estatísticas do índice periodontal segundo o grupo.	74
Tabela 8	Avaliação ocorrência de HP na boca no 1º exame segundo o índice periodontal.	75
Tabela 9	Avaliação ocorrência de HP na boca no segundo exame segundo o índice periodontal.	75
Tabela 10	Avaliação da ocorrência de HP no estômago no 1º exame segundo as variáveis: histórico na familiar de úlcera péptica, histórico familiar de câncer gástrico e antecedente pessoal de doença gastroduodenal.	76

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 HELICOBACTER PYLORI	19
2.1 HISTÓRICO	19
2.2 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E FISIOLÓGICAS	19
2.3 PATOGENIA	20
2.4 VIAS DE TRANSMISSÃO	23
2.5 DIAGNÓSTICO	26
2.6 PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO	29
2.7 INFECÇÃO E A OCORRÊNCIA DE PATOLOGIAS GÁSTRICAS	31
2.8 TRATAMENTO	35
2.9 <i>HELICOBACTER PYLORI</i> NA CAVIDADE BUCAL	36
3 BIOFILME DENTAL E SUA RELAÇÃO SAÚDE/ DOENÇA COM OS TECIDOS PERIODONTAIS	40
3.1 PROCEDIMENTOS BÁSICOS PERIODONTAIS	45
3.2. CONTROLE QUÍMICO DO BIOFILME – DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA	49
4 OBJETIVOS	53
5 CONSIDERAÇÕES METODOLÓGICAS	54
5.1 DELINEAMENTO E LOCAL DO ESTUDO	54
5.2. POPULAÇÃO	54
5.3. CRITÉRIOS PARA ELEGIBILIDADE DA AMOSTRA	54
5.3.1 INCLUSÃO	54
5.3.2 EXCLUSÃO	55
5.4 AMOSTRA	55
5.5. POSICIONAMENTO ÉTICO DA PESQUISA	56
5.6 PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS DO ESTUDO	56
5.6.1 INSTRUMENTO E TÉCNICA PARA COLETA DE DADOS	56
5.6.2 PROCEDIMENTOS PARA COLETA DE DADOS	57
5.6.3 PROCEDIMENTOS PARA COLETA DE DADOS CLÍNICOS	58
5.7 COLETA DO MATERIAL DO BIOFILME	59
5.7 COLETA DO MATERIAL DO BIOFILME	60
5.9 TRATAMENTO DA INFECÇÃO GÁSTRICA PELO <i>H. PYLORI</i>	60
5.10 EXTRAÇÃO DO DNA	63
5.11 EXTRAÇÃO DO DNA DA MUCOSA GÁSTRICA	64

5.12 EXTRAÇÃO DO DNA DO BIOFILME DENTAL	64
5.13 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)	64
5.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA	67
6 RESULTADOS	68
7 DISCUSSÃO	77
8 CONCLUSÃO	87
REFERÊNCIAS	88
APÊNDICES	104
ANEXO	108

1 INTRODUÇÃO

A infecção causada pelo *Helicobacter pylori* é hoje considerada a segunda mais prevalente no homem, suplantada apenas pela cárie dentária (MEDEIROS et al, 2001) e encontra-se envolvido na etiologia das doenças gástricas, como a gastrite crônica, úlcera gástrica ou duodenal, atrofia da mucosa, carcinoma e linfoma gástrico (NIH Consensus Conference, 1994)

A identificação desse microrganismo, em 1983, por Marshall e Warren e a rápida comprovação de sua participação em várias patologias gastroduodenais, repercutiu fortemente na prática médica, particularmente, nas clínicas que tratam dos distúrbios gastrointestinais. O resultado desse trabalho estabeleceu, de forma significativa, uma mudança na abordagem da doença do trato digestivo, cuja etiologia ainda permanecia obscura (COELHO, 1999).

A espécie *Helicobacter pylori* é caracterizada como um bacilo pequeno curvo ou espiralado, Gram-negativo, móvel, com quatro a seis flagelos unipolares embainhados, não esporulado e microaerófilo. Bioquimicamente, apresenta reações positivas para catalase, oxidase e urease (KONEMAN et al, 2001; LADEIRA, SALVADOR, RODRIGUES, 2003). A maioria das cepas de *Helicobacter pylori* é produtora de urease, enzima que lhe permite a estabilização na mucosa gástrica. Pela ação da urease, tem capacidade para promover a hidrólise da uréia, presente fisiologicamente no suco gástrico, obtendo como produto final a amônia. Este composto atua como receptor de íons H⁺, gerando pH neutro no interior da bactéria, atribuindo-lhe a resistência à acidez gástrica (MOBLEY, 2001, WEEKS e SANCHS, 2001).

As formas de transmissão do *Helicobacter pylori* ainda permanecem confusas e incertas. Ao certo, sabe-se que esta é uma bactéria não invasiva e frágil, só conseguindo atingir a mucosa gástrica pela através da cavidade bucal (KODAIRA et al, 2002).

As altas taxas de prevalência são registradas em indivíduos que vivem em condições de aglomeração humana, com insatisfatórios níveis de medidas sanitárias e o baixo nível sócio-econômico. Sugere-se que a principal via de transmissão seja da transferência direta de um indivíduo para outro, porém, ainda não é possível determinar se a via de transmissão é oral-oral ou fecal-oral

(MAPSSONE et al, 1993; LI et al, 1995; THOMAS et al, 1992; ROTHENBACHER et al, 1998).

A rota de transmissão oral-oral tem seu suporte na proposta de que a cavidade bucal pode funcionar como um reservatório da infecção e reinfecção por *Helicobacter pylori* (DESAI et al, 1991). Relatos de isolamento do *Helicobacter pylori* em biofilme dental (MAJMUDAR, SHAH, DHUMJIBHOY, DESAI, 1990; BANATVALA et al, 1993; NGUYEN et al, 1993; CAMMAROTA, 1996; AVCU et al, 2001) e saliva (FURGUSON et al, 1993; MAPSTONE et al, 1993; OSHOWO et al, 1998), proporcionam apoio indireto para transmissão oral-oral.

O *Helicobacter pylori*, presente no biofilme dental e no estômago, é muito freqüente em crianças (DESAI et al, 1991) e, não raro, em pacientes com sintomatologia dispéptica associada à gastrite (MAPSTONE et al, 1993; KHANDEKAR et al, 1993). Autores como Shames et al (1989), Song et al (2000), Kim et al (2000) afirmaram que este microrganismo, quando presente no biofilme, pode ser responsável pela recrudescência da infecção na mucosa gástrica, podendo a reinfecção ocorrer com a mesma cepa, já que isolaram cepas idênticas na mucosa gástrica e biofilme dental de um mesmo paciente.

A infecção por *Helicobacter pylori* pode ser diagnosticada por métodos invasivos, realizados por meio da Endoscopia Digestiva Alta, e não-invasivos. Entre os métodos invasivos, ressalta-se a PCR (Reação em Cadeia de Polimerase). A PCR é considerada o método de referência para detecção da infecção, nas diferentes regiões do estômago, por exibir maior sensibilidade (96%) e maior especificidade (100%) que os métodos convencionais de diagnóstico da presença desta bactéria (Mravak-Stipetic et al, 1998).

O tratamento do *Helicobacter pylori* objetiva sua completa eliminação do organismo infectado. O regime de erradicação do *Helicobacter pylori* precisa apresentar uma taxa de cura de cerca de 80%, com o menor efeito colateral e o mínimo de desenvolvimento de resistência (SUERBUM, MICHETTI, 2002). Embora a terapia sistêmica tenha demonstrado uma eficácia de 84% de cura no estômago, o percentual de erradicação de *Helicobacter pylori* presente na cavidade bucal, mais precisamente no biofilme, caiu sensivelmente para 7% dos casos. Relatos da não erradicação do *Helicobacter pylori* no estômago em pacientes também contaminados na boca, fortalecem a afirmação de que a cavidade bucal pode servir de

reservatório na reinfecção, após tratamento de erradicação (FAT-MOON SUK et al, 2002).

Os relatos da literatura nos despertam, para a necessidade de expandir nossos estudos, quanto à probabilidade de reinfecção do *Helicobacter pylori* na mucosa gástrica através do biofilme dental. Isto serviria como objetivo precípua de minimizar os danos causados por esse microrganismo a uma população mundial, visto que, a infecção é caracterizada por possuir alta prevalência, o que pode, num futuro próximo, transformá-la em um problema de saúde pública.

2 *HELICOBACTER PYLORI*

2.1 HISTÓRICO

A patogênese da gastrite, duodenite e úlcera duodenal, até pouco mais de duas décadas atrás, era atribuída basicamente ao equilíbrio entre os mecanismos de defesa do hospedeiro e secreções ácidas (WALT, 1981).

Bizzozero (1893 *apud* JANULAITYTÉ-GÜNTHER et al., 2003) foi o primeiro a observar e descrever um microrganismo espiralado encontrado no estômago de cão, o qual, após três décadas, foi confirmado por Hugo Salomon (1896).

No início do século XX, W. Krienitz (1906 *apud* JANULAITYTÉ-GÜNTHER et al., 2003) detectou bactérias espiraladas em estômagos de pacientes com câncer gástrico, comparadas as encontradas por Bizzozero e Hugo Salomon (JANULAITYTÉ-GÜNTHER et al., 2003).

Warren e Marshall (1983) descreveram a presença de bacilos curvos e espiralados dispersos no epitélio gástrico de pacientes que apresentavam o quadro de gastrite crônica ativa. Esse microrganismo apresentava características morfológicas e bioquímicas aparentemente diferenciadas, porém próximas da espécie já descrita, *Campylobacter jejuni*. (MARSHALL; WARREN, 1984).

Inicialmente, a espécie bacteriana foi descrita como *Campylobacter pyloridis* e depois *C. pylori*. Mas no final da década de 80, Goodwin et al. (1989) comprovaram que a bactéria em questão, se tratava de uma nova espécie, a qual foi atribuída o nome *Helicobacter pylori* (BONAMIGO et al., 1999; KONEMAN et al., 2001).

2.2 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E FISIOLÓGICAS

A espécie *Helicobacter pylori* caracteriza como um bacilo pequeno (0,5µm a 0,1µm de largura e 3µm de comprimento), curvo ou espiralado, Gram-

negativo, móvel com quatro a seis flagelos unipolares embainhados, não esporulado, microaerófilo, com temperatura ótima de crescimento entre 35 - 37° C, embora algumas cepas possam crescer a 42° C. Pode ser cultivada em meios não-seletivos com sangue, com crescimento entre 3 a 5 dias. Bioquimicamente, apresenta reações positivas para catalase, oxidase e urease (KONEMAN et al., 2001; LADEIRA; SALVADOR; RODRIGUES, 2003).

Quando esse microrganismo se encontra em situação de sobrevivência crítica, por meio da diminuição de nutrientes, incubação inadequada, presença de antibiótico e terapias prolongadas, no hospedeiro, assume a forma cocóide (BODE; MAUCH; MALFERTHEINER, 1993).

Essas formas cocóides não são cultiváveis por técnicas convencionais, pois se encontram mais implicadas com a transmissão, ao contrário da forma flagelada que são responsabilizadas pela infecção crônica no estômago (LEE; FOX; HAZEL, 1993).

A motilidade dessa bactéria é essencial para colonização, e os seus flagelos têm receptores possíveis de se adaptar ao ambiente gástrico (SUERBAUM; MICHETTI, 2002).

Young et al. (2001) afirmaram que a placa bacteriana, ou biofilme dental, apresenta tanto as formas de bastão espiralado como as cocóides, o que sugere que a transmissão oral-oral é viável quando o *Helicobacter pylori* encontra-se presente na boca.

2.3 PATOGENIA

A mucosa gástrica apresenta, em sua normalidade, barreiras que a protege contra infecções bacterianas. Essas barreiras são representadas tanto pelo muco, que envolve toda a parede interna do estômago, como pela presença do ácido clorídrico constante no seu interior (JENKS; KUSTERS, 2000; SUERBAUM; MICHETTI, 2002).

Helicobacter pylori é um patógeno extremamente adaptado às condições da mucosa gástrica. Utilizando lipases e proteases que fabrica, degrada a camada de muco, proporcionando, dessa forma, a sua penetração na mucosa.

Devido à sua morfologia de espiral e à presença de flagelos, consegue atravessar o muco, já destruído, aderindo-se às células epiteliais da mucosa, despertando no organismo infectado uma resposta imune (JENKS; KUSTERS, 2000; SUERBAUM; MICHETTI, 2002).

As conseqüências advindas da infecção por *Helicobacter pylori* resulta da complexa interação entre fatores relativos ao hospedeiro e a bactéria. O padrão e a distribuição da gastrite estão fortemente correlacionados com o risco do desenvolvimento de úlcera gástrica ou duodenal, da atrofia da mucosa, do carcinoma gástrico ou linfoma gástrico (SUERBAUM; MICHETTI, 2001).

Estudos indicam que o câncer gástrico pode estar relacionado a *Helicobacter pylori*, pelo fato deste microrganismo ocasionar na mucosa gástrica processos inflamatórios que induzem os danos oxidativos, os quais possivelmente estão associados à condições pré-neoplásicas (BAIK, et al., 1996; FOX; WANG, 2002).

Enquanto que o conhecimento sobre *Helicobacter pylori* progride continuamente, os fatores relacionados ao hospedeiro, que contribuem no processo de infecção e conseqüente desenvolvimento da doença, permanecem desconhecidos (LADEIRA; SALVADOR; RODRIGUES, 2003).

Nos estudos sobre *Helicobacter pylorie* sua patogenicidade, as cepas foram distribuídas em grupos, baseados na presença ou não da citotoxina vacuolante (*vacA*) e no antígeno CagA (TUMMURU et al. 1993).

O citotoxin antigen associated (*cagA*) foi o primeiro gene cepa-específico identificado no *Helicobacter pylori*, e está fortemente interligado ao risco de desenvolvimento de câncer gástrico (PEEK et al., 1999). Parsonnet et al. (1997) demonstraram que pacientes infectados por cepas que expressam o gene *cagA* possuem uma probabilidade três vezes maior de desenvolver câncer gástrico do que aqueles infectados por cepas *cagA*.

O gene *cagA* é considerado marcador da ilha de patogenicidade *cag* (*cag-Pai*), que possui de 35 a 40 kb (kilobases), comporta 31 genes e é encontrado em cerca de 60% das cepas ocidentais. A ilha *cag-Pai* atua como uma agulha e serve para injetar moléculas bacterianas na célula do hospedeiro, permitindo que a bactéria module vias do metabolismo celular nessas células, incluindo a expressão de próton-oncogênese (COVACCI et al., 1999).

Em relação à *vacA*, trabalhos mostram que todas as cepas de *Helicobacter pylori* expressam o 95-kD citotoxina vacuolar *vacA*. A *vacA* é uma exotoxina secretada que induz a formação de canais seletivos de ânions nas células epiteliais, levando à exsudação de uréia para a luz da mucosa gástrica. Essa exotoxina é um importante fator de virulência, pois contribui para a produção de alcalóides pela urease, podendo induzir danos ao DNA celular epitelial do interno gástrico (SALAMA et al., 2001; TOMBOLA et al., 2001; ATHERTON et al., 1995).

O gene *vacA* compreende duas partes variáveis, *s* e *m*. A região *s* está localizado no final da cadeia 5' e possui dois alelos, *s1* e *s2*. Para o alelo *s1*, existem três subtipos: *s1a*, *s1b* e *s1c*. A região média (*m*) possui os alelos *m1* e *m2* (ATHERTON et al., 1995). A combinação em mosaicos dos alelos da região *s* com os alelos da região *m* determina a produção de citoxinas responsáveis pelo grau de virulência da bactéria.

As cepas com os genótipos *vacA s1/m1* produzem grande quantidade de toxina, já as cepas *s1/m2* produzem uma quantidade moderada, e as cepas *s2/m2* pouca ou nenhuma toxina. As cepas *vacAs1a* parecem ser mais patogênicas que as *s1b* e a *s1c* ou *s2*, sendo estas mais relacionadas ao maior risco de dano às células epiteliais do que as do tipo *m2*. (ATHERTON, 1999; VAN-DOORN, 1998).

Thomazini et al. (2006), pesquisando a presença de *Helicobacter pylori* em pacientes com câncer gástrico, observaram que a infecção foi constatada, histologicamente, em 87,7% dos casos e pela PCR, para o gene *urease C*, em 95% dos casos, sendo a combinação alélica mais freqüente *cagA+* e *vacAs1/m1*. Estes resultados destacam a alta prevalência de infecção por *Helicobacter pylori* em pacientes com câncer gástrico, e confirma a sua relevância nessa patologia.

Um grande número de cepas de *Helicobacter pylori* produz a urease, enzima que lhe favorece a estabilização do ambiente. Pela ação da urease, uma enzima de alto peso molecular, a *Helicobacter pylori* promove a hidrólise da uréia, presente em condições fisiológicas no suco gástrico, obtendo como produto final a amônia. A amônia atua como receptor de íons H⁺, gerando pH neutro no interior da bactéria, atribuindo-lhe a resistência à acidez gástrica (MOBLEY, 2001; WEEKS; SANCHS, 2001). A urease representa 6% do total de toda proteína sintetizada por essa bactéria, demonstrando seu grande investimento energético motivado pela necessidade da colonização e sobrevivência (JENKS; KUSTERS, 2000).

Histologicamente, nas pessoas infectadas por *Helicobacter pylori*, observa-se uma resposta inflamatória que consiste, inicialmente, no recrutamento de neutrófilos, seguidos pelos linfócitos T e B, células plasmáticas, macrófagos, ao longo das necessidades das células epiteliais. Esta resposta é disparada sem que haja necessidade da bactéria invadir a mucosa, sendo apenas suficiente sua adesão para desencadear o processo (SUERBUM; MICHETTI, 2002).

2.4 VIAS DE TRANSMISSÃO

Nas duas últimas décadas o *Helicobacter pylori* tornou-se uma das bactérias mais estudadas pela comunidade científica. Essa investigação permitiu caracterizar muitos aspectos fisiológicos desse microrganismo, assim como determinar a sua prevalência na população humana em diferentes países e esclarecer seu papel no desenvolvimento de certas doenças. Entretanto, a rota ou rotas de transmissão entre os indivíduos ainda não estão definidas (KODAIRA et al., 2002; LI et al., 1995; MAPSSONE et al., 1993).

Vários conceitos relacionados à transmissão ainda permanecem completamente obscuros, o que oferece uma grande dificuldade de elaboração de normas para a prevenção da doença (KODAIRA et al., 2002).

O único fato universalmente aceito é que *Helicobacter pylori* é uma bactéria não invasiva e frágil em condições laboratoriais, só conseguindo atingir a mucosa gástrica pela boca (KODAIRA et al., 2002).

Devido às altas taxas de prevalência em indivíduos que vivem em condições de aglomeração humana, sugere-se que a principal via de transmissão seja da transferência direta de um indivíduo para outro, porém, ainda não é possível determinar se a via de transmissão é oral-oral ou fecal-oral (LI et al., 1995; MAPSSONE et al., 1993; ROTHENBACHER et al., 1998; THOMAS et al., 1992).

A rota de transmissão oral-oral tem seu suporte na proposta de que a cavidade bucal pode funcionar como um reservatório da infecção e reinfecção por *Helicobacter pylori*, pois a regurgitação do suco gástrico pode contaminar a boca, predispondo-a a colonização por esta bactéria, durante um tempo não determinado. Além disso, observa-se que o tratamento da infecção por *Helicobacter pylori* por via

sistêmica não erradica o agente na placa dentária, permitindo que a boca atue como reservatório permanente desse microrganismo (DESAI et al., 1991).

Vários estudos sugerem importante participação da via oral-oral na transmissão de *Helicobacter pylori*. Na Colômbia foi detectada uma maior frequência da infecção entre os indivíduos que bebem em copos previamente utilizados por outras pessoas e não lavados. Mecanismo de transmissão similar ocorre na China, onde pessoas têm o hábito de se alimentar no mesmo recipiente e com os mesmos talheres (chopsticks), favorecendo a contaminação (CHOW et al., 1995; GOODMAN et al., 1996) e na Gâmbia, pois tigelas comuns são usadas em refeições pelas famílias, que se alimentam com suas próprias mãos (GOODMAN et al., 1996).

Na África observou-se que a pré-mastigação dos alimentos, feito pelas mães antes de oferecê-los às crianças, mostrou-se ser um importante fator de risco para infecção por *Helicobacter pylori* (ALBENQUE et al., 1990; CHOW et al., 1995). Os autores responsáveis pelo trabalho admitiram ainda que o ato das mães soprarem os alimentos antes de oferecerem aos filhos, também representa um significativo meio de transmissão desse agente para as crianças (ALBENQUE et al., 1990).

Song et al. (2000b), estudando “*Primers*” específicos para a cavidade bucal, encontrou, em análise de saliva, a mesma cepa de *Helicobacter pylori* infectando mãe e filha, o que sugere que a cavidade bucal possa servir como um permanente reservatório desta bactéria, e enfatiza a importância da rota oral-oral como meio de transmissão. Neste mesmo estudo pode ser também identificados diferentes tipos de cepas do microrganismo em um mesmo indivíduo, tanto na boca como no estômago, o que levou os autores a sugerirem que a boca pode servir de reservatório para vários tipos de cepas de *Helicobacter pylori*.

Resultados semelhantes foram encontrados por outros autores quando utilizando a técnica da PCR, em amostras da cavidade bucal e biópsias de estômago, observaram que seis entre oito indivíduos avaliados eram infectados por diferentes cepas de *Helicobacter pylori* (OWEN et al., 1994).

Há casos descritos de pacientes reinfetados com cepas idênticas às de suas esposas assintomáticas, levantando-se a hipótese da transmissão via oral-oral entre marido e mulher, por meio da saliva contaminada com o suco gástrico, sugerindo que a infecção ou reinfecção podem ocorrer por disseminação pessoa-pessoa (SCHUTZE et al., 1995).

Já a via de transmissão fecal-oral pode ser associada à curva de prevalência da hepatite A, a qual está relacionada à idade e funciona como marcador para transmissão de agentes infecciosos, por contaminação fecal-oral. Percebe-se que há um paralelismo entre as curvas de prevalência de *Helicobacter pylori* e da hepatite A, em grande parte da população (KODAIRA et al. 2002).

Na Gâmbia evidenciaram a presença de *Helicobacter pylori* em amostras de fezes de nove das 23 crianças avaliadas, com idade entre três e 27 meses. Esses resultados não foram bem aceitos, pois parte das crianças apresentavam diarreia e/ou acloridria, aspectos que não foram avaliados no estudo. Após essa pesquisa autores conseguiram isolar o agente em fezes de pacientes que não apresentavam acloridria ou diarreia (KELLY et al., 1994).

Apesar da certeza da eliminação de *Helicobacter pylori* pelas fezes, ainda não se conhece o mecanismo exato de transmissão desse agente por essa via. Possivelmente, a contaminação da água pelas fezes seja responsável pela disseminação de agentes infecciosos, com transmissão fecal-oral na população (KODAIRA et al., 2002).

Hulter et al. (1996) e Goodman et al. (1996) em pesquisas no Peru e na Colômbia, respectivamente, identificaram por meio da PCR a presença de *Helicobacter pylori* em água consumida para beber.

Em indivíduos que comem vegetais crus, foi encontrada uma maior soropositividade de *Helicobacter pylori*, sugerindo que esses alimentos são potenciais vetores de transmissão, uma vez que podem ser contaminados pela água durante a irrigação ou durante a lavagem para o consumo (HOPKINS et al., 1990; GOODMAN et al., 1996).

Outra via de transmissão que deve ser abordada é a iatrogênica ou gastro-gástrica, na qual a dose infectante para aquisição natural da doença, ainda não é precisa.

Morris e Nicholson (1987), utilizando indivíduos adultos voluntários para evidenciar a dose infectante por *Helicobacter pylori*, mostraram que ocorreu infecção tanto nos que ingeriram no mínimo 10 bactérias a no máximo 3×10^5 . Esta é a dose infectante mínima para adultos, relatada até o momento.

Apesar do isolamento de *Helicobacter pylori* no suco gástrico de pacientes variar de 0% a 58%, este tipo de amostra pode ser considerada um material rico com esse microrganismo (10^5 bactérias/ml) capaz de servir como fonte

de infecção durante procedimentos diagnósticos realizados por via endoscópica (VINCENT et al., 1991).

2.5 DIAGNÓSTICO

A infecção por *Helicobacter pylori* pode ser diagnosticada por métodos invasivos, realizados por meio da Endoscopia Digestiva Alta, e não-invasivos. A escolha do tipo de teste a ser utilizado está na dependência da necessidade quanto à sensibilidade e especificidade exibida pelo método e das condições locais para a execução do exame (SUERBUM; MICHETTI, 2002).

Dentre os testes realizados através da endoscopia digestiva alta, podem ser citados (SUERBUM; MICHETTI, 2002):

a) Histopatologia: no exame histopatológico o espécime é colhido com uma pinça endoscópica, da região do antro e corpo gástrico. É um método considerado oneroso. Apresenta sensibilidade entre 93-99% e especificidade entre 95-99% (SUERBUM; MICHETTI, 2002).

b) Cultura: o material biopsiado é inoculado em placas, com meios específicos para *Helicobacter pylori*, em microaerofilia por três a cinco dias. Este método é considerado tecnicamente complexo devido à dificuldade do microrganismo em se desenvolver como cultura. Segundo Lee, Fox e Hazel, (1993) e Bode, Mauch e Malfertheiner (1993), as formas cocóides, frequentemente encontradas na cavidade bucal, são de difícil crescimento (SUERBUM; MICHETTI, 2002).

c) Teste rápido da urease: esse é o teste de primeira escolha, quando a endoscopia é clinicamente indicada. Ele permite uma detecção rápida e de baixo custo da atividade da urease no material coletado. O fragmento da biópsia é colocado em um meio contendo uréia e um indicador colorimétrico de pH. A *Helicobacter pylori* presente no material desdobra a uréia, ocorrendo à formação de amônia e, conseqüentemente, o aumento do pH, alterando a cor do indicador. Este método possui sensibilidade variável entre 89 a 98%, enquanto sua especificidade está entre 93 a 98%. A sensibilidade pode ser melhorada se forem feitas mais de uma biópsia,

no entanto, um falso negativo pode ocorrer se o paciente apresentar hemorragia ou se tiver sofrido uma hemorragia recente, assim como, naqueles que fizeram uso de antibióticos ou de componentes antissecretórios (SUERBUM; MICHETTI, 2002).

d) Reação em cadeia da polimerase (PCR): é uma técnica molecular utilizada para replicação do DNA, possibilitando a síntese de várias cópias de uma amostra de DNA, mesmo que muito pequena, em pouco tempo. Tem capacidade de detectar um microrganismo alvo em baixas concentrações, com alta especificidade. Esse microrganismo pode estar localizado em material de biópsia, suco gástrico, placa bacteriana, saliva ou sangue (ALBERTS et al., 2004; SUERBUM; MICHETTI, 2002).

A PCR (Reação em Cadeia de Polimerase) é realizada em termociclador que, através de ciclos sucessivos de diferentes temperaturas, proporciona a amplificação do DNA de interesse. Podem-se destacar três etapas da PCR (ALBERTS et al., 2004):

a) Desnaturação: processo no qual ocorre a separação da dupla fita de DNA, por meio da elevação da temperatura (entre 94 - 95°C) (ALBERTS et al., 2004);

b) Anelamento: uma vez separadas as fitas de DNA, a temperatura da reação é reduzida (entre 40 - 65°C), para pareamento dos iniciadores ou “*Primers*”, nas respectivas seqüências complementares vicinais à região alvo da amplificação. O “*Primer*” é uma seqüência sintética, de fita única, de uma região alvo do microrganismo, e a temperatura de anelamento está condicionada a seqüência do “*Primer*” utilizado (ALBERTS et al., 2004);

c) Extensão: eleva-se a temperatura para 72°C para que a enzima DNA polimerase posicione-se junto aos iniciadores que se anelaram anteriormente e comece a duplicação da fita, recrutando no meio os nucleotídeos que contenham as bases nitrogenadas complementares à fita molde (ALBERTS et al., 2004).

Todo o processo (desnaturação, anelamento e extensão) é repetido em ciclos (entre 25 - 40 vezes), até que se obtenha uma quantidade razoável do DNA

de interesse. A amplificação do DNA com “*Primers*” específicos pode constatar a presença do microrganismo alvo na amostra (ALBERTS et al., 2004).

A cada ciclo, novos fragmentos são gerados. Esses pequenos pedaços de DNA funcionam também como molde e assim poucos ciclos são necessários para que haja o predomínio de uma única espécie de fragmento de DNA, cujo comprimento corresponde à distância existente entre os dois iniciadores originais. Daí decorre o nome “reação em cadeia” pela polimerase e esta reação é capaz de detectar uma única molécula de DNA em uma amostra (ALBERTS et al., 2004).

Atualmente, a PCR utiliza uma DNA polimerase termo-estável, a *Taq* DNA polimerase, isolada de uma bactéria termofílica, *Thermus aquaticus*, que permanece estável mesmo sendo submetida a temperaturas elevadas durante os ciclos (KONEMAN et al., 2001).

Os testes não-invasivos são:

a) Teste respiratório da uréia: o primeiro passo para a realização desse teste é a ingestão pelo paciente da uréia marcada com os isótopos ^{14}C ou ^{13}C . A urease degrada a uréia, e dessa maneira há formação de dois compostos a amônia e o CO_2 . É feita assim a mensuração da quantidade de CO_2 exalada pela respiração do paciente. Este teste apresenta restrições para o uso em crianças e mulheres em idade fértil. No caso da sua utilização para o pós-tratamento, o teste deve ser realizado após o intervalo de quatro semanas, caso contrário pode-se incorrer em um falso negativo. Apresenta a sensibilidade e a especificidade maiores que 90% (SUERBUM, MICHETTI, 2002).

b) Sorologia: o teste sorológico é um exame considerado de baixo custo, e amplamente utilizado para o diagnóstico da infecção por *Helicobacter pylori* em pacientes antes do tratamento. Consiste na utilização do teste de ELISA para detecção de IgG (KONEMAN et al., 2001). Embora tenha sido provada que sua sensibilidade e especificidade são similares a um teste respiratório, resultados incompatíveis têm sido relatados em alguns laboratórios (SUERBUM, MICHETTI, 2002).

Atualmente, a detecção de *Helicobacter pylori* no estômago é feita por meio do teste de urease rápido, histológico ou cultura com material colhido por endoscopia. Nenhum teste de diagnóstico não-invasivo, como o sorológico ou teste

respiratório, pode ser usado no diagnóstico ou monitoramento de erradicação desse microrganismo após terapia (NAKAMURA, 2001). A presença de antígenos reativos entre bactérias bucais, como o *Campylobacter rectus*, pode interferir no diagnóstico da infecção por *Helicobacter pylori* (ISHIARA et al., 2001).

2.6 PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO

Helicobacter pylori possui distribuição cosmopolita e observa-se uma grande variedade de prevalência entre os países e, até mesmo, entre grupos populacionais em um mesmo país. (GO, 2002; PETERSON, 2002).

A infecção causada por esta bactéria é uma das mais comuns na espécie humana, sendo considerada uma infecção de ocorrência mundial, podendo atingir cerca de 40% da população nos países desenvolvidos, e 70% nos países em desenvolvimento (BLASER; BLERG, 2001; CAVE; HOFFMAN, 1996).

Diferentes estudos epidemiológicos demonstraram que a prevalência da infecção causada por *Helicobacter pylori* apresenta tendência a progredir com a idade. Essa progressão mostra-se maior nos países em desenvolvimento e em indivíduos de baixo nível sócio-econômico (AL-MOAGEL et al., 1990; GRAHAM et al., 1991; KIKUCHI, 2002; KEIN et al., 1991; HOPKINS et al., 1990).

Nos países em desenvolvimento a prevalência de *Helicobacter pylori* apresenta-se elevada, tanto em adulto quanto em criança, onde a transmissão do microrganismo pode ser facilitada por precárias condições de higiene, aglomerados populacionais e por contato direto entre as crianças e os adultos já infectados, aumentando o risco da contaminação infantil (BONAMIGO; LEITE; BAKOS, 1999; FIEDOREK et al., 1991; GRAHAM et al., 1991; MENDAL et al., 1992).

Nos países desenvolvidos, a infecção é rara em crianças menores de 10 anos, variando de 3,5 a 10% (BLECKER; HAUSER; LANCIERS, et al., 1993; PRIETO; POLANCO; LARRAUT et al., 1992). Já nos adultos a incidência da infecção varia de 15,5% a 33,4%, podendo acometer cerca de 40 a 60% dos indivíduos acima dos 60 anos de idade, (DOOLEY et al., 1989).

No Brasil, em estudo realizado na cidade de Belo Horizonte, com uma população de jovens, registrou-se a idade de três anos para o mais jovem paciente.

Os pesquisadores observaram que a positividade para infecção aumentava com a idade, atingindo 82% dos indivíduos com 12 anos (CARVALHO et al., 1991). Estes dados estão de acordo com os encontrados por Coelho et al. (1987) em adultos assintomáticos, nesta mesma cidade.

Os insatisfatórios níveis de medidas sanitárias e o baixo nível sócio-econômico constatados são apontados como os principais responsáveis pelo aumento da prevalência da infecção por *Helicobacter pylori* (O'ROURKE et al., 2003; SOUTO et al., 1998).

Outros estudos realizados no Brasil encontraram os seguintes percentuais de infecção causada por *Helicobacter pylori*: Rio de Janeiro – 59,5% (SOLARI et al., 1994); São Paulo – 76,3% (FERRAEI; GEOCZE; TRABULSI, 1989); Santa Maria (RS) – 83% (MELLO; MELLO, 1991); Nossa Senhora do Livramento (MG) – 84,7% (SOUTO et al., 1998); Botucatu (SP) – 85,18% (LADEIRA, 1997); Araçuaí (MG) – 87% (OLIVEIRA et al., 1999); Campinas (SP) – 89,6%, (MAGALHÃES et al., 1991); e São Luís (MA) – 96% (BEZERRA et al., 1996).

Dessa forma, a média percentual de prevalência de *Helicobacter pylori* é de cerca de 80%, salientando-se que esse número é resultado de pesquisas em indivíduos da camada socioeconômica baixa (MITCHELL et al., 2003; SOUTO et al., 1998).

Banatvala et al. (1993b), analisando a soro prevalência de *Helicobacter pylori* em 631 adultos e crianças, a partir do ano de nascimento, observaram que a soro positividade declinou cerca de 26% por década. Os autores concluíram que a infecção está se tornando menos freqüente nos últimos 20 anos e é predominantemente adquirida na infância e, quando não tratada, pode permanecer por décadas e provavelmente por toda a vida do indivíduo.

Os dados acima citados são de grande relevância, pois pesquisas demonstraram que o tempo de duração da infecção está relacionado ao desenvolvimento de patologias associadas, particularmente a doença ulcerativa péptica e o carcinoma gástrico (BOURK; JONES; SHERMAN, 1996; GOODMAN; CORREA; AUX, et al., 1996; LOGAN, 1999; NEALE; LOGAN, 1995).

A causa do declínio na prevalência de *Helicobacter pylori*, evidenciado por Banatvala et al. (1993b), pode estar associada com a história natural da gastrite causada por essa bactéria que, com o passar dos anos, tende a evoluir para uma

atrofia da mucosa gástrica, ocasionando ao microrganismo a perda do seu habitat no estômago (KODAIRA et al., 2002).

Por outro lado, Kodaira et al. (2002) afirmaram que a curva de prevalência da infecção por *Helicobacter pylori*, em relação à idade, apresenta um perfil próprio, independente de fatores sócio-econômicos, culturais, sexo e etnia. Estes autores observaram que, na infância, ocorre um rápido aumento da taxa de prevalência da infecção, particularmente nos primeiros cinco anos de vida. A partir dos 15 anos de idade aproximadamente, o quadro se modifica e o aumento da prevalência passa a ser lento e constante. Em indivíduos com idade superior a 60 anos, a curva de prevalência entra em leve declínio. (KODAIRA, 2002).

Alguns estudos apontam para um sensível aumento da prevalência da infecção por *Helicobacter pylori* população negra (GRAHAM et al., 1991; GRAHAM; MALATY, 1994; HOPKINS et al., 1990). Embora a elevada frequência da infecção nas esposas de indivíduos contaminados, sugira que o fator genético seja menos importante do que os fatores relacionados às condições de moradia (KODAIRA, 2002). Confirma-se, assim, que os fatores socioeconômicos, ambientais e práticas culturais, adotados principalmente durante a infância, épocas de maior contaminação, contribuem para a elevação da prevalência (KODAIRA, 2002).

2.7 INFECÇÃO E A OCORRÊNCIA DE PATOLOGIAS GÁSTRICAS

Helicobacter pylori encontra-se envolvido na etiologia das doenças gástricas, como a gastrite crônica, úlcera gástrica ou duodenal, atrofia da mucosa, carcinoma e linfoma gástrico. Quanto à dispepsia funcional ainda são encontradas controvérsias sobre a sua relação (NIH Consensus Conference, 1994).

Após a descoberta da *Helicobacter pylori*, os conceitos sobre a sua etiologia ficaram mais claros, pois se tornou evidente que esta infecção seria a causa das gastrites não auto-imunes.

Todavia, o termo gastrite tem sido atribuído ou empregado de forma inadequada, em algumas ocasiões, para nomear sintomas dispépticos (queimação, flatulência, plenitude pós-prandial, sensação de peso e eructações frequentes). Estes sintomas podem estar presentes em pacientes com gastrites, assim como

naqueles cuja mucosa gástrica se apresenta normal (CESAR et al., 2002; MARQUES; LAUDANNA, 2001).

Uma vez adquirido pelo homem, a bactéria *Helicobacter pylori* estabelece uma infecção crônica e persistente. A maioria dos pacientes infectados pode desenvolver uma relação simbiótica com esse microrganismo. Entretanto, quando diante de inflamações já estabilizadas, preferencialmente localizadas nas regiões de antro, a *Helicobacter pylori* apresenta-se relacionada com a úlcera pylórica ou duodenal, ou até mesmo pode encontrar-se associada a uma inflamação difusa, envolvendo o corpo e antro do estômago, ocasionando uma gastrite multifocal e promovendo uma hipocloridria (NGUYEN et al., 1999; SUERBAUM, MICHETTI, 2002).

Quanto à classificação, as gastrites obedecem ao Sistema Sydney ou Classificação de Sydney, assim denominada por ter sido instituída durante o 9º Congresso Mundial de Gastroenterologia em Sydney (1991).

Essa classificação foi revista em 1996, no entanto não se conseguiu caracterizar adequadamente a distribuição da gastrite, caracterizando-se mais como uma sistematização que uma classificação (MARQUES, LAUDANNA, 2001).

TIPO DE GASTRITE	FATORES ETIOLÓGICOS	SINÔNIMOS EMPREGADOS
Não-Atrófica	<i>Helicobacter pylori</i> Outros fatores?	Tipo B Superficial Gastrite Antral Crônica
Atrófica autoimune Atrófica Multifocal	Autoimunidade <i>Helicobacter pylori</i> Dieta Fatores Ambientais?	Tipo A Difusa do Corpo Associada a Anemia Perniciosa Tipo B Ambiental Metaplástica
Formas Especiais Químicas Granulomatosas	- AINES - Bile - Irritação química Doença de Crohn Sarcoidose	- Gastropatia por AINES - Refluxo - Reativa
Não-Infeciosas	Vasculites Corpo Estranho Idiopática	
Linfocítica	Idiopática Celíaca Mecanismos Imunes Drogas	Associada a Doença Celíaca
Eosinofílica	Sensibilidade alimentar	Alérgica
Infeciosas	Vírus Fungos	Flegmonosa

	Bactérias (<i>não Helicobacter pylori</i>)	
	Parasitas	

Quadro 1 - Classificação das gastrites com base na topografia, morfologia e etiologia, segundo o Sistema Sydney, revisto em 1996 (MARQUES, LAUDANNA, 2001)

A gastrite causada por *Helicobacter pylori* pode se apresentar na forma aguda e crônica. A forma aguda ocorre quando o indivíduo tem sua primeira infecção e raramente é observada em biópsias de rotina, devido às suas características transitórias. Nessa fase, os pacientes são geralmente assintomáticos, todavia podem apresentar desconforto gástrico, dor epigástrica, náuseas e vômitos. A persistência da bactéria acarreta um quadro de gastrite crônica (GENTA, 1998; MARQUES; LAUDANNA, 2001).

Na gastrite crônica, as lesões vão desde processos inflamatórios superficiais até a atrofia do epitélio que se evidencia pela perda de estruturas glandulares, mostrando-se, algumas vezes, associada à metaplasia intestinal. A sintomatologia digestiva em pacientes com essa patologia é muito variável, desde pacientes assintomáticos até pacientes com excessivas queixas dispépticas. Aproximadamente 10% dos pacientes que apresentam atrofia gástrica desenvolvem câncer de estômago em um período de 15 anos, sendo por isso considerada uma lesão cancerizável (GENTA, 1998; MARQUES; LAUDANNA, 2001).

Postula-se que pacientes com gastrites predominantemente antral são mais predispostos às úlceras duodenais. Já os indivíduos com predominância de gastrite de corpo ou atrofia multifocal são mais facilmente acometidos de úlcera gástrica, gastrite atrófica, metaplasia intestinal, e por fim, carcinoma gástrico (PEEK JÚNIOR; BLASER, 2002; SUERBAUM; MICHETTI, 2002).

Álvares et al. (2006) avaliando o padrão da gastrite por *Helicobacter pylori* em relação ao *status cagA* (fator de virulência bacteriana) e à associação com a úlcera duodenal e o carcinoma gástrico precoce, observaram que os parâmetros da gastrite crônica foram significativamente mais intensos nos pacientes infectados por amostras *cagA*-positivas, que se associavam ainda à presença de atrofia e metaplasia intestinal.

Os pacientes que apresentavam gastrite crônica e carcinoma gástrico precoce, também infectados por amostras *cagA*-positiva, exibiam inflamação em atividade igualmente no antro e corpo, enquanto que a atrofia e a metaplasia

intestinal eram predominantes no antro. Nos pacientes *cagA*-negativos, a gastrite crônica situava-se mais em região de antro, o mesmo ocorrendo com a úlcera e metaplasia intestinal, refletindo a pouca ou nenhuma dependência do *status* com sua localização. Esse estudo sugere que os padrões de gastrite por *Helicobacter pylori* se relacionam mais efetivamente com os fatores de virulência da bactéria, e que os fatores ambientais e do hospedeiro são os responsáveis pela modulação da evolução para a atrofia da mucosa (ÁLVARES et al., 2006).

O câncer gástrico é a segunda causa de morte mais freqüente relatada pela literatura. Há fortes evidências de que *Helicobacter pylori* também aumenta o risco de câncer gástrico em até nove vezes. Esse microrganismo vem sendo classificado como carcinogênico do Grupo I (composto por fatores que, comprovadamente, pode causar câncer em humano) desde 1994. Entretanto, a infecção por *Helicobacter pylori* parece não ser suficiente para o desenvolvimento do câncer, cujo risco é de apenas 1% entre os indivíduos infectados, embora a presença dessa bactéria seja observada em cerca de 60 a 80 % dos casos de neoplasias (KUIPERS, 1999).

Em estudo prospectivo, acompanhando a progressão do câncer gástrico, em 1526 japoneses, observou-se que essa patologia se desenvolveu em 2,9% dos 1246 pacientes infectados, após um período de sete anos. O mesmo não foi percebido nos 280 indivíduos controles não infectados. Uma observação importante foi a ocorrência de câncer em 253 pacientes, infectados, que receberam terapia de erradicação do *Helicobacter pylori*. Relatou-se que a erradicação da bactéria previne uma recaída após a remoção endoscópica de um carcinoma gástrico precoce (UEMURA et al., 2001).

A carcinogênese gástrica é um processo com múltiplas etapas, em que as mudanças morfológicas celulares são conseqüências das alterações genéticas, que ocorrem sucessivamente durante esse processo de desenvolvimento e podem levar à evolução da gastrite crônica em gastrite atrófica, associada ou não à metaplasia. Até essa etapa, as alterações na forma da célula e do núcleo podem ser revertidas. Muitas vezes, essa mudança ocorre após o tratamento da infecção por *Helicobacter pylorie*, pelas alterações na dieta e no estilo de vida do paciente. No entanto, parte dessas gastrites atróficas associadas à metaplasia podem evoluir para displasia e, conseqüentemente, para o carcinoma "*in situ*" (CESAR et al., 2002).

A infecção pela *Helicobacter pylori* também está relacionada com o aumento do risco para o Linfoma Gástrico de MALT, visto que cerca de 72 a 98% dos pacientes acometidos com essa patologia estavam infectados por esse microrganismo (PARSONNET, 1994).

Observou-se também que a erradicação, por si só do *Helicobacter pylori*, foi capaz de induzir a regressão dessa lesão em 70 a 80 % dos casos. A maioria dos pacientes que obtiveram a regressão do linfoma, através da terapia de erradicação da *Helicobacter pylori*, permaneceu livre da lesão por muitos anos. Contudo, essa experiência em longo prazo, nos pacientes cujo linfoma tenha sido tratado apenas com antibióticos, é ainda limitado (SUERBAUM; MICHETTI, 2002).

2.8 TRATAMENTO

A meta almejada para o tratamento do *Helicobacter pylori* é sua completa eliminação do organismo infectado. Uma vez essa meta tenha sido alcançada, as taxas de reinfecções são raras, tornando o benefício do tratamento durável (SUERBUM; MICHETTI, 2002). Essa meta de eliminação completa do patógeno do organismo infectado, não é uma tarefa fácil, mesmo que o regime adotado seja cercado de todos os cuidados. Como acontece no caso da *Helicobacter pylori* a dificuldade resulta da sua possível presença na cavidade bucal.

Para ser clinicamente relevante, o regime de erradicação do *Helicobacter pylori* precisa apresentar uma taxa de cura de cerca de 80%, com o menor efeito colateral e o mínimo de desenvolvimento de resistência (SUERBUM; MICHETTI, 2002).

De acordo com o II Consenso Brasileiro (2004) sobre *Helicobacter pylori*, para tratar os pacientes infectados por esse microrganismo deve-se seguir os procedimentos abaixo descritos:

- IBP (Inibidor de bombas de Prótons) + Amoxicilina 1,0g + Claritromicina 500mg, duas vezes ao dia, durante sete dias;
- IBP (Inibidor de bombas de Prótons), uma vez ao dia, e Claritromicina 500mg + Furalizodona 200mg, duas vezes ao dia, durante sete dias.

- IBP (Inibidor de bombas de Prótons) + Furalizodona 200mg, três vezes ao dia, e tetraciclina 500mg, quatro vezes ao dia, durante sete dias.

Embora a terapia tripla tenha demonstrado uma eficácia de 84% de cura no estômago, o percentual de erradicação de *Helicobacter pylori* presente na cavidade bucal, mais precisamente na placa dentária, caiu sensivelmente para 7% dos casos. Esse aspecto sugere que a placa dentária pode ser uma fonte de transmissão desse microrganismo, como também pode servir de reservatório na reinfecção, após tratamento de erradicação (FAT-MOON SUK et al., 2002).

2.9 HELICOBACTER PYLORI NA CAVIDADE BUCAL

Atualmente, o biofilme bucal ainda desperta controvérsia sobre a sua capacidade de ser um forte reservatório para *Helicobacter pylori*, podendo assim, agir como uma fonte de reinfecção gástrica.

Alguns autores têm sugerido que *Helicobacter pylori* é parte integrante da microbiota normal da cavidade bucal, mantendo uma relação comensal com o hospedeiro, encontrando-se em um número tão baixo que sua identificação torna-se difícil (SONG et al., 2000c). Esses mesmos pesquisadores examinando um pequeno número de pacientes germânicos, verificou que o DNA de *Helicobacter pylori* estava presente em 97% do total das amostras e que sua presença não implica em uma futura ocorrência de infecção no estômago, visto que, a frequência desse microrganismo, na maioria das amostras de placa, foi independente daquela demonstrada na mucosa estomacal.

Por sua vez, Checchi et al. (2000) e Salvoldi et al. (2000) sugeriram que *Helicobacter pylori* não se encontra tão fortemente presente na cavidade bucal e, quando ocorre, pode ser resultado ocasional do refluxo gástrico esofágico.

Em um outro estudo, Song et al. (2000a) encontraram variações na prevalência de *Helicobacter pylori*, relacionada com a localização dos sítios de origem das amostras de biofilme supragengival. Essa bactéria foi detectada nas 39 amostras de molares, premolares e incisivos com diferentes prevalências: 82% (32), 64% (25) e 59% (23), respectivamente. Essa distribuição pode ser explicada através

das características de microaerofila exibida por *Helicobacter pylori*. Os autores sugeriram que a alta detecção de *Helicobacter pylorina* boca pode sustentar a hipótese de que esse patógeno faça parte microbiota normal, embora o número absoluto de organismos viáveis possa ser baixo. Ainda não se sabe por que apenas um pequeno número de pacientes com *Helicobacter pylori* no biofilme dental apresenta infecção na mucosa gástrica.

Oshowo et al. (1998b) avaliaram, por meio da técnica da PCR, a presença de *Helicobacter pylori*, em amostras de biofilme e saliva em 208 pacientes dispépticos, indicados para o exame de Endoscopia Digestiva Alta. Dentre esses pacientes, 116 foram positivos para mucosa gástrica e apenas 15 obtiveram positividade concomitante para boca e estômago. Por outro lado, dos 92 pacientes negativos para a bactéria no estômago, nove apresentaram-se positivos na boca. Esses resultados sugeriram que *Helicobacter pylorina* algumas vezes coloniza a placa dentária embora essa colonização possa ser transitória.

Miyabayashi et al. (2000), em 47 pacientes japoneses com Gastrite por *Helicobacter pylori*, analisaram a relação entre o sucesso da erradicação dessa bactéria e a sua prevalência na cavidade bucal, utilizando a PCR para determinar a presença do patógeno, antes e depois da terapia tripla de erradicação. Os pesquisadores constataram que dos 24 pacientes que se apresentaram negativos para *Helicobacter pylorina* cavidade bucal, 22 (92%) erradicaram completamente o patógeno no estômago. Esses pacientes se mantiveram livres da bactéria por pelo menos dois anos (momento em que ocorreu mais uma coleta de amostra). Os outros dois pacientes, também negativos para *Helicobacter pylorina* boca, que não conseguiram erradicar o microrganismo na primeira tentativa de terapêutica, mantiveram a bactéria não erradicada, após dois anos.

Em contrapartida, dos 23 pacientes positivos para *Helicobacter pylorina* cavidade bucal, apenas 12 conseguiram ficar livres do microrganismo no estômago. A avaliação de *Helicobacter pylorina* cavidade bucal desses pacientes mostrou que, após a terapia de erradicação da bactéria do estômago, sete permaneceram positivo e dentre estes dois tiveram a mucosa gástrica reinfecionada após dois anos. Os cinco pacientes que obtiveram erradicação, com a terapia sistêmica, também na cavidade bucal, permaneceram livres do patógeno como foi constatado no exame após dois anos. Dos 11 pacientes, nos quais o tratamento sistêmico não foi eficaz na primeira fase, oito continuaram positivos para a boca, dentre eles apenas quatro

permaneceram com o microrganismo erradicado após dois anos. Dentre os três pacientes que conseguiram erradicar a bactéria também na boca, com a terapia sistêmica, apenas dois se mantiveram erradicados também no estômago, quando avaliados após dois anos. Todos os pacientes que não obtiveram a erradicação da *Helicobacter pylori* com o primeiro tratamento foram submetidos a um novo regime terapêutico objetivando a eliminação da bactéria no estômago (MIYABAYASHI et al., 2000).

Fat-Moon Suk et al. (2002) realizaram uma pesquisa com o intuito de investigar a coexistência de infecção pelo *Helicobacter pylori* no biofilme dental e no estômago e o efeito da terapia sistêmica tríplice sobre a bactéria instalada no biofilme. A avaliação foi efetuada através da técnica de PCR em 65 pacientes com sintomatologia dispéptica que foram encaminhados para se submeterem a endoscopia digestiva.

Dos 65 pacientes que compunham a amostra na pesquisa de Fat-Moon Suk et al. (2002), 38 foram positivos para o estômago, dentre eles 28 também se mostraram positivos para o biofilme dental. Desses 28 pacientes apenas dois conseguiram a erradicação de *Helicobacter pylori* no biofilme, após o tratamento sistêmico. Entretanto, o sucesso da terapia de erradicação do microrganismo no estômago foi obtido em 32 pacientes. Esse estudo demonstra que terapia sistêmica mostra-se eficaz para o estômago, mas a sua ação sobre o biofilme bucal foi extremamente baixa. Os autores sugeriram que um tratamento local ou mesmo outra modalidade terapêutica precisa ser instituída para a erradicação do patógeno *Helicobacter pylori* na boca. Os resultados deram suporte à hipótese de que a boca funciona como um abrigo para *Helicobacter pylori* frente a antibiótico-terapia sistêmica e conseqüentemente uma fonte reinfecção tardia.

Alguns autores evidenciam uma relação entre a doença periodontal e a presença de *Helicobacter pylori* na cavidade bucal. Avuc et al. (2001) buscaram estabelecer associações entre a presença de *Helicobacter pylori* no biofilme dental e a deficiência de higiene bucal e a presença dessa bactéria no biofilme dental com a sua reinfecção na mucosa gástrica, pós-tratamento sistêmico.

Para esse fim os autores supracitados avaliaram amostras de biofilme de 241 pacientes positivos para *Helicobacter pylori* no estômago. Dentre esses pacientes, 108 foram positivos para esse microrganismo também no biofilme bucal. Após o tratamento sistêmico, os 108 pacientes foram submetidos a uma nova coleta

de amostras de biofilme dental e mucosa gástrica. Constatou-se que 61 pacientes reexaminados encontravam-se livres da bactéria. Os pacientes tratados foram submetidos ao IHO, obtendo-se assim os escores de higiene bucal de cada um. O patógeno *Helicobacter pylori* foi detectado no biofilme dental de todos os pacientes com baixos escores de higiene (90.2%) e em pacientes com bons escores (28.5%). Esses autores concluíram que a terapia antimicrobiana é ineficaz para o tratamento de *Helicobacter pylori* no biofilme dental e sugeriram que um controle de biofilme dental, por meio de procedimentos periodontais básicos, seja instituído concomitante com o tratamento sistêmico de erradicação do microrganismo.

Gebara et al. (2004) examinaram, por meio da PCR, amostras de biofilme e saliva de 30 pacientes *Helicobacter pylori* positivos para a mucosa gástrica e portadores de doença periodontal. Deste grupo 15 pacientes eram acometidos de gengivite e os demais de periodontite. Do total de pacientes 13 (43%) foram positivos para *Helicobacter pylori* na boca: 3 (10%) foram positivos para a saliva; 6 (20%) foram positivos para o biofilme supra gengival; e 8 (26,6%) positivos para a placa subgengival.

As conclusões de Gebara et al. (2004) mostraram que a prevalência de *H. pylori* em amostra de biofilme supra e subgengival foram similares e que pacientes com problemas periodontais exibiram uma alta prevalência (43%) para essa bactéria, independente do grau da patologia que se apresentam. Esses autores acrescentaram ainda que a boca pode ser um reservatório para a reinfecção gástrica.

Embora, o risco de infecção estomacal a partir da contaminação do biofilme dental pelo *Helicobacter pylori*, venha sendo demonstrado a cada dia, ainda não se sabe o número de microrganismos necessários para a infecção ou desenvolvimento de patologias no estômago.

Estudos futuros são necessários para investigar se há fatores de riscos que favorecem o crescimento de *Helicobacter pylori* na cavidade bucal, confirmando o seu potencial como fonte de reinfecção da mucosa gástrica.

3 BIOFILME DENTAL E SUA RELAÇÃO SAÚDE/ DOENÇA COM OS TECIDOS PERIODONTAIS

O termo biofilme é utilizado para nomear uma comunidade microbiana que se acumula em uma superfície e está encapsulada em polímero, cuja função é de proteger essa comunidade contra a colonização de patógenos exógenos (WILSON, 2001). Por sua vez, placa dental é definida por depósitos moles que formam o biofilme aderido à superfície de estruturas duras na cavidade bucal tais como dentes, restaurações, prótese fixas ou removíveis e implantes (BOWEN, 1976 *apud* CARRANZA, 1997). Desta forma, pode-se dizer que a placa dentária é um biofilme (PANNUTI; LOTUFO, 2003).

Dentro dos biofilmes são encontrados numerosos microambientes com níveis de oxigenação, pH e composições diferentes, tornando-os difíceis de eliminar (PAGE; KORNMAN, 1997).

A organização das bactérias em biofilmes permite que elas se tornem até 1000 vezes mais resistentes aos antimicrobianos, do que os mesmos microrganismos em forma dispersa (GILBERT et al., 1997).

Por sua constituição e contínuo crescimento o biofilme dental é considerado a principal causa de doenças como a cárie, a periodontal e as periimplantares (ROSAN, LAMONT, 2000).

Os biofilmes dentais são classificados de acordo com sua localização, em: Supragengival, quando presente acima ou ao nível da margem gengival, e Subgengival, localizada apicalmente à margem gengival (CARRANZA, 1997).

Quando localizada subgengivalmente, o biofilme pode ser encontrado em três regiões distintas do sulco gengival. Em cada uma dessas regiões, o biofilme pode ser ainda sub-classificado, em: biofilme associado ao dente (quando aderido à estrutura dentária); biofilme associado ao epitélio (quando as bactérias estão aderidas aos tecidos e têm a capacidade de invadi-los, como é o caso das *Porphyromonas gingivalis*); e o biofilme não aderido, quando ainda se encontram dispersos dentro do sulco (CARRANZA, 1997).

A composição do biofilme dental ou placa bacteriana ficou melhor definida a partir da técnica do *Checkerboard DNA-DNA hybridization*, introduzida em 1993, que tem a capacidade de avaliar, através de sondas de DNA, um maior

número de amostras de biofilme dental, com mais rapidez, do que os métodos de culturas convencionais utilizados anteriormente (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 1994).

A partir dessa técnica foi possível descrever a existência de complexos microbianos principais. Esses complexos foram observados em amostras de biofilme subgingival de 185 indivíduos adultos estudados. O estudo tinha o objetivo de analisar 40 espécies bacterianas em 13.261 amostras coletadas. A ação mútua entre diferentes espécies e grupos bacterianos, e a sua relação com os parâmetros clínicos de inflamação presente, também foram observados (SOCRANSKY et al., 1998).

A constatação da formação dos complexos bacterianos enfatiza que os patógenos periodontais não agem sozinhos. Portanto, as interações entre as espécies bacterianas existem, afetando o estado de doença ou saúde periodontal. Sugere-se ainda que seja de grande importância o equilíbrio entre as espécies benéficas e patogênicas (SOCRANSKY et al., 1988).

Os complexos bacterianos receberam denominação de cores e foram organizados de acordo com a sua composição: vermelho, laranja, azul, amarelo, verde e roxo (SOCRANSKY et al., 1998).

O complexo vermelho é composto pelas espécies *Tannerella forsythensis*, *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema denticola*, e está fortemente relacionado com o aumento da profundidade de bolsa periodontal e sangramento gengival à sondagem. Estes patógenos são reconhecidos como os principais agentes etiológicos da periodontite do adulto (HAFFAJEE et al., 1997; SOCRANSKY et al., 1998).

O complexo laranja encontra-se formado por diversas espécies de *Fusobacterium*, *Prevotella* e *Campylobacter* e aparenta preceder à colonização do complexo o vermelho. Tem um papel também importante na patogênese da infecção periodontal (SOCRANSKY et al., 1998).

Os outros grupos ou complexos restantes demonstraram grande associação entre si e menor associação com os dois primeiros complexos (SOCRANSKY et al., 1998). O grupo chamado de azul está constituído por espécies de *Actinomyces*. O complexo amarelo é formado por espécies de *Streptococcus*. O grupo verde compreende três espécies de *Capnocytophaga*. Já o grupo roxo está composto por *Actinomyces odontolyticus* e *Veillonella parvula* (SOCRANSKY et al.,

1988). Esses últimos quatro grupos seriam colonizadores primários da superfície dentária e o seu crescimento, normalmente, precederia a multiplicação da microbiota predominantemente gram-negativa dos complexos laranja e vermelho.

A fase inicial de formação do biofilme dental está representada pela adsorção das glicoproteínas salivares, formadoras da película adquirida, às superfícies da cavidade bucal. A película adquirida funciona como uma barreira protetora lubrificando as estruturas bucais, prevenindo o ressecamento tecidual. Por outro lado, essa película oferece também o substrato, no qual os microrganismos encontram-se aderidos (CARRANZA, 1997).

As bactérias que colonizam inicialmente a superfície do dente são predominantemente microrganismos facultativos Gram-positivos, tais como *Actinomyces viscosus* e *Streptococcus sanguis*. Estes patógenos aderem-se à película adquirida através de adesina, que interagem com receptores específicos na película dental. Há outros mecanismos de adesão que determinam essa seletividade na colonização inicial da película - como as fímbrias - presentes no *Actinomyces viscosus* (CARDOSO; GONÇALVES, 2002).

Na sucessão ecológica, característica da formação do biofilme dental, observa-se uma transição do meio ambiente aeróbio, colonizado por espécies Gram-positivas facultativas, para um meio privado de oxigenação, com predominância de Gram-negativos anaeróbios. Nessa colonização secundária, gêneros de microrganismo como a *Fusobacterium*, *Prevotella* e *Campylobacter*, aderem-se às bactérias pré-existent (LOESCHE; SYED, 1978)

As interações microbianas decorrentes do acúmulo constante de bactérias refletem diretamente nas condições periodontais dos indivíduos, e podem resultar em saúde ou doença. Algumas associações favorecerem a colonização de espécies potencialmente virulentas, como também podem agir como antagonistas, impedindo a contínua colonização (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 1998).

As espécies Gram-positivas facultativas, relacionadas com saúde periodontal são principalmente dos gêneros *Actinomyces* e *Streptococcus*. Outras espécies bacterianas interligadas com a saúde periodontal, como a *Veillonella parvula*, *Capnocytophaga ochracea*, e o próprio *Streptococcus sanguis*, foram propostas como sendo protetoras ou benéficas ao hospedeiro. Essas bactérias têm a capacidade de inibir o crescimento de periodontopatógenos (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 1992).

A gengiva situada próximo ao biofilme, formado pelas bactérias supracitadas apresenta-se clinicamente saudável, com as características de normalidade que lhe são peculiares tais como cor rosa-pálido, superfície fosca e pontilhada, consistência firme e resiliente, com forma dependendo do volume e contorno gengival, sendo a margem fina e terminando contra o dente como lâmina de faca. Quando submetida ao exame de sondagem, a profundidade do sulco obtida pode variar de 1-3 mm, não devendo apresentar sangramento quando examinada ou espontaneamente (GENCO et al., 1997).

O aumento progressivo dos microrganismos na margem gengival altera a microbiota considerada benéfica, resultado em uma inflamação denominada gengivite, a qual possui sinais e sintomas característicos. O quadro clínico é passível de variar entre indivíduos e entre sítios numa mesma dentição, dependendo dos microrganismos presentes. Os aspectos clínicos mais comuns numa gengivite incluem a presença de eritema, edema, sangramento, aumento do fluido gengival e ausência de perda de inserção. A maior característica da gengivite é a reversibilidade dos sinais clínicos após a remoção do biofilme ao qual está associada (AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY, 1999).

A microbiota, constituinte do biofilme dental, localizado próximo às áreas de gengivite possui proporções semelhantes de espécies Gram-positivas e Gram-negativas, bem como microrganismos facultativos e anaeróbios. As espécies Gram-positivas são: *Streptococcus sanguis*, *S. mitis*, *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii* e as Gram-negativas são, predominantemente: *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Veillonella parvula*, *Haemophilus* e *Campylobacter ssp.* (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 1992).

Alguns sítios com sinais clínicos de inflamação gengival apresentaram-se também com níveis reduzidos de *Actinomyces actinomycetecoidans*, *Campylobacter gingivales*, *Eikenella corrodens*, e um aumento expressivo de *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* e *Wolinella recta*. *Actinomyces ssp* (MOORE et al., 1987).

Não havendo a remoção do biofilme que ocasionou a gengivite, a deposição de microrganismo continuará e a lesão fatalmente evoluirá para uma periodontite. A periodontite é uma lesão de caráter infeccioso que envolve os tecidos de suporte dentário, leva à perda de inserção conjuntiva, osso alveolar e de cemento radicular. Embora apresente um caráter mais destrutivo, clinicamente verificam-se

sinais de gengivite, crescendo perda de inserção conjuntiva e presença de bolsa periodontal (AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY, 1999).

O biofilme relacionado com os sítios com características de periodontite demonstra uma variedade na sua constituição, quanto às espécies que o colonizam. Já foi relatada a presença de espécies como *Porfiromonas gengivalis*, *Eubacterium nodatum*, *Eubacterium timidum*, *Eubacterium brachy* e *Peptostreptococcus anaerobius* (MOORE et al., 1987).

Em bolsas periodontais, a distribuição ou mesmo a localização dos microrganismos pode relacionar-se com o grau de destruição periodontal. Há relatos da presença de *Prevotella nigrescens* na porção média das bolsas periodontais (tecido do epitélio interno da bolsa), presença de *Fusobacterium nucleatum* e *Treponema denticola* (nas áreas do biofilme não aderido), *Eikenella corrodens* (nas áreas de biofilme aderido) e o *Actinomyces actinomycetecomitans* na porção apical da bolsa (NOIRI et al., 2001).

Ainda relacionada ao biofilme, tanto sub quanto supragengival foram observadas aumento do número de *Tannarella forsythensis*, *Porphiromonas gengivalis* e espécies de *Prevotella intermédia*, *Fusobacterium*, *Campylobacter* e *Treponema* em amostras de biofilme, colhidos de pacientes com periodontite (SOCRANSKY; HAFFAJE, 1992).

Muitos autores têm demonstrado uma relação entre a colonização de microrganismos bucais específicos no biofilme dental e a presença e/ou severidade da doença periodontal, pela utilização da cultura seletiva ou não seletiva, associada ou não à microscopia em campo escuro e óptica, teste de imunofluorescência direta e sonda de DNA. Essas diferentes metodologias refletem na variação dos resultados encontrados nos diferentes estudos, pois cada teste apresenta uma limitação na sua eficácia. Portanto, a discordância dos dados obtidos em cultura e em outros testes pode ser atribuída à presença de microrganismos não cultiváveis na amostra colhida (ou pelo armazenamento incorreto, erros no processamento, ou até mesmo pela inviabilidade do microrganismo) além da especificidade atribuída a alguns testes (PASTER et al., 2001).

3.1 TRATAMENTO PERIODONTAL BÁSICO

Observações, tanto epidemiológicas como clínicas, têm demonstrado uma relação de associação entre o biofilme supra e subgengival com gengivites e periodontites (ARMITAGE, 2004).

O conceito de biofilme renovou a discussão sobre impacto do controle da placa bacteriana na condição periodontal, por esclarecer melhor a associação entre os diversos tipos bacterianos e estados de saúde ou doença periodontal. Desse modo reacendeu-se o conceito do controle mecânico, realizado pelo binômio paciente-profissional, como uma arma valiosa e impar para a prevenção e tratamento das doenças periodontais como a gengivite e a periodontite (GOMES; MASCANTÔNIO, 2004).

Os depósitos bacterianos aderidos na superfície dentária – os biofilmes dentais – são considerados fatores essenciais para o desenvolvimento das periodontopatias, enquanto o cálculo dentário, as manchas extrínsecas e o cemento contaminado são considerados fatores secundários, pois promovem uma maior retenção de microrganismos (CARDOZO, 2000).

Há, entretanto, afirmações de que, o biofilme e o cálculo estão aliados como fator iniciador extrínseco da doença periodontal (RAMFJORD; ASH, 1991), embora pesquisas demonstrem que a comunidade bacteriana, depositada sobre o cálculo, é a responsável pelas inflamações periodontais (GAARE, et al., 1990; SCHROEDER, 1990).

A remoção dos fatores etiológicos primários e secundários é um procedimento necessário no tratamento da doença periodontal inflamatória crônica, pois tem como objetivo a eliminação de suas causas, restabelecendo a saúde periodontal, tornando as superfícies radiculares aptas a receberem uma nova inserção (BIAGINI, 1998).

A raspagem e o alisamento corono-radicular são as ações indicadas para a remoção desses fatores etiológicos aderidos às superfícies dentárias, e para a sua execução, são utilizados os instrumentos manuais, os instrumentos sônicos e ultra-sônicos, o laser, os jatos de bicarbonato, as escovas e as taças de borrachas associadas a pastas abrasivas (CARRANZA et al., 2004; MORLOCK et al., 1992).

Os procedimentos de raspagem e alisamento corono-radicular também chamados de preparação mecânica ou procedimentos periodontais básicos, constituem a mais utilizada abordagem clínica para o tratamento das afecções periodontais, sendo considerado o método padrão “ouro” (DRISKO et al., 1995).

Os dois tipos de instrumentação que comumente são utilizados para a remoção do acúmulo bacteriano, calcificado ou não, das superfícies dentárias são a instrumentação manual e a instrumentação ultra-sônica. Para a instrumentação manual são utilizadas curetas periodontais – as mais utilizadas são as universais e as de Grayce®. Esses instrumentos são destinados para todas as regiões, coronárias e radiculares, para os procedimentos de raspagem e alisamento corono-radicular e curetagem gengival. (TODESCAN; TODESCAN, 1994).

O preparo mecânico das superfícies radiculares, com a utilização de curetas, tem sido efetivo no tratamento de pacientes portadores de periodontite leve e moderada, com perda de inserção menor que 5 mm. Há comprovações de que a instrumentação radicular é capaz de reduzir a profundidade do sulco gengival, permitindo o ganho clínico de inserção, inibindo a progressão da doença. O ganho clínico de inserção sugere a formação de um novo tecido conectivo – novas fibras inseridas em cimento – ou, o que normalmente ocorre, a formação de um epitélio juncional longo (CUGINI et al., 2000; GREENSTEIN, 2000).

Cobb (1996) percebeu que a redução da profundidade de sondagem do sulco e ganho clínico de inserção podem ser alcançados com raspagem e alisamento corono-radicular. Sítios com profundidade de sulco de quatro a seis e 7 mm, obtiveram uma redução de 1,29 mm e 2,16 mm, respectivamente, numa segunda sondagem. O ganho de inserção foi de 0,55 mm e 1,29 mm, respectivamente. Essa diminuição na profundidade de sondagem pode ser atribuída a dois fatores: o ganho clínico de inserção e a recessão gengival.

Os aparelhos utilizados para a instrumentação ultra-sônica, usam as ondas sonoras de alta frequência para produzir vibrações em suas pontas, as quais ao entrarem em contato com os depósitos de cálculos, promovem a sua fratura. O calor produzido pelas pontas em vibração é minimizado pela refrigeração decorrente da água em *spray* (TODESCAN, TODESCAN, 1994).

A instrumentação ultra-sônica foi desenvolvida com o objetivo de facilitar a remoção de grandes quantidades de depósitos calcificados. Pesquisas têm comprovado que o debridamento periodontal ultra-sônico apresenta os mesmos

resultados que os demonstrados pela instrumentação manual, com respeito à diminuição da profundidade de sulco gengival e da inflamação clínica e ganho de inserção gengival. Observou-se que os sítios, que inicialmente apresentavam a profundidade de sulco maior do que 4 mm, sofreram reduções que variaram de 1,20 mm a 2,3 mm, após a raspagem e aplainamento radicular, e de 1,70 mm até 1,9 mm, após o debridamento ultra-sônico (BORETTI et al., 1995).

O uso da aparelhagem ultra-sônica evita a super-instrumentação das raízes, prevenindo a hipersensibilidade dentinária. Os resultados obtidos são conseguidos com um menor tempo e desgaste do profissional. Por outro lado, o aplainamento radicular, realizado com os instrumentos manuais, permite uma maior lisura das superfícies radiculares, embora essa diferença não seja refletida nos resultados clínicos (BIAGINI et al., 1998).

A superfície do dente tratada, com instrumentação manual ou ultra-sônica, adquire uma superfície rugosa e riscada que favorece o rápido estabelecimento do biofilme seguido da formação do cálculo. Tiras de acabamento completam a remoção de cálculos e manchas das superfícies proximais dos dentes raspados. Ao final do tratamento mecânico, as raízes e as coroas dentárias devem ser polidas com pastas abrasivas numa taça de borracha rotatória ou escova, pois as superfícies dentárias lisas e polidas são altamente eficazes no controle do biofilme (CARRANZA, 2004).

Os benefícios alcançados através da realização dos procedimentos básicos não são apenas clínicos. Alguns autores também têm citado os benefícios microbiológicos resultantes do preparo mecânico das raízes dentárias (CUGINI et al., 2000).

Nos aspectos microbiológicos, os efeitos da raspagem e alisamento corono-radicular sobre a comunidade bacteriana subgengival são percebidos pela redução nos níveis de *Treponema denticula* e *Porphyromonas gingivalis* (SIMONSON et al., 1992). A redução de outros periodontopatógenos como o *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythensis* e *Prevotella intermédia* também foram observados (HAFFAJEE et al., 1997; SHILOAH; PATTERS, 1994).

Poucos pesquisadores investigaram a efetividade da instrumentação ultra-sônica sobre a microbiota subgengival e as toxinas associadas à superfície

radicular. Porém, observou-se que, os raspadores ultra-sônicos atuam diminuindo a microbiota subgingival de modo similar a instrumentação manual (COBB, 1996).

Cugini et al. (2000) avaliaram, através de padrões microbiológicos, a efetividade da raspagem ultra-sônica sobre a microbiota subgingival. Estes pesquisadores afirmaram que, patógenos periodontais como o *Tannarella forsythensis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e *Strptococcus constellatus* foram significativamente reduzidos após a instrumentação ultra-sônica, sugerindo que esse procedimento é efetivo para a redução de espécies subgingivais. Nessa pesquisa, também foi observado a correlação entre a redução na profundidade do sulco gengival e a diminuição na proporção de *Tannarella forsythensis*.

Estudos mostram que a partir de um adequado controle de placa supragengival ocorre uma redução significativa do número de bactérias presentes supra e subgingivalmente. De certa forma, existe uma tendência a considerar que sítios com profundidade de sondagem maior não se beneficiam do controle supragengival. Essa informação advém de pesquisas onde não foram observados melhorias no ambiente supragengival, a despeito do controle profissional ou do binômio paciente-profissional. Aí se justificam as indicações de redução cirúrgicas de profundidade de sondagem, importantes no passado, que são questionáveis atualmente (CLAFFLEY et al., 2004).

Constata-se então que, a raspagem corono-radicular, seja ela realizada por instrumentos manuais ou ultrasônicos, é efetiva para o que se propõe: remoção desses fatores etiológicos aderidos às superfícies dentárias (CARRANZA et al., 2004), permitindo o ganho clínico de inserção, inibindo a progressão da doença (CUGINI et al., 2000; GREENSTEIN, 2000) e, se forem tomadas às medidas de prevenção e controle da formação dos biofilmes dentais, motivando e orientando os pacientes para uma boa higiene, eles se manterão livres de periodontopatógenos, resultando na obtenção da saúde bucal.

3.2 CONTROLE QUÍMICO DO BIOFILME – DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA

Anti-sépticos são agentes químicos, normalmente de largo espectro, que inativam o crescimento de microrganismos. Muitos destes agentes biológicos, presentes na cavidade bucal, são altamente susceptíveis a essas substâncias, embora as espécies de *Pseudomonas*, bastonetes entéricos, *Cândida*, *Staphylococcus* e espécies de *Enterococcus* podem exibir resistência (SLOTS, 2000).

Em sua grande maioria, os anti-sépticos apresentam pouca propensão a desenvolver resistência, visto que atuam em vários alvos intracelulares, o que não se observa nos antibióticos (SLOTS, 2002). O que difere os antibióticos dos antisépticos é que estes são potencialmente tóxicos, tanto aos agentes infecciosos como as células do hospedeiro. Sua utilização, em animais e humanos, pode ser feita por meio da aplicação de soluções ou géis durante o tratamento de doenças periodontais, infecções dermatológicas, feridas cutâneas, infecções oftalmológicas ou da região orofaríngea. Também têm sido sugeridos para uso em irrigação de tratamento endodôntico (OUHAYOUN, 2003; TEICHEIRA; CORTES, 2005).

Os colutórios bucais têm sua eficácia relacionada tanto com as suas propriedades antimicrobianas, frequentemente demonstradas *in vitro*, como na sua habilidade de penetrar no biofilme *in vivo* (OUHAYOUN, 2003).

Dentre os colutórios mais utilizados na odontologia, destaca-se o digluconato de clorexidina, introduzido pela MACCLTESFIELD (Inglaterra) há mais de trinta anos, como um anti-séptico com efeito antimicrobiano, para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, aeróbias e anaeróbias (HIDALGO; DOMINGUEZ, 2001; PATEL et al., 2001; SEKINO et al., 2004; TURESKY et al., 1977). Essa substância é descrita como um agente com propriedades catiônicas, pertencente ao grupo das bis-biguanidas atóxica, cujo efeito quimioterápico também se estende para fungos, porém é limitada para vírus (SEKINO et al., 2004).

Pode-se afirmar que a clorexidina é uma molécula simétrica e estável, tendo na sua composição dois anéis 4-clorofenil e dois grupos etano-pentânicos ligados por uma cadeia central de hexametileno (ARAÚJO et al., 2001; ROSING; TOLEDO, 1993; VINHOLIS et al., 1996). Possui atração pelas bactérias, pois sendo

um dicátion fortemente alcalino, tem afinidade por superfícies negativas, como a membrana externa bacteriana, hidroxiapatita, placa, substâncias orgânicas do tecido duro, proteínas salivares e mucina bucal (GRUNSVEN, CARDOSO, 1995; JENKINS, 1988). Desse modo, aumenta a permeabilidade da membrana citoplasmática agindo por meio de ligações eletrostática, através de sua carga positiva com a negativa da parede celular bacteriana (CARVALHO, 1991; HOUTE, 1994). A molécula de clorexidina possui ainda propriedades lipofílica e hidrofílica, e o equilíbrio entre elas é importante para a atividade antimicrobiana (BONESVOLL, 1977).

A clorexidina, quando em baixas concentrações, provoca lixiviação de substâncias de pequeno peso molecular, como o potássio e fósforo exercendo efeito bacteriostático. Em altas concentrações, a clorexidina é bactericida (TURESKY et al., 1977).

O mecanismo de ação antibacteriano da clorexidina começa com a sua ligação na parede celular, quando ocorre a adsorção das cargas positivas da molécula dessa substância às cargas negativas da superfície bacteriana, causando um desequilíbrio osmótico, danos à bomba de sódio e potássio, bloqueando o transporte de cálcio e magnésio. Desse modo, aumenta a permeabilidade da parede celular, permitindo que o agente penetre no citoplasma bacteriano, ocorrendo o rompimento da membrana celular e fuga dos componentes intracelulares (ROSING, TOLEDO, 1992), levando a morte do microrganismo (CARVALHO et al., 1991).

Outra ação antibacteriana consiste na adesão da clorexidina aos tecidos bucais, duros e moles, competindo diretamente com a adesão dos microrganismos para o início da formação da placa aderida. Os *Streptococcus mutans*, os primeiros microrganismos a se instalarem para formação do biofilme dental ou placa bacteriana, são muito sensíveis à clorexidina (BONDESTAM et al., 1996).

A capacidade de fixação da clorexidina na cavidade bucal é confirmada por experimentos que demonstraram a adsorção dessa substância às superfícies dentárias e mucinas salivares, formando um reservatório a partir do qual ela é liberada lentamente sob a forma ativa. O efeito inibidor do biofilme pela ação da clorexidina pode ser baseado na sua retenção e subsequente desprendimento lento na cavidade bucal (ADDY; MORAN, 1983; SOLHEIM, et al., 1983; JENKINS et al., 1988).

Em um estudo *in vitro*, realizado com gel de clorexidina a 1%, verificou-se que os resultados obtidos ficaram aquém dos alcançados por outras substâncias testadas, o que foi justificado pela necessidade da clorexidina ligar-se a glicoproteínas salivares, originando um composto denominado cloridrato de clorexidina, fato que não ocorre nas placas, com meios e colônias de bactérias, sem a contaminação de saliva (LINDSKOG et al., 1998).

O efeito antibacteriano da clorexidina foi testado juntamente com outros irrigantes endodônticos em determinadas bactérias anaeróbias. Os irrigantes foram: o hipoclorito de sódio 5,25%; o peróxido de hidrogênio 3,0%; a solução salina estéril; o EDTA 17%; a solução saturada de hidróxido de cálcio; e a clorexidina 0,2%. As bactérias relacionadas neste estudo foram *Peptostreptococcus magnus*, *Propionibacterium acnes*, *Veillonella parvula*, *Lactobacillus fermentum*, *Porphyromonas gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum*. Os microrganismos foram inoculados em tubos que continham um meio de cultura líquido de tioglicolato. Dentre as substâncias estudadas, a clorexidina a 0,2% foi a que mostrou o melhor efeito antibacteriano (OHARA, 1993).

A atividade antimicrobiana residual da clorexidina também foi avaliada nas concentrações 2 e 0,2%, em dentes humanos instrumentados, *in vitro*. Após a instrumentação, os canais foram lavados com água esterilizada e amostras do seu interior foram colhidas com cones de papel, com intervalos de tempo de seis, doze, vinte e quatro, quarenta e oito, e setenta e duas horas após o tratamento. A atividade antimicrobiana esteve presente em todas as amostras tratadas com clorexidina a 2,0%, depois de setenta e duas horas (WHITE et al. 1997).

A clorexidina a 0,2%, conjuntamente a outros irrigantes endodônticos, teve sua eficácia antimicrobiana testada *in vitro*, quando foi colocada incubada com as seguintes bactérias: *Prevotella intermédia*, *Peptostreptococcus micros*, *Streptococcus intermedius*, *Fusobacterium nucleatum* e *Enterococcus faecalis*. A incubação durou de quinze minutos à uma hora, com 5 ppm de hipoclorito de sódio 2,25%; clorexidina 0,2%; solução de iodo 10,0%; e PBS como controle. A clorexidina foi eficaz em 100% das bactérias testadas após uma hora de incubação, embora, em quinze minutos, o número de bactérias tenha sido pouco reduzido (SPRATT et al., 2001).

A clorexidina apresenta diversas formas de aplicação, e a escolha da maneira como esta substância será usada no tratamento poderá ser crucial para o

êxito ou fracasso de sua ação (NEWMAN, 1998). Entre as formas de aplicação e apresentações estudadas podemos citar: gel (1 ou 2% - para aplicação tópica); dentifrícios (concentração de 0,7 a 0,8%); soluções (0,1, 0,12 e 0,2% - bochechos e jatos em seringas), na forma de vernizes. Podem ainda ser citadas, a aplicação na forma de goma de mascar, spray e cimentos cirúrgicos (AIMANO; NIEMINEN; WESTERLUND 1990; ANDERSON, 2003; DENARDI, 1994; TORRES, 2001; VINHOLIS et al., 1996). A seleção do veículo mais apropriado vai depender da necessidade individual de cada paciente, como também da comodidade de sua utilização.

Quanto aos seus efeitos colaterais, menciona-se a coloração marrom da língua e dos dentes, descamação da mucosa e alteração do paladar. O sabor amargo pode ser apresentado como desvantagem frente aos outros antisépticos. Efeitos teratológicos ou de reprodução não foram relatados (CARVALHO, 1991; HOUTE, 1994; SEKINO et al., 2004).

Dentre todas as substâncias estudadas, com a finalidade de promover um melhor controle da placa dentária, a clorexidina é a que apresenta mais segura para a utilização, com o menor efeito colateral, sendo reconhecida como aplicável na clínica odontológica pela ADA (América Dental Association) como também pela Food & Drugs Administration dos Estados Unidos (ROSING; TOLEDO, 1992).

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Verificar a prevalência do *Helicobacter pylori* na cavidade bucal e a avaliar o efeito do Tratamento Sistêmico e/ou Tratamento Periodontal na erradicação do mesmo em pacientes com sintomatologia dispéptica, infectados pela bactéria em mucosa gástrica e/ou boca.

4.2 Objetivos Específicos

- Diagnosticar a presença do *Helicobacter pylori* no biofilme dental de pacientes com sintomatologia dispéptica, verificando sua prevalência, através de teste de PCR (Reação de Cadeia Polimerase).
- Avaliar a ação concomitante do Tratamento Sistêmico e do Tratamento Periodontal Básico, na erradicação do *Helicobacter pylori* na mucosa gástrica e na boca de pacientes infectados e com sintomatologia dispéptica, comparando com a erradicação obtida pelos positivos só em estômago.
- Avaliar a ação do Tratamento Periodontal Básico sobre o *Helicobacter pylori*, na boca de pacientes infectados, com Sintomatologia Dispéptica e sem a presença dessa bactéria na mucosa gástrica.
- Avaliar a ação do Tratamento Sistêmico sobre o *Helicobacter pylori* na mucosa gástrica de pacientes infectados, com Sintomatologia Dispéptica e sem a presença dessa bactéria na boca.

5 CONSIDERAÇÕES METODOLÓGICAS

5.1 DELINEAMENTO E LOCAL DO ESTUDO

Trata-se de um estudo epidemiológico do tipo ensaio clínico individualizado de intervenção e longitudinal. A investigação proposta foi desenvolvida em um hospital de médio porte na cidade de João Pessoa – Paraíba – Brasil. Este propícia atendimento de diversas especialidades, em particular, Clínica Médica e Cirúrgica. Vale ressaltar que a referida instituição de saúde assiste a pacientes tanto no âmbito privado, como aos usuários do Sistema Único de Saúde. A coleta de dados ocorreu no período de setembro de 2005 a setembro de 2006.

5.2. POPULAÇÃO

Fizeram parte da pesquisa pacientes de ambos os sexos, na faixa etária a partir de 18 anos, com sintomatologia dispéptica que, por indicação médica, se submeteram à endoscopia digestiva no período de setembro de 2005 a setembro de 2006, no hospital selecionado para o estudo. Para seleção da amostra foram adotados critérios de inclusão e exclusão, apresentados a seguir.

5.3. CRITÉRIOS PARA ELEGIBILIDADE DA AMOSTRA

5.3.1 INCLUSÃO

- Pacientes com sintomatologia dispéptica.
- Pacientes que possuíam a bactéria *H. pylori*:

- na mucosa gástrica e no biofilme dental, comprovados por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR);
- na mucosa gástrica, mas não no biofilme dental, comprovados por PCR;
- no biofilme dental, mas não na mucosa gástrica, comprovados por PCR.

5.3.2 EXCLUSÃO

Pacientes:

- edêntulos;
- imunodeprimidos;
- acometidos por doenças debilitantes.

5.4 AMOSTRA

A amostra foi composta por 123 pacientes. Estes foram divididos em quatro grupos dependendo da positividade ou não para *H.pylori*, detectados por meio da PCR, descritos a seguir:

G I – Pacientes *H.pylori* positivos, para a mucosa gástrica e para a cavidade bucal. Este grupo foi constituído 19 pacientes, nove do sexo feminino e 10 do sexo masculino, dos quais 16 foram tratados da boca e da mucosa gástrica;

G II – Pacientes *H.pylori* positivos, apenas para a boca. Este grupo foi constituído por 14 pacientes, nove do sexo feminino e cinco do sexo masculino, dos quais oito foram tratados da boca.

G III – Paciente *H.pylori* positivo, apenas para a mucosa estomacal. Este grupo foi constituído por 47 pacientes, 29 do sexo feminino e 18 do sexo masculino, dos quais 23 foram tratados da mucosa gástrica;

G IV – Pacientes que, apesar de possuírem sintomatologia dispéptica, não obtiveram positividade para *H.pylori* nas amostras coletadas. Este grupo foi constituído por 43 pacientes, 27 do sexo feminino e 16 do sexo masculino.

5.5. POSICIONAMENTO ÉTICO DA PESQUISA

O desenvolvimento da investigação foi norteado a partir das diretrizes e normas regulamentares de pesquisa envolvendo seres humanos, contempladas na Resolução nº169/96, do Conselho Nacional de Saúde, em vigor no país. Principalmente no que concerne ao consentimento livre e esclarecido dos participantes inseridos no estudo.

Todos os pacientes foram esclarecidos quanto aos objetivos da pesquisa, procedimentos aos quais seriam submetidos bem como, da sua anuência por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice B). Cumpre assinalar que, a pesquisa só foi iniciada, após aprovação do projeto de tese pelo Comitê de Pesquisa do Centro de Ciência da Saúde da Universidade Federal da Paraíba.

5.6 PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS DO ESTUDO

5.6.1 INSTRUMENTO E TÉCNICA PARA COLETA DE DADOS

Para viabilizar a coleta de dados clínicos dos participantes selecionados na investigação, foi elaborado um formulário (Apêndice A), contendo questões pertinentes aos objetivos propostos no estudo, dividido em duas partes.

A primeira parte visa à coleta de informações sobre o estado geral do paciente, avaliação de suas condições de higiene bucal, bem como coleta do resultado sobre a presença de *H. pylori* na mucosa do estômago.

A segunda parte teve como finalidade o registro da avaliação periodontal do paciente e a coleta do biofilme para análise da presença de *H. pylori* por meio da PCR.

Foi utilizada também a técnica de observação para facilitar o registro das informações contidas no instrumento proposto para a pesquisa.

5.6.2 PROCEDIMENTOS PARA COLETA DE DADOS

Na avaliação periodontal foi utilizado o Índice Periodontal Comunitário – IPC. Este índice possibilita avaliar qual a condição de saúde periodontal a qual é estabelecida em função do sangramento gengival, da presença de cálculos e bolsas, como mostram os escores do IPC a seguir (PINTO, 2000).

- 0 - Ausência de problemas periodontais (bolsa e sangramento gengival à sondagem);
- 1 - Sangramento gengival na sondagem;
- 2 - Presença de cálculo supra e subgengival, em qualquer quantidade, com toda banda colorida da sonda visível;
- 3 - Presença de bolsa periodontal a partir de 4 ou 5mm;
- 4 - Presença de bolsas igual ou superior a 6 mm;
- (X) Nulo – Sextante excluído por ter menos de dois dentes presentes;
- (9) Não informado.

Para avaliação do IPC levou-se em consideração que a dentição seria dividida em sextantes definidos pelos dentes representados no Quadro 2.

17 - 14	13 – 23	24 – 27
47 – 44	43 – 33	34 - 37

Quadro 2 – Dentes 17 ao 14 (1º); 13 ao 23 (2º); 24 ao 27 (3º); 47 ao 44 (4º); 43 ao 33 (5º); 34 ao 37 (6º).

Nesse índice o sextante só seria examinado se o paciente possuísse dois ou mais dentes presentes e estes dentes não poderiam estar indicados para extração.

Em pacientes com 20 anos ou mais, os dentes-índices a examinados seriam (Quadro 3):

17,16	11	26, 27
47,46	31	36, 37

Quadro 3 – Dentes 17 e 16 (1º); 11 (2º); 26 e 27 (3º); 47 e 46 (4º); 31 (5º); 36 e 37 (6º).

Em pacientes com idade inferior a 20 anos, os dentes-índices a examinados seriam (Quadro 4):

16	11	27
46	31	36

Quadro 4 – Dentes 16 (1º); 11 (2º); 26 (3º); 46 (4º); 31 (5º); 36 (6º).

Nos sextantes posteriores, embora dois dentes possam ser examinados, só a codificação mais grave foi registrada. Quando nenhum dente-índice estivesse presente num sextante, seriam examinados os demais dentes do paciente.

A ocorrência de sangramento patológico foi observada após a ação da sonda e antes que o paciente cuspsse ou fechasse a boca. O sextante com ausência de dentes para exame, ou só um elemento presente, ou ainda, na presença de qualquer número de dentes indicados para extração, foi anotado com um “X”.

Neste índice, foi utilizada a sonda milimetrada preconizada pela Organização Mundial de Saúde, para o IPC. Esta apresenta uma ponta ativa em sua extremidade, com uma esfera de 0,5 mm. Após essa esfera, prolonga-se uma haste dividida em espaços medindo: o primeiro, sem revestimento em negro 3 mm; o segundo 2 mm, sendo este colorido em negro; o terceiro espaço 2 mm, sem coloração; e o quarto espaço também 3 mm, com coloração em negro, totalizando 10,5mm. As porções coloridas da haste davam à pesquisadora noções da profundidade do sulco examinado.

5.6.3 PROCEDIMENTOS PARA COLETA DE DADOS CLÍNICOS

Procedimentos adotados para os quatro grupos inseridos no estudo:

G I – Neste grupo, os participantes da investigação receberam o tratamento sistêmico para a erradicação da bactéria na mucosa gástrica - Pyloripac® – lansoprazol 30 mg, claritromicina 500 mg, amoxicilina 500 mg – do laboratório

Medley - (COELHO, ZATERKA, 2005). Também foram submetidos ao Tratamento Periodontal Básico e ao controle químico do biofilme, através dos procedimentos de raspagem e alisamento corono-radicular, polimento com pedra pomes, aplicação de clorexidina gel a 2% e bochecho com solução de clorexidina (0,2%), por um minuto, com a finalidade de diminuir a quantidade biofilme presente na cavidade bucal

O procedimento de profilaxia e bochechos repetiu-se nas duas semanas subseqüentes. Vale salientar que alguns pacientes desse grupo, mesmo sabendo do das conseqüências da infecção, não aceitaram o convite para a realização do tratamento visando eliminar a bactéria do estômago e/ou da boca.

G II – Estes pacientes foram submetidos ao Tratamento Periodontal Básico e ao controle químico do biofilme (conforme descrito no G I).

O procedimento de profilaxia e bochechos foi executado igualmente como no G I. Vale salientar que alguns pacientes desse grupo, mesmo sabendo do risco da boca ser uma fonte de infecção, não aceitaram o convite para a realização do tratamento para diminuição da quantidade de biofilme dental.

G III – Estes recebiam apenas o tratamento padrão, de acordo com Coelho, Zaterka (2005), para a erradicação da bactéria no estômago. Vale salientar que alguns pacientes desse grupo, mesmo sabendo do das conseqüências da infecção, não aceitaram o convite para a realização do tratamento do estômago.

G IV – Pacientes que, apesar de possuírem sintomatologia dispéptica, não obtiveram positividade para *H. pylori* nas amostras coletadas.

5.7 COLETA DO MATERIAL DO BIOFILME

A coleta das amostras do biofilme ocorreu momentos antes da realização da Endoscopia Digestiva de cada paciente. Para a execução desse procedimento, o biofilme foi corado, com Eviolac (fucsina básica 0,7%), e removido por meio de curetas periodontais do tipo “Grayce”. É oportuno destacar que estes instrumentais foram embalados aos pares, para cada paciente individualmente, e previamente autoclavados.

Ao ser removido, o biofilme dental foi guardado em tubos tipo eppendorf, contendo um mililitro de solução salina a 0.9%, e mantido em recipientes

com gelo para transporte e posterior congelamento, até o momento da extração do DNA.

5.8 COLETA DO FRAGMENTO DA MUCOSA GÁSTRICA

Esta etapa foi realizada pelo médico encoscopista, o qual retirava quatro fragmentos da mucosa gástrica, sendo dois fragmentos da região do antro e dois do corpo. Os fragmentos foram removidos por meio de pinça endoscópica.

Posteriormente, as amostras da mucosa gástrica foram colocadas em tubos tipo *ependorf*, contendo 1 ml de solução salina a 0.9%. As amostras foram mantidas em recipientes com gelo para transporte e posterior congelamento, até o momento da extração do DNA. Este procedimento ocorria durante a endoscopia.

5.9 TRATAMENTO DA INFECÇÃO GÁSTRICA PELO *H. PYLORI*

O tratamento da infecção gástrica pelo *H.pylori* ocorria após serem disponibilizados os resultados dos exames de PCR das amostras do estômago. Nesta ocasião, cada paciente participante do estudo foi informado sobre o resultado do seu exame, ou seja, positivo ou negativo para a bactéria.

Nos casos positivos para a mucosa gástrica os participantes foram convidados a comparecer ao Centro de Endoscopia Digestiva da Paraíba - CEDIPA para receberem, gratuitamente, a medicação sistêmica para o tratamento da infecção.

O tratamento do *H.pylori* para os G I e G III foi padronizado com o uso do Pyloripac® – lansoprazol 30 mg, claritromicina 500 mg, amoxicilina 500 mg – do laboratório Medley (COELHO, ZATERKA, 2005).

Os pacientes com resultados positivos para o estômago e para a boca (G I) recebiam o convite para se submeterem aos dois tratamentos – o periodontal, para diminuição do biofilme bucal, e o medicamentoso, para erradicação da bactéria no estômago, os quais foram realizados concomitantemente.

Os pacientes positivos para *H.pylori* apenas na cavidade bucal (G II), foram convidados a comparecer ao consultório odontológico da pesquisadora, para dar prosseguimento ao tratamento visando à diminuição do acúmulo de biofilme presente na boca.

O Tratamento Periodontal Básico, realizado no G I e G II, compreendia o controle do biofilme dental, tanto pela ação mecânica – por meio da motivação para uma boa higiene bucal, com uso correto da escova e do fio dental; raspagem e alisamento corono-radicular; e profilaxia dental – quanto pela ação auxiliar de agentes químicos como o digluconato de clorexidina em gel, na concentração de 2% e a 0,2%.

Cada paciente recebia um kit contendo escova dentária, fio dental e um tubo de creme dental, aos quais foram ensinadas corretamente as técnicas de escovação e do uso de fio dental. Os pacientes foram motivados e orientados para escovar os dentes numa frequência mínima de três vezes ao dia e, após a escovação, fazer uso do fio dental.

Na primeira sessão, o IPC foi feito para confirmar a primeira avaliação, obtida previamente a coleta das amostras, sobre a necessidade de tratamento periodontal de cada paciente. O plano de Tratamento Periodontal Básico foi elaborado de maneira a abranger as necessidades individuais em cada paciente.

Em cada plano de Tratamento Periodontal Básico estavam incluídos procedimentos que promoviam a remoção de fatores os quais facilitavam a retenção do biofilme – eliminação do cálculo, do excesso de material restaurador, das restaurações defeituosas e das cavidades de cáries – tentando minimizar, ao extremo, a quantidade de nichos propícios para o acúmulo de microrganismo, gerando a adequação do meio pela descontaminação bacteriana.

Na etapa seguinte, iniciou-se a remoção do cálculo dentário, através da raspagem e alisamento corono-radicular. Esse procedimento foi executado por intermédio de instrumentos periodontais manuais (curetas do Tipo Grayce nº 1-2, Grayce nº 3-4 para dentes anteriores; Grayce nº 7-8, Grayce nº 9-10, para os dentes posteriores nas faces vestibular e lingual; Grayce nº 11-12, Grayce nº 13-14 para os dentes posteriores nas faces mesial e distal) ou através da aparelhagem ultrassônica (Aparelho Profi II, Dabi Atlante), dependendo da quantidade de cálculo exibida por cada paciente.

Ao término da raspagem, iniciava-se à profilaxia nas áreas descontaminadas mecanicamente com escovas de Robson e taças de borracha e uma pasta confeccionada com clorexidina gel a 2% e pedras pomes, finamente pulverizada, numa proporção de dois para um – duas porções do gel de clorexidina para uma porção de pedra pomes. Posteriormente, fez-se o uso de tiras de lixa de acabamento nas áreas interproximais, com o intuito de remover qualquer resquício de biofilme ou cálculo destas áreas.

Concluído o polimento das faces dentárias por meio da profilaxia, os pacientes fizeram um bochecho com 10ml de solução de clorexidina na concentração de 0,2%, durante um minuto. Com esse bochecho se eliminava a pedra pomes da cavidade bucal sem grandes perdas para a concentração de clorexidina já em contato com as superfícies dentárias.

Após a primeira consulta os pacientes foram convidados a participar de mais duas sessões subseqüentes, nas quais foram repetidos os procedimentos de raspagem e alisamento corono-radicular – caso fossem necessários, profilaxia e o bochecho com a clorexidina.

Passados 30 dias da conclusão do tratamento sistêmico para erradicação da *H.pylori*, os pacientes dos grupos I e II foram submetidos a uma nova endoscopia.

Fragmento da mucosa gástrica (*specime*) e do biofilme bucal do G I foram coletados, enquanto que do G III foi coletado apenas fragmento de mucosa gástrica (*specime*). Do G II as amostras do biofilme dental foram coletadas 15 dias após o término do tratamento periodontal básico. As amostras dos respectivos grupos foram enviadas para laboratório, para confirmação da presença ou não da bactéria, através da PCR.

No caso de algum participante desses dois grupos, apresentasse persistência do *H. pylori* na mucosa gástrica, foi indicado um novo tratamento sistêmico, obedecendo a um outro protocolo designado pelo gastroenterologista. O mesmo não ocorria com os grupos submetidos ao tratamento periodontal básico, visto que, até o momento da pesquisa, ainda não havia estabelecido regimes de tratamento para esse microrganismo na cavidade bucal.

5.10 EXTRAÇÃO DO DNA

5.11 EXTRAÇÃO DO DNA DA MUCOSA GÁSTRICA

Após coleta do material e conservação do mesmo em tubo *ependorf* contendo 1ml de solução salina a 0,9%, foram seguidos os seguintes passos:

1. Centrifugação do material coletado, durante 5 min a 7000 rpm;
2. Descarte do sobrenadante;
3. Ressuspensão do *pellet* com 400 µl de Tampão de Lise (ver anexo);
4. Agitação mecânica em *vortex* por 1 min;
5. Adição de 10 µl de proteinase K (20mg/ml);
6. Incubação a 37° C por 1 h, em banho-maria;
7. Adição de 400 µl de fenol e agitação manual por 1 min;
8. Centrifugação a 7000 rpm por 1 min;
9. Retirada da fase aquosa para um novo tubo *ependorf*;
10. Adição de 400 µl de clorofórmio:álcool iso-amílico (24:1);
11. Agitação manual por 1 min;
12. Repetição dos passos 8, 9 e 10 por mais uma vez;
13. Retirada da fase aquosa para um novo tubo *ependorf*;
14. Adição de 40 µl de acetato de sódio 3M e 1 ml de etanol absoluto gelado;
14. Conservação dos tubos a -20°C por 1 h;
15. Centrifugação a 7000 rpm por 5 min;
16. Descarte do sobrenadante;
17. Secagem do *pellet* a 37°C por 30 min;
18. Adição de 100 µl de água Milli-Q estéril e estocagem a – 20 °C.

5.12 EXTRAÇÃO DO DNA DO BIOFILME DENTAL

Após coleta do material e conservação do mesmo em tubo *ependorf* contendo 1ml de solução salina a 0,9%, foram seguidos os seguintes passos:

1. Centrifugação do material coletado, durante 10 min a 7000 rpm;
2. Descarte do sobrenadante;
3. Ressuspensão do *pellet* com 600 µl de Tampão de Lise (ver anexo);
4. Incubação a 55° C por 3 h, em banho-maria;
5. Adição de 600µl de fenol:clorofórmio (25:24) e agitação manual por 1 min;
6. Centrifugação a 7000 rpm, por 1 min;
7. Retirada da fase aquosa para um novo tubo *ependorf*;
8. Adição de 600µl de clorofórmio:álcool isamílico (24:1) e agitação manual por 1 min;
8. Centrifugação a 7000 rpm por 1 min;
9. Retirada da fase aquosa para um novo tubo *ependorf*;
10. Adição de 300 µl de isopropanol gelado e misturar por inversão.
11. Conservação dos tubos a -20°C por 1 h;
12. Centrifugação a 12000 rpm por 20 min, a 4 °C;
13. Descarte do sobrenadante;
14. Adição de 1000 µl de etanol (70%).gelado e misturar por inversão;
15. Centrifugação a 12000 rpm, por 20 min, a 4 °C;
16. Descarte do sobrenadante;
17. Secagem do *pellet* a 37°C por 30 min;
18. Adição de 50 µl de água Milli-Q estéril e estocagem a – 20 °C.

5.13 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)

Para identificação do *H. pylori* foi utilizado um par de iniciadores (*Primers*) denominados EHC-U E EHC-L que, embora não estivessem direcionados

para amplificar uma região conservada espécie – específica do RNA ribossomal 16S da bactéria, foram citados pelos autores Song et al (1999) e Song et al (2000), como sendo mais específicos e sensíveis do que iniciadores já conhecidos.

Estudos sobre a homologia da seqüência mais conservada do gene 16S rRNA demonstraram que a espécie *Wolinella succinogens* é mais filogeneticamente semelhante a *Helicobacter pylori*, apresentando cerca de 90,2% de homologia (SONG et al, 2000).

As seqüências dos iniciadores utilizados nesta pesquisa foram:

EHC-U 5'CCCTCACGCCATCAGTCCCAAAA3'

EHC-L 5'AAGAAGTCAAAAACGCCCAAAAAC3'

Estes iniciadores amplificam um fragmento com 417 pares de bases (bp) e foram utilizados tanto nas ampliações do DNA de biofilme dental, como da mucosa gástrica. Uma amostra padrão de DNA de *H. pylori* também foi amplificada como controle positivo da reação.

Para a PCR de todas as amostras, foi preparada uma mistura (25 µl) contendo: 12,5 µl do kit de PCR - 50U/ml de *Taq* polimerase, 400 µM de cada dATp, dCTp, dGTp e dTTp e 3 mM de MgCl₂ (PCR Master Mix - PROMEGA); 100ng de DNA da amostra e 10 µM de cada iniciador.

As ampliações foram realizadas em termociclador (MJ Research - Ny, USA), com a seguinte programação: 94°C / 5 min, desnaturação inicial; 35 ciclos de 94°C / 1 min (desnaturação), 59°C / 1 min (anelamento) e 72°C / 1 min (extensão); 72°C / 5 min (extensão final) e resfriamento a 4°C por até duas horas (SONG et al, 2000) (Figura 4).



Foto 1 – Termociclador (MJ Research – Ny, USA).

Os produtos amplificados, amostra de DNA padrão de *Helicobacter pylori* e marcador molecular 100 ladder (PROMEGA), foram aplicados em gel de agarose (1,5%), contendo brometo de etídio (10 mg/ml - SIGMA) e tampão de corrida (PROMEGA).

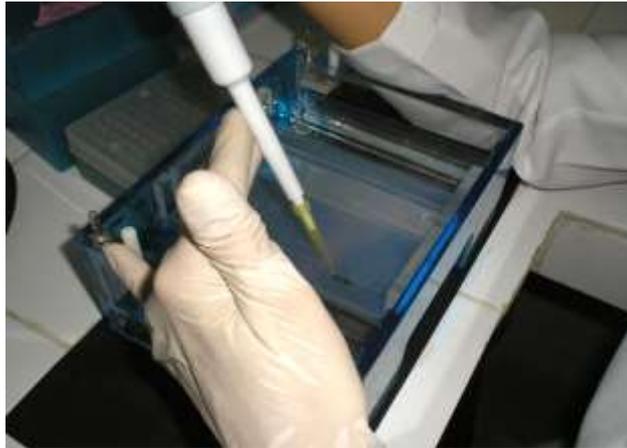


Foto 2 – Cuba de eletroforese.



Foto 3 – Corrida em cuba de eletroforese a 100 V.

Após corrida, em cuba de eletroforese a 100 V, por aproximadamente 1 h, o gel foi analisado e foto-documentado utilizando trans-iluminador e ImageMaster® VDS (Pharmacia Biotech), respectivamente, para verificar e registrar a presença ou não da banda correspondente ao padrão do DNA de *Helicobacter pylori* (417 bp). Cada amostra que apresentou bandeamento equivalente ao padrão, denominou-se paciente positivo para *Helicobacter pylori*.



Foto 4 Imagem da foto-documentação utilizando trans-iluminador e ImageMaster® VDS (Pharmacia Biotech)



Foto 5 – ImageMaster® VDS (Pharmacia Biotech).

5.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise dos dados foram obtidas distribuições absolutas, percentuais e as medidas estatísticas: média, desvio padrão, coeficiente de variação e os valores mínimo e máximo (Técnicas de estatística descritiva) e como também os testes Qui-quadrado de Pearson e Exato de Fisher, quando as condições para utilização do teste Qui-quadrado não foram verificadas. O teste da Razão da Verossimilhança quando não foi possível obter os resultados do teste Exato de Fisher e o teste F (ANOVA).

Os dados foram digitados na planilha Excel e o “software” estatístico utilizado para a obtenção dos cálculos estatísticos foi o SAS (Statistical Analysis System) na versão 8. O nível de significância utilizado nas decisões dos testes estatísticos foi de 5,0%.

6 RESULTADOS

Na Tabela 1 apresenta-se os resultados das características dos pacientes participantes da pesquisa segundo a sua população. Nesta tabela destaca-se que na população pesquisada ou grupo total a maior parte dos pacientes (46,3%) se encontrava numa faixa etária que variou de 31 a 50 anos e a menor (20,3%) parte estava representada por indivíduos com idade de 51 anos ou mais. O percentual de pacientes com idade entre 18 e 30 anos foi menor (17,0%) no G III sendo observado nos outros três grupos uma variação de 35,7% a 52,6%. O percentual dos pacientes com idade entre 31 a 50 anos foi mais elevado no G II e no G III (50,0% e 59,6% respectivamente) do que no G I e no G IV (31,6% e 37,2% respectivamente).

No grupo total houve predominância de pacientes do gênero feminino (60,2%). Entretanto, os pacientes do gênero masculino apresentaram-se numa frequência mais elevada no G I (52,6%), mantendo-se próximas no G II (5%), no G III (18%) e no G IV (36%). No grupo total a metade dos pacientes (48,8%), aproximadamente, foi classificada como não brancos e a outra metade (51,2%) como brancos. O percentual exibido pelos pacientes não brancos foi menos elevado no G II (35,7%) e permanecendo-se aproximado nos outros três grupos (G IV – 46,5%; G III – 51,1% e 57,9% no G I).

Avaliando o grau de instrução, aproximadamente a metade (50,4%) dos pesquisados tinha primeiro grau, seguido de 41,5% de indivíduos com segundo grau. Entre os grupos o percentual de pacientes com primeiro grau foi menos elevado (31,6%) no G I e demonstrou variação de 42,9% a 57,5% nos outros três grupos. Enquanto que o percentual de pacientes com segundo grau foi mais elevado (57,6%) no G I e percebeu-se uma variação de 35,7% a 41,9% nos outros três grupos.

Para nenhuma das quatro variáveis apresentadas na tabela (1) comprova-se diferença significativa entre os 4 grupos ao nível de significância considerado 5,0% ($p > 0,05$).

Tabela 1 – Avaliação das variáveis: gênero, etnia e grau de instrução segundo o grupo.

Variáveis	Grupo								Grupo total		Valor de p
	1		2		3		4				
	N	%	N	%	n	%	N	%	n	%	
• Idade (em anos)											
18 a 30	10	52,6	5	35,7	8	17,0	18	41,9	41	33,3	p ⁽¹⁾ = 0,0924
31 a 50	6	31,6	7	50,0	28	59,6	16	37,2	57	46,3	
51 ou mais	3	15,8	2	14,3	11	23,4	9	20,9	25	20,3	
TOTAL	19	100,0	14	100,0	47	100,0	43	100,0	123	100,0	
• Gênero											
Masculino	10	52,6	5	35,7	18	38,3	16	37,2	49	39,8	p ⁽²⁾ = 0,6668
Feminino	9	47,4	9	64,3	29	61,7	27	62,8	74	60,2	
TOTAL	19	100,0	14	100,0	47	100,0	43	100,0	123	100,0	
• Etnia											
Melanoderma	11	57,9	5	35,7	24	51,1	20	46,5	60	48,8	p ⁽²⁾ = 0,6204
Leucoderma	8	42,1	9	64,3	23	48,9	23	53,5	63	51,2	
TOTAL	19	100,0	14	100,0	47	100,0	43	100,0	123	100,0	
• Grau de instrução											
Analfabeto	1	5,3	1	7,1	1	2,1	-	-	3	2,4	p ⁽¹⁾ = 0,3065
1º grau	6	31,6	6	42,9	27	57,5	23	53,5	62	50,4	
2º grau	11	57,9	5	35,7	17	36,2	18	41,9	51	41,5	
3º grau	1	5,3	2	14,3	2	4,3	2	4,6	7	5,7	
TOTAL	19	100,0	14	100,0	47	100,0	43	100,0	123	100,0	

(1) – Através do teste Exato Fisher

(2) – Através do teste Qui-quadrado de Pearson.

Dos resultados da Tabela 2, destaca-se que: a minoria (20,3%) dos pacientes tinha utilizado medicamento nas quatro semanas antes da pesquisa e entre os grupos este percentual variou de 14,3% a 21,3%.

A minoria dos pacientes (17,9%) tinha História Familiar de úlcera péptica sendo que este percentual mostrou-se menos elevado (7,1%) no G II e com valores aproximados nos outros três grupos (variou de 15,8% a 21,3%).

Dos pacientes com história familiar (1º grau) de câncer gástrico registrou-se um percentual de 6,5%, sendo que este percentual variou de 0,0% (no G II) até 11,6% (no G IV).

A maioria dos pacientes (65,8%) relatou antecedente pessoal de doença gastroduodenal, sendo este percentual menos elevado no G II e no G IV (57,1% e 58,1) e mais elevado no G I (73,7%) e no G III (72,3%). Entre os que afirmaram ter antecedente pessoal de doença gastroduodenal foram citadas a gastrite (com percentual mínimo de 85,3%) e úlcera péptica com percentuais de 12,0% a 25,0%.

A presença do hábito de tabagismo foi observada na minoria (6,5%) dos pacientes e entre os grupos este percentual variou de 0,0% a 9,3%. No entanto,

o hábito de alcoolismo foi citado por cerca de 1/4 dos pacientes, sendo mais freqüente no G II e permanecendo próximo os valores dos outros três grupos.

Apesar das diferenças citadas não se comprova diferença significativa entre os grupos para nenhuma das variáveis relacionadas na tabela ($p > 0,05$).

Tabela 2 – Avaliação das variáveis: uso de medicamento nas últimas 4 semanas, história familiar de úlcera péptica, história familiar de câncer gástrico (1º grau), antecedente pessoal de doença gastroduodenal e o tipo gastroduodenal, tabagismo e etilismo.

Variáveis	Grupo								Grupo total		Valor de p
	1		2		3		4		N	%	
	n	%	n	%	n	%	N	%	N	%	
• Uso de medicamento nas 4 semanas antes da pesquisa											
Sim	4	21,1	2	14,3	10	21,3	9	20,9	25	20,3	$p^{(1)} = 0,9742$
Não	15	88,9	12	85,7	37	78,7	34	79,1	98	79,7	
TOTAL	19	100,0	14	100,0	47	100,0	43	100,0	123	100,0	
• História familiar de úlcera péptica											
Sim	3	15,8	1	7,1	10	21,3	8	18,6	22	17,9	$p^{(1)} = 0,7410$
Não	16	84,2	13	92,9	37	78,7	35	81,4	101	82,1	
TOTAL	19	100,0	14	100,0	47	100,0	43	100,0	123	100,0	
• História familiar de câncer gástrico (1º grau)											
Sim	1	5,3	-	-	2	4,3	5	11,6	8	6,5	$p^{(1)} = 0,4965$
Não	18	94,7	14	100,0	45	95,7	38	88,4	115	93,5	
TOTAL	19	100,0	14	100,0	47	100,0	43	100,0	123	100,0	
• Antecedente pessoal de doença gastroduodenal											
Sim	14	73,7	8	57,1	34	72,3	25	58,1	81	65,8	$p^{(2)} = 0,3904$
Não	5	26,3	6	42,9	13	27,7	18	41,9	42	31,2	
TOTAL	19	100,0	14	100,0	47	100,0	43	100,0	123	100,0	
• O tipo de doença Gastroduodenal											
Gastrite	13	92,9	7	87,5	29	85,3	23	92,0	72	88,9	
Úlcera	3	21,4	2	25,0	6	17,6	3	12,0	14	17,3	
BASE⁽¹⁾	14		8		34		25		81		
• Tabagismo											
Sim	-	-	1	7,1	3	6,4	4	9,3	8	6,5	$p^{(1)} = 0,6665$
Não	19	100,0	13	92,9	44	93,6	39	90,7	115	93,5	
TOTAL	19	100,0	14	100,0	47	100,0	43	100,0	123	100,0	
• Etilista											
Sim	4	21,1	6	42,9	12	25,5	11	25,6	33	26,8	$p^{(2)} = 0,5262$
Não	15	78,9	8	57,1	35	74,5	32	74,4	90	73,2	
TOTAL	19	100,0	14	100,0	47	100,0	43	100,0	123	100,0	

(1) – Através do teste Exato Fisher

(2) – Através do teste Qui-quadrado de Pearson.

Na Tabela 3 apresenta-se os resultados da ocorrência do *Helicobacter pylori* na cavidade bucal, no segundo exame de PCR, após os pacientes terem se

submetido ao tratamento periodontal básico (G I e G II). Nesta tabela verifica que, dos 19 pacientes positivos para a bactéria na cavidade bucal e no estômago (G I), apenas 16 (84%) se submeteram ao tratamento (estômago e boca). Dos 14 pacientes positivos para a bactéria na cavidade bucal (G II), apenas oito (47,05%) se submeteram ao tratamento (boca). Como resultado observou-se que, com exceção de um paciente do G I (6,2%) e do G II (12,5%), todos os demais foram negativos para a bactéria e não se comprova diferença significativa entre os dois grupos. Ressalta-se que o G III e G IV não foram submetidos ao referido exame porque apresentaram resultado negativo para *Helicobacter pylori* na primeira avaliação.

Tabela 3 – Avaliação do segundo exame para HP no exame de boca segundo o grupo.

Tratamento	Grupo								Grupo total n %	Valor de p	
	1		2		3		4				
	N	%	N	%	n	%	n	%			
Positivo	1	6,2	1	12,5					2	8,3	p ⁽¹⁾ = 1,0000
Negativo	15	93,7	7	87,5					22	91,7	
TOTAL	16	100,0	8	100,0					24	100,0	

(1) – Através do teste Exato Fisher

Nas Fotos 6 e 7 observa-se a leitura da PCR, após o processo de eletroforese em gel de agarose a 1,5%. O bandejamento representa uma seqüência de nucleotídeos de um fragmento de 417bp amplificados a partir do DNA do *Helicobacter pylori*. Como resultado leu-se que as amostras amplificadas possuem o DNA do microrganismo em questão. As amostras 1 e 2 representaram paciente positivo para o estômago e negativo para o biofilme dental, respectivamente. Já as de número 3 e 4 apresentaram um pacientes positivos em boca e estômago, enquanto as amostras 5 e 6 se constatou ser o pacientes se encontrou-se positivo só para o biofilme bucal (amostra 6). Na Figura (2) no primeiro poço, encontramos representado o Marcador (M), a amostra 1 representa bandejamento inespecífico e as demais são todas positivas para o *Helicobacter pylori* (Bandeamento na altura dos 400 pares de bases).

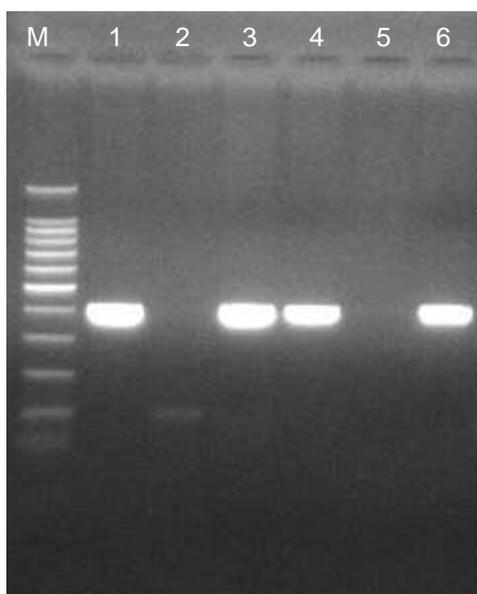


Foto 6 – Imagem da foto-documentação dos resultados

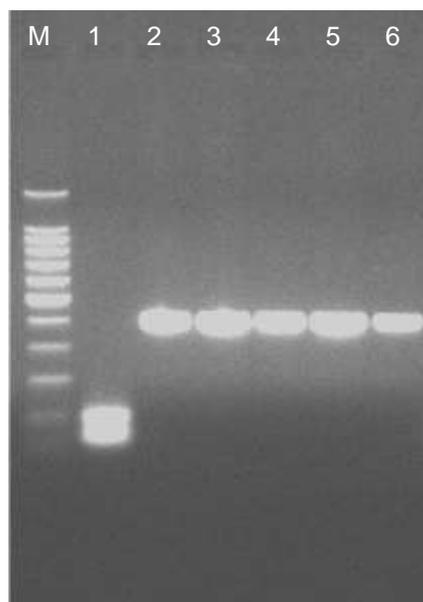


Foto 7 – Imagem da foto-documentação dos resultados

Na Tabela 4 verifica-se que a maioria dos pacientes do G I e do II apresentou resultado negativo para *Helicobacter pylori* no exame de PCR de amostras do estômago realizado após o tratamento para de erradicação do mesmo, sendo 75,0% no G I e 87,0% no G III, diferença esta que não se revela significativa entre os dois grupos em relação aos resultados do exame ($p > 0,05$).

Tabela 4 – Avaliação do segundo exame para HP no exame de estômago segundo o grupo.

Tratamento	Grupo								Grupo total n %	Valor de p	
	1		2		3		4				
	N	%	N	%	n	%	n	%			
Positivo	4	25,0			3	13,0			7	17,9	$p^{(1)} = 0,4151$
Negativo	12	75,0			20	87,0			32	82,1	
TOTAL	16	100,0			23	100,0			39	100,0	

(1) – Através do teste Exato Fisher

A Tabela 5 representa as queixas e o resultado do diagnóstico da endoscopia do grupo total. Os resultados do diagnóstico clínico encontram-se listados em ordem decrescente de frequência. Nesta tabela destaca-se que: a queixa mais citada que levou o paciente a fazer a endoscopia foi a dor de estômago, registrando o mínimo de 94,7% dos pacientes (G I), seguido de queimor que

mostrou uma variação de 21,1% a 35,7%. A presença de azia foi registrada em 21,1% dos pacientes do G I, 34,0% no G III e 16,3% no G IV.

Com exceção de um exame que apresentou diagnóstico normal todos os demais apresentaram alguma alteração, sendo a gastrite (nos graus leve, moderada, crônica ou erosiva) o diagnóstico clínico mais freqüentemente registrado, com mínimo 94,7% dos pacientes do G I, seguido de hérnia hiato (21,1%). Os demais diagnósticos tiveram percentuais inferiores ou iguais a 5,7% o qual corresponde ao apresentado pela esofagite crônica (5,7%).

Tabela 5 – Avaliação do grupo segundo as variáveis: queixa principal que levou a fazer a endoscopia, diagnóstico da endoscopia, teste de uréase, Índice Periodontal Comunitário (IPC) e diagnóstico pós tratamento.

Variáveis	Grupo									
	1		2		3		4		Grupo total	
	n	%	n	%	N	%	n	%	n	%
• Queixa principal que levou a fazer a endoscopia										
Dor de estômago	18	94,7	14	100,0	45	95,7	42	97,7	119	96,7
Queimor	4	21,1	5	35,7	14	29,8	11	25,6	34	27,6
Inchaço	1	5,3	1	7,1	3	6,4	-	-	5	4,1
Azia	4	21,1	-	-	16	34,0	7	16,3	2	1,6
Peso	-	-	-	-	2	4,3	-	-	2	1,6
Empachamento	-	-	-	-	1	2,1	-	-	1	0,8
Andor na língua	-	-	-	-	1	2,1	-	-	1	0,8
BASE	19		14		47		43		123	
• Diagnóstico da endoscopia										
Normal	-	-	-	-	1	2,1	-	-	1	0,8
Gastrite/leve/moderada/ crônica/ erosiva	18	94,7	14	100,0	45	95,7	42	97,7	119	96,7
Hérnia hiatal por deslizamento de pequeno tamanho	3	15,8	1	7,1	14	29,8	8	18,6	26	21,1
Esofagite crônica	2	10,5	-	-	3	6,4	2	4,6	7	5,7
Bulbo deformado	-	-	-	-	2	4,3	-	-	2	1,6
Mega esôfago grau I/II/ III	1	5,3	-	-	-	-	1	2,3	2	1,6
Pangostrite aguda erosiva e hemorrágica	-	-	-	-	1	2,1	1	2,3	2	1,6
Pólipo de antro	-	-	-	-	2	4,3	-	-	2	1,6
Úlcera deodenol	-	-	1	7,1	1	2,1	-	-	2	1,6
Cera ativa préпилárica	-	-	-	-	-	-	1	2,3	1	0,8
Defermidade pirobulbar	1	5,3	-	-	-	-	-	-	1	0,8
Duodenocom micro erosões	-	-	1	7,1	-	-	-	-	1	0,8
Hérnia hiatal por deslizamento de grande tamanho	-	-	-	-	-	-	1	2,3	1	0,8
Lesão elevada de antro	-	-	-	-	1	2,1	-	-	1	0,8
Prolápo gasto-esofágico	-	-	-	-	1	2,1	-	-	1	0,8
Sub-estenose de cárdia	1	5,3	-	-	-	-	-	-	1	0,8
Úlcera bulbar em atividade	1	5,3	-	-	-	-	-	-	1	0,8
Varize de esôfago	1	5,3	-	-	-	-	-	-	1	0,8
BASE	19		14		47		43		123	

Nas Tabelas 6 e 7 analisaram-se os resultados do Índice Periodontal Comunitário. Sendo que na Tabela 6 é possível verificar que: a maioria dos pacientes (51,2%) apresentou o Índice Periodontal Comunitário igual a 2, seguido do

índice 3 com 29,3% da amostra. No G I, os dois maiores percentuais corresponderam aos pacientes com código igual a 1 e 4 (36,8% em cada valor), enquanto que no G III e G IV os maiores percentuais corresponderam aos pacientes com código iguais a 2 e 3. No G II o maior percentual correspondeu aos pacientes com código igual a 2 e os percentuais com códigos iguais a 1 e 3 foram exatamente iguais no G III (21,4%). Através do teste estatístico comprova-se diferença significativa entre os grupos em relação aos resultados do índice periodontal ($p < 0,05$).

Tabela 6 – Avaliação Índice Periodontal Comunitário (IPC) segundo o grupo.

Índice periodontal Comunitária (IPC)	Grupo								Grupo total		Valor de p
	1		2		3		4		n	%	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
1	7	36,8	3	21,4	2	4,3	1	2,3	13	10,6	$p^{(1)} < 0,0001^*$
2	2	10,5	6	42,9	30	63,8	25	58,1	63	51,2	
3	3	15,8	3	21,4	14	29,8	16	37,2	36	29,3	
4	7	36,8	2	14,3	1	2,1	1	2,3	11	8,9	
TOTAL	19	100,0	14	100,0	47	100,0	43	100,0	123	100,0	

(*) – Diferença significativa ao nível de 5.0%.

(1) – Através do teste Razão de Verossimilhança

Quando se analisa em termos de média do índice periodontal não se observa diferenças elevadas, visto que as médias variaram de 2,29 (G II) até 2,53 (G I) e não se comprova diferença significativa entre os grupos em relação à média do referido índice ($p > 0,05$) conforme resultados apresentados na Tabela 7

Tabela 7 – Estatísticas do índice periodontal segundo o grupo.

Estatística	Grupo				TOTAL	Valor de p
	1	2	3	4		
Média	2,53	2,29	2,30	2,40	2,37	$p^{(1)} = 0,7270$
Desvio padrão	1,35	0,99	0,59	0,58	0,79	
Coeficiente de variação	53,38	43,51	25,53	24,34	33,48	

(1) – Através do teste F (ANOVA)

Nas Tabelas 8 e 9 analisam-se os resultados do índice periodontal comparando-os com os resultados de positividade para o *Helicobacter pylori* na boca no primeiro exame e segundo exame respectivamente.

Da Tabela 8 analisa-se o Índice Periodontal Comunitário e sua relação com a presença do *Helicobacter pylori* na boca. Verificou-se que entre os 33

pacientes positivos para a bactéria na cavidade bucal 10 apresentavam código 1, seguido pelo código 4 registrado em nove pacientes. Os códigos 2 e 3 foram encontrados em 8 e 6 pacientes, respectivamente. Do grupo total, apresentado o código 1, 90,9% eram positivos para o *Helicobacter pylori* na boca, seguidos pelo código 4 com 90,0%. Apresentando o Código 2 e 3 foram observados os percentuais de 24,2% e 27,3%, respectivamente.

Tabela 8 – Avaliação ocorrência de HP na boca no 1º exame segundo o índice periodontal.

Índice periodontal	HP na boca - 1º exame				TOTAL		Valor de p
	Positivo		Negativo		n	%	
	n	%	n	%			
1	10	90,9	1	9,1	11	100,0	p ⁽¹⁾ < 0,0001*
2	8	24,2	25	75,8	33	100,0	
3	6	27,3	16	72,7	22	100,0	
4	9	90,0	1	10,0	10	100,0	
Grupo total	33	43,4	43	56,6	76	100,0	

(*) – Associação significativa ao nível de 5.0%.

(1) – Através do teste Exato Fisher

Em relação ao segundo exame verifica-se que apenas dois pacientes foram positivos, sendo um paciente com código igual a 2 e outro com índice igual a 4, o que não se comprova associação significativa entre o Índice Periodontal Comunitário elevado, doença periodontal, e *Helicobacter pylori* na boca no segundo exame ($p > 0,05$) conforme resultados apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 – Avaliação ocorrência de HP na boca no segundo exame segundo o índice periodontal.

Índice periodontal	HP na boca - 2º exame				TOTAL		Valor de p
	Positivo		Negativo		N	%	
	n	%	n	%			
1	-	-	9	100,0	9	100,0	p ⁽¹⁾ = 0,6087
2	1	16,7	5	83,3	6	100,0	
3	-	-	3	100,0	3	100,0	
4	1	14,3	5	83,3	6	100,0	
Grupo total	2	8,3	22	91,7	24	100,0	

(*) – Diferença significativa ao nível de 5.0%.

(1) – Através do teste Exato Fisher

Na Tabela 10 analisa-se os resultados do *Helicobacter pylori* no estômago no primeiro exame segundo as variáveis: Histórico na familiar de úlcera

péptica, histórico familiar de câncer gástrico e antecedente pessoal de doença gastroduodenal.

Nesta tabela observa-se que a maior diferença percentual nos casos positivos foi registrada entre os pacientes que tinham ou não histórico familiar de câncer gástrico, se registrado, portanto, mais elevado os que não tinham o referido histórico (62,4% x 37,5% respectivamente). Entretanto devido ao número de casos com histórico presente não se comprova associação significativa entre as variáveis histórico familiar de câncer gástrico e os resultados do exame para *Helicobacter pylori* no estômago no primeiro exame ($p > 0,05$). Para as outras duas variáveis não se verificam diferenças elevadas e não se comprova associação significativa ($p > 0,05$).

Tabela 10 – Avaliação da ocorrência de HP no estômago no 1º exame segundo as variáveis: histórico na familiar de úlcera péptica, histórico familiar de câncer gástrico e antecedente pessoal de doença gastroduodenal.

Variáveis	HP no estômago – 1º exame				TOTAL		Valor de p
	Positivo		Negativo		n	%	
	N	%	n	%			
• Histórico na familiar de úlcera péptica							
Presente	13	61,9	8	38,1	21	100,0	$p^{(1)} = 0,8876$
Ausente	53	60,2	35	39,8	88	100,0	
Grupo total	66	60,5	43	39,5	109	100,0	
• Histórico familiar de câncer gástrico							
Presente	3	37,5	5	62,5	8	100,0	$p^{(2)} = 0,2596$
Ausente	63	62,4	38	37,6	101	100,0	
Grupo total	66	60,5	43	39,5	109	100,0	
• Antecedente pessoal de doença Gastroduodenal							
Presente	48	65,8	25	34,2	73	100,0	$p^{(1)} = 0,1135$
Ausente	18	50,0	18	50,0	36	100,0	
Grupo total	66	60,5	43	39,5	109	100,0	

(1) – Através do teste Qui-quadrado de Pearson.

(2) – Através do teste Exato Fisher

7 DISCUSSÃO

O *Helicobacter pylori*, desde sua descoberta por Warren e Marshal em 1983, desperta interesse global devido a sua importância como agente etiológico da gastrite crônica ativa, da úlcera péptica e do câncer gástrico.

Nesse trabalho, o diagnóstico da presença do *Helicobacter pylori* nas amostras de biofilme e estômago foi realizado por meio de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). Esse teste de diagnóstico foi escolhido por ter a capacidade de detectar um microrganismo alvo em baixas concentrações, com alta especificidade, além de que, o material a ser analisado pode ser proveniente de biópsia de qualquer tecido, suco gástrico, biofilme dental, saliva ou sangue (ALBERTS et al, 2004; SUERBUM; MICHETTI, 2002).

O teste de urease, embora amplamente difundido para o diagnóstico do *Helicobacter pylori* no estômago, não se aplica à cavidade bucal visto que microrganismos presentes na boca, como o *Streptococcus salivarius*, são produtores de urease, acarretando em um falso positivo (WEEKS; SANCHS; 2001).

Os testes Histológicos e de Cultura apresentam dificuldades em sua aplicação devido ao envolvimento do *Helicobacter pylori* no biofilme dental, dificultando o seu isolamento das outras bactérias, e por ele se apresentar na forma cocoide, frequentemente encontrada na cavidade bucal, de difícil crescimento (BODE, MAUCH e MALFERTHEINER, 1993; LEE, FOX e HAZEL, 1993; SUERBUM; MICHETTI, 2002), podendo acarretar em um falso negativo.

Através do uso da PCR, a ocorrência de um falso positivo é remota, o que certifica a presença do microrganismo. Essa técnica foi escolhida e reconhecida pela maioria dos autores que pesquisaram o *Helicobacter pylori* na cavidade bucal como a mais específica e sensível (ÁLVARES et al, 2006; FAT-MOON SUK et al, 2002; GEBARA et al, 2004; MIYABAYASHI et al, 2000; OSHOWO ET AL, 1998b; SONG et al, 2000a; SONG et al, 2000c; UEMURA et al, 2001). Há pouca possibilidade de um falso negativo, pois esse exame tem capacidade de detectar um microrganismo alvo em baixas concentrações.

Foram examinadas 123 amostras de biofilme e o mesmo número de biópsias de estômago. O resultado positivo foi obtido em 33 amostras de biofilme

(26%) e 66 amostras de estômago (53,65%). Embora se tenha utilizado o mesmo “Primer” dos autores Song et al (2000c) e Song et al (2000a), diferenças significativas foram encontradas quando comparados os achados dos referidos autores com os do presente estudo (97% e 100% de positividade para o biofilme bucal respectivamente).

Investigações epidemiológicas comprovam que o *Helicobacter pylori* apresenta-se distribuído por todo o mundo com prevalências diferentes entre os países (GO, 2002; PETTERSON, 2002). Neste estudo, a prevalência da bactéria na mucosa gástrica foi de 53,65%. Este percentual aproxima-se dos resultados encontrados por Solari et al (1994) que observou uma prevalência de 59,5%, entretanto, difere de outros resultados encontrados na maioria das pesquisas realizadas no Brasil, as quais exibem percentuais mais elevados, tais como: Santa Maria – 83%, Rio Grande do Sul (MELLO, MELLO, 1991); Nossa Senhora do Livramento – 84,7%, Mato Grosso (SOUTO et al, 1998); Botucatu – 85,18%, São Paulo (LADEIRA,1997); Araçuaí – 87%, Minas Gerais (OLIVEIRA et al,1999); Campinas – 89,6%, São Paulo (MAGALHÃES et al,1991); e São Luís – 96%, Maranhão (BEZERRA et al, 1996).

Mesmo com esta alta prevalência constatada por estes autores, segundo Banatvala et al (1993b) a infecção pelo *Helicobacter pylori* está se tornando menos freqüente nos últimos 10 anos. O que está em conformidade com os resultados obtidos nessa pesquisa, visto que, dos 123 pacientes examinados, apenas 80 encontravam-se infectados. Destes, 47 estavam infectados na mucosa gástrica (38,21%), 14 com infecção na boca (11,38%) e 19 com infecções no estômago e na boca simultaneamente (15,44%) (Tabela1).

Diferentes estudos epidemiológicos também relatam que a infecção pelo *Helicobacter pylori* apresenta tendência a progredir com a idade (AL-MOAGEL et al,1990; GRAHAM et al, 1991; HOP KIKUCHI, 2002; KEIN et al, 1991; KINS et al, 1993). Porém, nos países em desenvolvimento, a infecção é mais freqüente em indivíduos de baixo nível sócio-econômico e cultural e a prevalência apresenta-se elevada na fase adulta e infantil (FIEDOREK et al, 1991; MENDAL et al, 1992, GRAHAM et al, 1991; BONAMIGO, LEITE, BAKOS, 1999). Essas informações estão de acordo com o presente estudo, no qual o grupo total de pesquisados apresenta a faixa etária de maior freqüência compreendida entre 31 e 50 anos de idade, revelando um percentual de 46,3%. No G II e no G III esse percentual foi mais

elevado (50% e 59,6%, respectivamente), enquanto que no G I foi de 31,6%. Na faixa etária entre 18 e 30 anos foram obtidas as seguintes variações: G III (17%), alternando de 35,7% a 52,6% no G II e no G I, respectivamente (Tabela 1).

Segundo Kodaira et al (2002), a prevalência da infecção declina com o avançar da idade, o que se foi observado no presente estudo, no qual a faixa etária dos pacientes acima de 51 anos foi a menos afetada, com 20,3% da amostra (Tabela 1).

Em relação ao gênero, observou-se uma predominância do feminino (60,2%) nos quatro grupos. No entanto, registrou-se uma elevação do gênero masculino no G I (52,6%) enquanto os percentuais dos grupos 2, 3 e 4 foram aproximados (35,7%, 38,3%, e 37,2%). Dos 66 pacientes positivos para o *Helicobacter pylori* no estômago, 28 (42,43%) eram do gênero masculino e 38 (57,57%) do feminino. Esses dados diferem dos encontrados por Martins et al (2002), que registraram a prevalência de 74% para o gênero masculino e 26% para o feminino; porém aproximam-se dos dados encontrados por Bezerra (1998), cujas prevalências dos gêneros foram: feminino – 64% e masculino – 36% (Tabela 1).

Quanto ao aspecto étnico, observa-se um sensível aumento da prevalência do *Helicobacter pylori* na população negra (HOPKINS et al, 1990; GRAHAM et al 1991; GRAHAM, MALATY, 1994). Entretanto, os resultados obtidos na presente pesquisa mostram não haver diferença, visto que, o percentual encontrado foi de 50% para a população branca e não branca. Já o percentual de pacientes não brancos obteve uma discreta diferença, para menos, no G II, porém permaneceu aproximado nos demais grupos (Tabela 1).

A transmissão do microrganismo é facilitada por precárias condições de higiene, pela aglomeração de indivíduos ou mesmo pelo contato mais íntimo entre infectados e não infectados, aumentando o risco de contaminação (FIEDOREK et al, 1991; MENDAL et al, 1992, GRAHAM et al, 1991; BONAMIGO, LEITE, BAKOS, 1999).

Em relação às questões sócio-culturais, o estudo em questão mostrou que, aproximadamente, metade dos pacientes pesquisados (50,4%) cursou apenas o primeiro grau, enquanto a segunda maior prevalência (41,5%) ocorreu nos indivíduos com até o segundo grau. Os pontos extremos da abordagem sobre o grau de instrução atingiram os percentuais de 6,25% (cinco pacientes) para o nível universitário e 3,75% (três pacientes) para os analfabetos. Embora tenham sido

apresentadas algumas diferenças, quando aplicados os testes estatísticos, esses dados foram considerados insignificantes ($p= 0,3065$) (Tabela 1).

Outras pesquisas enfatizaram a presença do *Helicobacter pylori* no biofilme dental e encontraram as seguintes prevalências: Fat-Moon Suk et al (2002) – 43,07%; Gebara et al – 46,6%; Miyabayashi et al (2000) – 48,93%; Oshowo et al (1998b) – 7,2%; Song et al (2000a) – 100%; Song et al (2000c) – 97%. Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que dos 80 pacientes examinados e infectados, 19 (23,75%) encontravam-se contaminados na boca e no estômago e 14 (17,5%) apenas na boca, perfazendo o total de 33 pacientes com *pylori* presente na cavidade bucal (41,25%)(Tabela 3). Observou-se que estes resultados ficaram abaixo da média da prevalência (57,13%), obtida com a soma dos demais estudos.

A baixa prevalência do *Helicobacter pylori* na boca pode está relacionada com o número baixo de microrganismos presentes, tornando difícil sua identificação (SONG et al, 2000c); sua ocorrência transitória, resultado ocasional do refluxo gástrico esofágico (CHECCHI et al, 2000; SALVOLDI et al, 2000) ou devido o *Helicobacter pylori* ter seu crescimento inibido ou mesmo influenciado pelo convívio com outras bactérias.

Krausser et al (2005) examinaram a influência *in vitro* de vários microrganismos sobre 31 cepas de *Helicobacter pylori*. Eles observaram que esta bactéria obteve o seu crescimento inibido por um grande número de bactérias comensais e patógenos oportunistas. Entretanto, para o *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus áureos*, *Pseudomonasa eruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Bacteróides fragilis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Clostridium difficile*, apresentou pouca ou nenhuma reação de inibição de crescimento. Andersen et al (1998) estudando a agregação do *Helicobacter pylori* com outras 79 cepas de 16 gêneros, relatou que o mesmo só foi capaz de se agregar ao *Fusobacterium nucleatum* e *Fusobacterium periodonticum*. Os autores concluíram que a habilidade de colonizar a cavidade bucal ocorre pela adesão seletiva ubíqua oferecida pelo *Fusobacterium*

A boca é citada como um reservatório de infecção e de reinfecção pelo *Helicobacter pylori* (DESAI et al, 1991), sendo a principal via de transmissão, com a transferência direta de um indivíduo para outro. Entretanto, ainda não é possível determinar se a via de transmissão é oral-oral ou fecal-oral. (LI et al, 1995;

MAPSSONE et al, 1993; ROTHENBACHER et al, 1998; THOMAS et al, 1992). Além de que, o *Helicobacter pylori* é uma bactéria não invasiva e frágil em condições laboratoriais, só conseguindo atingir a mucosa gástrica com entrada pela boca (KODAIRA et al, 2002).

Apoiados nas conclusões que a boca pode ser um *habitat* para o *Helicobacter pylori*, alguns autores tentaram estabelecer uma relação entre a presença dessa bactéria na cavidade bucal com a quantidade de biofilme dental e doença periodontal (DESAI et al, 1991; SONG et al, 2000a; SONG et al, 2000c).

Song et al (2000a) avaliaram diferentes sítios, dentro de uma mesma cavidade bucal, e verificaram que apresentavam diferentes prevalências. De 42 pacientes, submetidos à endoscopia, foram examinadas, através de PCR, amostras de molares, pré-molares, incisivos e saliva. Dentre eles, identificaram-se 41 (97%) positivos para a o biofilme dental, e 23 positivos para a saliva. Os sítios mais prevalentes, dos positivos para o biofilme dental, estavam localizados na região de molares, o que denota a característica de microaerofilia da bactéria.

Gebara et al (2004) examinaram a amostra de biofilme e saliva de 30 pacientes positivos para *Helicobacter pylori* na mucosa gástrica e portadores de doença periodontal, dos quais 15 tinham gengivite e 15 periodontite. Destes, 13 (43%) foram positivos para o *Helicobacter pylori* na boca. A prevalência do *Helicobacter pylori* em amostra de biofilme exibiu-se mais alta (seis para o biofilme supragengival e 6 para subgengival, apenas uma para saliva), demonstrando que grau da patologia apresentada pelo periodonto não interfere na prevalência dessa bactéria na boca. Esses resultados, quando avaliados junto com a composição e formação do biofilme dental, podem ser fortalecidos visto que o *Fusobacterium nucleatum* e *Fusobacterium periodonticum* fazem parte do conjunto de bactérias que compõe a colonização secundária, onde há a transição do meio aeróbio para o anaeróbio, presente tanto em pacientes com gengivite como com periodontite.

A avaliação periodontal, no presente trabalho, foi realizada por meio do IPC (Índice Periodontal Comunitário) em todos os pacientes participantes da pesquisa. Observou-se que a maioria dos pacientes (51,2%) apresentou IPC igual a 2, seguido do código 3 para 29,3% da amostra. Os códigos 1 e 4 obtiveram os percentuais de 10,6% e 8,9%, respectivamente (Tabela 6)

No G I, os dois maiores percentuais corresponderam aos códigos 1 e 4 (com 36,8% cada). Enquanto que, no G III e no G IV, os maiores percentuais corresponderam aos códigos 2 e 3 (Tabela 6).

No G II, o maior percentual correspondeu aos pacientes com códigos 2, e os percentuais com códigos iguais a 1 e 3 foram exatamente iguais no G III (21,4%). Através do teste estatístico, comprovou-se uma diferença significativa entre os grupos em relação aos resultados do Índice Periodontal Comunitário ($p < 0,05$). Porém, avaliando os resultados em termo de média, não se observou diferenças significantes, visto que as médias variaram de 2,29 (G II) até 2,53 (G I) (Tabela 6). Verificou-se também que a média mais alta e a mais baixa estavam presentes nos grupos onde havia positividade do *Helicobacter pylori* na boca (Tabela 6), estabelecendo assim, uma concordância com os achados de Gebara et al (2004) que não encontraram correlação entre a severidade da doença periodontal e a presença do *Helicobacter pylori* na boca.

A terapia tripla, a base de antibióticos (1ª escolha: Amoxicilina 1,0g + Claritromicina 500mg; 2ª escolha: Claritromicina 500mg + Furalizodona 200mg; 3ª escolha: Furalizodona 200mg, três vezes ao dia, e tetraciclina 500mg, quatro vezes ao dia), adotada para o tratamento do *Helicobacter pylori* na mucosa gástrica, não erradica a bactéria presente no biofilme dental (DESAI et al, 1991). A organização das bactérias em biofilmes permite que elas se tornem até 1000 vezes mais resistentes aos antimicrobianos do que as mesmas na forma dispersa (GILBERT et al, 1997).

Fat-Moon Suk et al (2002) investigaram a coexistência de infecção pelo *Helicobacter pylori* no biofilme dental e no estômago e o efeito da terapia sistêmica sobre a bactéria instalada no mesmo. Após a terapia sistêmica, o microrganismo foi eliminado do estômago em 84% dos casos, porém apenas 7% dos pacientes conseguiram a erradicação da bactéria no biofilme. Miyabayashi et al (2000) observaram que dos 23 pacientes positivos para o *Helicobacter pylori* na cavidade bucal, 14 permaneceram com o microrganismo na boca após terapia tríplice. Estes pesquisadores sugeriram que a terapia antimicrobiana sistêmica é ineficaz para o *Helicobacter pylori* presente no biofilme dental. Ressaltou-se também a necessidade do controle do biofilme dental, por meio de procedimentos básicos periodontais, concomitante com o tratamento sistêmico de erradicação do microrganismo, em

pacientes infectados no estômago e na boca (AVUC et al, 2001; FAT-MOON SUK et, 2002; MIYABAYASHI et al, 2000; OGUNBODEDE et al, 2002).

Entre os pacientes submetidos ao tratamento periodontal básico, dois não obtiveram a erradicação do *Helicobacter pylori* na cavidade bucal. Um deles, pertencente ao G I, obteve código 4 (não seguiu o protocolo, faltando a segunda sessão de atendimento) e o outro, do G II, código 2 (seguiu corretamente o protocolo). Estas duas ocorrências confirmam não haver associação significativa entre gravidade de problemas periodontais (aferida pelo IPC) e positividade para o *Helicobacter pylori* na boca (avaliados pela PCR), dados correlacionados com os encontrados por Gebara et al (2004)(Tabela 9). Porém pôde-se afirmar que há correlação entre a presença de doença periodontal e infecção de *Helicobacter pylori* na boca

Quanto à erradicação do *Helicobacter pylori* na mucosa gástrica, observou-se que o G I e o G III não apresentaram diferença significativa, salientando que, o G I recebeu além da à terapia triplíce, o tratamento periodontal básico para diminuição da quantidade de biofilme na cavidade bucal (Tabela 4). O mesmo resultado não foi observado por Miyabayashi et al (2000) quando trataram 23 pacientes positivos para *Helicobacter pylori* na boca e no estômago, conseguindo sucesso na erradicação do microrganismo apenas em 12 deles.

Essa pequena diferença entre os grupos, pode ter sido decorrente da realização do tratamento periodontal básico que consistiu no diferencial entre os pacientes do presente trabalho e dos avaliados por Miyabayashi et al (2000).

No presente estudo, após o tratamento periodontal básico e conseqüente diminuição de microrganismos na cavidade bucal, os parâmetros da saúde periodontal observados pelos pacientes tratados estavam em concordância com os relatados encontrados na literatura, os quais afirmam que a instrumentação radicular é capaz de reduzir a profundidade do sulco gengival, permitindo o ganho clínico de inserção e inibindo a progressão da doença (CUGINI et al, 2000; GREENSTEIN, 2000). Todos os pacientes tratados, ao final da última sessão de controle, exibiram superfícies dentárias livre de cálculos ou acúmulo de biofilme. Além da raspagem os pacientes recebiam um tratamento para o controle químico do biofilme com digluconato de clorexidina a 2% em gel e 0,2% para o bochecho.

Segundo Ohara (1993) e Spratt et al (2001) a clorexidina mostrou-se bastante eficaz frente o *Fusobacterium ssp*, relatado como responsável pela adaptação do *Helicobacter pylori* no biofilme dental.

O periodonto de cada paciente adquiriu características de normalidade, com exceção daqueles cujo IPC correspondeu ao código 4, devido às grandes perdas de estrutura óssea.

Em relação aos antecedentes familiares para úlcera péptica e câncer gástrico, verificou-se que uma minoria (17,9%) tinha história familiar de úlcera péptica, sendo que o percentual menos elevado localizou-se no G II e os outros três grupos apresentaram percentuais aproximados. Estes resultados, quando submetidos ao tratamento estatístico, revelaram-se insignificantes ($p=0,7410$).

No que concerne ao histórico familiar (1º grau) do câncer gástrico, o percentual reflete uma variação de 0% no G II até 11,6%, no G IV. Avaliando o total de pacientes a frequência foi extremamente baixa, com apenas 8 indivíduos no total (6,5%), cinco deles (4,06%) pertencendo ao G IV.

Em decorrência dos achados relacionados ao G II pode-se levantar hipóteses que esse pacientes não sejam contaminados por cepas muito patogênicas ou mesmo produtoras de urease. Um grande número de cepas de *Helicobacter pylori*, são produtoras a urease, enzima que lhe favorece a estabilização no estômago. Pela ação da urease, essa bactéria promove a hidrólise da uréia, presente em condições fisiológicas no suco gástrico, obtendo a amônia. A amônia atua como receptor de íons H^+ , gerando pH neutro no interior da bactéria, atribuindo-lhe a resistência à acidez gástrica (MOBLEY, 2001; WEEKS; SANCHS, 2001) sendo esse, provavelmente, o motivo de se observar pacientes com positividade para o *Helicobacter pylori* na boca sem as manifestações associadas ao estômago.

Diferentes padrões de gastrite estão associados ao *Helicobacter pylori*. As lesões vão desde processos inflamatórios superficiais até a atrofia do epitélio, que se evidencia pela perda de estruturas glandulares, mostrando-se, algumas vezes, associada à metaplasia intestinal (ÄLVARES te al, 2006; GENTA, 1998; MARQUES; LAUDANNA, 2001).

No presente estudo, o diagnóstico com maior registro foi a gastrite nos graus leve, moderada, crônica e erosiva, sendo esse diagnóstico registrado em 94% no G I; 100% no G II; 95,7% no G III e 97,7% no G IV. Os pacientes do G I e 3 receberam o tratamento sistêmico para o tratamento do *Helicobacter pylori* no

estômago, o Pyloripac®(- IBP (Inibidor de bombas de Prótons) lansoprazol 30 mg + Amoxicilina 1,0 g + Claritromicina 500 mg, duas vezes ao dia, durante sete dias) (II Consenso Brasileiro, 2004).

Os resultados do estudo em questão estão de acordo com os achados clínicos de Álvares et al (2006), os quais dos 121 pacientes com diagnóstico de gastrite crônica 119 (96,7%) apresentavam-se contaminados por *Helicobacter pylori*. Esses autores, através da técnica de PCR, observaram que os parâmetros da gastrite crônica foram significativamente mais intensos nos pacientes infectados por amostras *cagA*-positivas, considerado marcador da ilha de patogenicidade *cag*, e que se associavam ainda à presença de atrofia e metaplasia intestinal. Nos aspectos referentes a biologia molecular, o presente estudo não pode fazer analogia, porém os aspectos clínicos encontrados, não relatam a presença de atrofia e mataplasia intestinal concomitante ao diagnóstico da gastrite.

A sintomatologia digestiva em pacientes infectados pelo *Helicobacter pylori* é muito variável, desde pacientes assintomáticos até pacientes com excessivas queixas dispépticas – queimação, flatulência, plenitude pós-prandial, sensação de peso eructações freqüentes, dor epigástrica (GENTA, 1998; MARQUES, LAUDANNA, 2001).

Os sintomas relatados pelos pacientes como o principal motivo que os levaram a ser encaminhados para o Exame de Endoscopia, no presente estudo, foi a dor no estômago, registrada para no mínimo 94,7% dos pacientes do G I, seguidos de queimor que variou de 21,1% a 35,7%. Quanto à azia foi registrado um percentual de 21,1% no G I, 34% no G III e 16,3% no G IV (Tabela 5).

Diante destes resultados observou-se que o tratamento sistêmico erradica de forma satisfatória o *Helicobacter pylori* presente na mucosa gástrica, o mesmo não se pode afirmar, norteadando-se pela literatura, para esse microrganismo presente no biofilme dental. É possível teorizar que o tratamento periodontal básico, com sua ação desorganizadora do biofilme dental e destruição de microrganismos nele presente, tenha sido eficaz na eliminação do *Helicobacter pylori* presente no biofilme bucal.

Mais estudos, com um maior número de pacientes e novas metodologias, são necessários para confirmar, na população de pacientes dispéptico contaminados pelo *Helicobacter pylori* no biofilmes dental, a efetividade do Tratamento Periodontal Básico como um método eficaz na erradicação do mesmo

em boca, assim como, definir posição quanto a possibilidade de reinfecção da mucosa gástrica a partir do biofilme dental

8 CONCLUSÕES

Com base nos resultados encontrados nesta pesquisa concluímos que:

- O *Helicobacter pylori* não apresenta alta prevalência na cavidade bucal de pacientes com sintomatologia dispéptica em tratamento.
- Os pacientes infectados com o *Helicobacter pylori* na mucosa estomacal e no biofilme dental, após a terapia sistêmica e tratamento periodontal básico, obtiveram nível semelhante de erradicação do microrganismo quando comparados aos pacientes infectados e tratados apenas na mucosa gástrica.
- A terapia periodontal se mostrou eficaz para erradicar o *Helicobacter pylori* nos indivíduos contaminados no biofilme dental, sem infecção da mucosa gástrica.
- A terapia sistêmica se mostrou eficaz para erradicar o *Helicobacter pylori* em indivíduos contaminados na mucosa gástrica e não infectados no biofilme dental.

REFERÊNCIAS

- ADDY, M., MORAN, J. Comparison of plaque accumulation after topical application and mouth rinsing with chlorhexidine gluconate. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 10, n. 1, p.69-71, Jan. 1983.
- AIMANO, J.; NIEMINEN, A; WESTERLUND, U. Optimal dosage of chlorhexidine acetate in chewing gum. **J. Clin Periodontol.**, Copenhagen, v. 17, n. 10, p. 729-733, Nov. 1990.
- ALBENQUE, M et al. Epidemiological study of *Helicobacter pylori* transmission from mother to child in Africa. **R. Esp Enferm Dig**, Madrid v.78, p.48, 1990.
- ALBERTS, B. et al. **Biologia Molecular de Célula**. Tradução de Ana Beatriz Gorini de Veiga. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 508p.
- AL-MOAGEL, M. A. et al. prevalence of *Helicobacter* (formally *Campylobacter*) *pylori* infection in Saudia Arabia, and comparison of those with and without upper gastrointestinal symptotoms. **Americam J. Gastroenterol.** New York v. 85, n.8, p. 944-948, 1990.
- ÁLVARES, M. M. D. et al. Características da gastrite crônica associada a *Helicobacter pylori*: aspectos topográficos, doenças associadas e correlação com o *status cagA*. **J. Bras Patol Méd Lab**, Rio de Janeiro, v.42, n.1, p.51-59, fev. 2006.
- AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. International Workshop for Classification and Conditions. **Annals of Periodontol.** Chicago,v.4, n.1, p.8-38, Dec. 1999.
- ANDERSEN, R N et al, *Helicobacter pylori* adheres selectively to *Fusobacterium ssp.* **Oral Microbial Immunol**, Copenhagen, v.13, n.1, p.51-54, 1998.
- ARAÚJO, M. T. B. et al. Estudo *in vitro* e *in vivo* da atividade bactericida da clorexidina 0.12 por cento e a 0.2 por cento e dos produtos farmacológicos Listerine e Duplak. **Rev. Odont. Ciênc.**, Porto Alegre, v. 16, n.33, p.187-200, maio/ago. 2001.
- ARMITAGE, G. C. **Bases biológicas da terapia periodontal**. São Paulo: Sanos, 1984.
- _____. Periodontl diagnoses and classification of periodontal disease. **Periodontal 2000**, Copenhagen, v.34, p.9-21, 2004.
- ATHERTON, J. C. et al. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. **J. Biol. Cehm.** Baltimore, v. 270, n. 30, p.17771-17777, Jul. 1995.
- ATHERTON, J. C. et al. Slimple and accurate PCR- based system for typing vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v. 37, n. 9, p. 2979-2982, Sep. 1999.

AVCU, N et al. The relationship between gastric-oral *Helicobacter pylori* and oral hygiene in patients with vitamin B-12 deficiency anemia. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** St. Louis, v. 92, p.166-169. 2001.

BAIK, S. C. et al. Increase oxidative DNA damage in infected human gastric mucosa. **Cancer Res.** Baltimore, v. 56, n. 6, p. 1279-1282, Mar.1996.

BANATVALA, N et al. The cohort effect and *Helicobacter pylori*. **J. Infec. Dis.**, v.168, p.219-21, 1993b

BANATVALA, N. et al. *Helicobacter pylori* in dental plaque. **Lancet**, London, v. 341, n.8841, p.380, Feb. 1993a.

BERKOWICZ, J.; LEE, A. Person to person transmission of *Campylobacter pylori*. **Lancet**, London, v. 2, n. 8560, p.680-681, Sep. 1987.

BEZERRA, J. M. et al. Infecção gástrica por *Helicobacter pylori* em pacientes sintomáticos da Ilha de São Luis , MA: correlação endoscópica , anatomopatológica e microbiológica. **Rev. Soc. Brás. Med. Trop.** Brasília, DF, v. 29, n. 3, p. 245-50, maio/jun. 1996.

BIAGINI, G. et al. Root curettage and gingival repair in periodontitis. **J Periodontol**, Indianápolis, v.59, n.2, p.124-129, Feb. 1988.

BIAGINI, G. et al. Root curettage and gingival repair in periodontitis. **J. Periodontal.**, Indianápolis, v.59, p.124-9, 1988.

BLASER, M. I.; BERG, D.E. *Helicobacter pylori* genetic diversity and risk of human disease. **J. Clin. Invest.** New York, v.107, n.7, p. 767-73, Apr. 2001.

BLECKER, U. et al. The Prevalence of *Helicobacter pylori* positive serology in asymptomatic children. **J. pediatr. Gastroenterol. Nutr.** New York, v.16, n.3, p.252-256. 1996.

BODE, G., MAUCH, F., MALFERTHEINER, P. The cocoid forms of *Helicobacter pylori* . Criteria for their viability. **Epidemiol. Infect.** Cambridge, v. 111, n. 3, p.483-490, Dec. 1993.

BODESTAM, O et al. Effect of chlorhexidine gel treatment on the prevalence of mutans streptococci lactobacilli in patients with impaired salivary secretion rate. **Spec. Care in Dent.** Chicago, v.16, n.3, p.123-127, May/June. 1996.

BONAMICO, M. et al. Evaluation of Stool Antigen Test, PCR on Oral Samples And Serology for the Noninvasive Detection of *Helicobacter pylori* Infection In Childre. **Helicobacter**, Cambridge, v. 9, n.1, p.69-76. Feb. 2004.

BONAMIGO, R. P., LEITE, C. S. M., BAKOSL. Estudos sobre a associação entre *Helicobacter pylori* e a urticária crônica idiopática. **Rev. Ass. Med. Brasil.** São Paulo, v. 45, n.1, p. 9-14, jan./mar. 1999.

BONESVOLL, O. et al. Oral pharmacology of chlorhexidine. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.4, n. 5, p.49-65, Dec. 1977.

BORETTI, G. et al. Short-term effects of phase I therapy on crevicular cell populations. **J Periodontol**, Indianápolis, v. 66, n. 3, p.235-240, Mar. 1995.

BOURK, U; JONES, N; SHERMAN, P M. Helicobacter pylori infection and peptic ulcer disease in children. **Pediatr Infect Dis J**. Baltimore, v. 15, n. 1, p.1-13, Jan. 1966.

CAMMAROTA, G et al. Role of dental plaque in the transmission of *Helicobacter pylori* infection. **J Clin Gastroenterol**. New York, v. 22, n. 3, p.174-177. Apr. 1996.

CARDOSO, R.J.; GONÇALVES, E. A. N. **Periodontia-Cirurgia para Implantes-Cirurgia-Anestesiologia**. São Paulo: Artes médicas, v.5, cap. 1, 2002.

CARDOZO, W.V. **Estudo comparativo do efeito do polimento na superfície radicular após instrumentação ultra-sônica e manual, seguida de aplicação de jato de bicarbonato de sódio**: análise através da microscopia eletrônica de varredura. 2000, 166f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, UNESP, Araraquara 2000.

CARRANZA, F. A. et al. **Periodontia Clínica**, 9. ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2004, 899p.

CARRANZA, F. A., NEWMAN, M. G. **Periodontia Clínica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 807p

CARVALHO, A. S. T. et al. Diagnosis and distribution of *Helicobacter pylori* in the gastric mucosa of symptomatic children. **Brazilian J. Med. Biol. Res.** Ribeirão Preto, v. 24, n.2, p.163-166, 1991.

CARVALHO, L. G. P. et al. Clorexidina em Odontologia. **RGO**, Porto Alegre, v. 39, n.6, p.423-427, nov./dez. 1991.

CAVE, D R; HOFFMAN, J S. Management of Helicobacter pylori infection in ulcer disease. **Hosp. Pract.** Minneap, v. 31, n. 1, p.63-75, Jan. 1996.

CESAR, A. C. G. et al. Fatores Genéticos e Ambientais envolvidos na carcinogênese gástrica. **Arq Gastroenterol**, São Paulo, v.39, n.4, p. 253-259 out./dez. 2002.

CHECCHI, L. et al. Absence of *Helicobacter pylori* in assessed by stool and other. **Am J Gastroenterol**, New York, v.95, n.10, p. 3005-3006, Oct. 2000

CHOW, H. H. et al. *Helicobacter pylori* in Melbourne Chinese immigrants: evidence for oral-oral transmission via chopstick. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, v.10, p.562-569, 1995.

CLAFFLEY, N. et al. Overview of nonsurgical and surgical therapy. **Periodonto 2000**, Copenhagen, v.36, p.35-44, 2004.

COBB C. M. Non-surgical pocket therapy: mechanical. **Ann Periodontol**, Chicago, v.1, p.443-90, 1996.

COELHO L.G.V; ZATERKA S. Representantes indicados pela Federação Brasileira de Gastroenterologia e Núcleo Brasileiro para o Estudo do *Helicobacter*. II Consenso Brasileiro sobre *Helicobacter pylori*. **Arq Gastroenterol**, São Paulo, v. 42, n.2, p. 128-132, abr./jun, 2005.

COELHO, L. G. V. et al. Application of isotope-selective non-dispersive infrared spectrometry for the evaluation of the ¹³C-urea breath test: comparison with three concordant methods. **Braz J Med Biol resn**. Ribeirão Preto, v.32, n.12 p.1493-1497. 1999.

COELHO, L. G. V. et al. Duodenal ulcer and eradication of *Helicobacter pylori* in a developing country:an 18-month follow-up estudy. **Scand J Gastroenterol**. Oslo, v. 27, p.362-6, 1992.

COELHO, L. G. V; DAS, S. S. ; KARIM, Q. N. *Campylobacter pyloridis* in the upper gastrointestinal tract: a Brazilian study. **Arg. Gastroenterol**. São paulo, v. 24, n.1, p.5-9, jan./mar.1987.

COSTA, M. H. M. *Helicobacter pylori* Propriedades Patogênicas. **Gastroclinica Atual**.Rio de Janeiro, v.7, n. 3, p.7-10, jul./set. 1999.

COVACCI, A et al. *Helicobacter pylori* virulence and genetic geography. **Science**. Washington, v. 284, n. 5418, p.1328-1333, May, 1999.

CUGINI et al. the effect of scaling and root planning on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases: 12 – months results. **J. Clin. Periodontol**. Copenhagen, v.27, n.1, p.30-36. Jan. 2000.

CUTLER, A. F.; SCHUBERT, T. T. Long-term *Helicobacter pylori* recurrence after successful eradication with triple therapy. **Am J Gastroenterol**. New York, v. 88, p. 1356-1361, 1993.

DENARDI, B. B. O uso da clorexidina na pratica odontológica. **Rev. APCD**, São Paulo, v. 48, n. 2, p.1279-1284, 1994.

DESAI, H. G. et al. Dental plaque: a permanent reservoir of *Helicobacter pylori*? **Scand J Gastroenterol**. Oslo, v.26, n. 11, p.1205-128, Nov. 1991.

DOWSETT, S. A., KOWKLIK M. J. Oral *Helicobacter pylori*: can we stomach it? **Crti Rev Oral Biol Med**, v. 14, p.226-233, 2003.

DOOLEY, C. P. et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and histologic gastritis in asymptomatic persons. **The New England Journal of Medicine**, v.321, n. 23, p. 1562-1566, December, 1989.

DRISKO, C.L. Periodontal debridement: hand versus power driven scalers. **Dent Hyg News**;Spring:18-23. 1995.

FAN, X., et al. *Helicobacter pylori* urease binds to class II MHC on gastric epithelial cells and induces their apoptosis. **J Immunol.** Baltimore, v.165, n. 4, p.1918-1924, Aug. 2000.

FAT-MOON SUK et al. It is difficult to eradicate *H.pylori* from dental plaque by triple therapy. **Chinese Medical Journal**, v.65, p.468-473, 2002.

FERRARI, A. P.; GEOCZE, S.; TRABULSI, L. R. *Campylobacter pylorin* dispeptic patients. **Rev Hosp. São Paulo/ Esc. Paul. Med.** v. 1, n. 2, p. 65-8, 1989.

FIEDOREK. S. C. et al . Factors influencing the epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in children. **Pediatrics.** v. 88, n.3, p.578-82.1991.

FOX, I. G., WANG, T. C. *Helicobacter pylori*: pathogenesis. **Curr. Opin. Gastroenterol.** Philadelphia v. 18, p.15-25, 2002.

FURGUSON, D. A. et al. Isolation of *Helicobacter pylori* from saliva. **J. Clin. Microbiol.**, Washington v. 31, n.10, p. 2802-2804, Oct. 1993.

GAARE, et al. Improvement of gingival health by toothbrushing in individual with large amount of calculus. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.17, n. 1, p. 38-41, Jan. 1990.

GEBARA, E.C.E. et al . Prevalence of *Helicobacter pylori* detected by polymerase chain reaction in the oral cavity if periodontitis patients.. **Oral microbial. Immunol.**, Copenhagen , v. 19, n. 4, p.277-280, Ago. 2004.

GENCO, R. J., COHEN, D. W., GOLDMAN, H. M. **Periodontia Contemporânea.** 2. ed. São Paulo: Santos, 1997. Cap8 e 9, p. 117-134.

GENTA, R. M. Gastric atrophy and atrophic gastritis : nebulous concepts in search of a definition. **Aliment Pharmacol Ther**, Oxford, v.12, p.17-23, 1998.

GILBERT, P. et al. Biofilms susceptibility to antimicrobials. **Adv Dent Res**, Washington, v.11, n. 1, p.160-167, Apr. 1997.

GJERMO, P. Chlorhexidine in Dental Practice. **J.Clin Periodontol**, Copenhagen, 1, n. 3, 143-152, 1974.

GJERMO, P; BONESVOLL P; RÖLLA G. Relationship between plaque-inhibiting effect and retention of chlorhexidine in the human oral cavity. **Arch. Oral boil.**, Oxford, v.19, n. 11, p.1031-1034, Nov. 1974.

GO, M.F. Review article:natural history and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, Oxford, v. 16, p.3-15, Mar.2002. (suppl.1)

GOMES, S.C., MARCANTÔNIO, R.A. Efeito do controle de placa bacteriana supragengival sobre os indicadores clínicos e microbiológicos subgngivais: revisão de literatura. **Rev. Periodontia**, São Paulo, v. 14, p.45-52, 2004.

GOODMAN, J K et al. *Helicobacter pylori* infection in the Columbia Andes: a population-based study of transmission pathways. **Am j Epidemiol**. Baltimore, v. 144, n.3, p.290-299, Aug. 1996.

GRAHAM, D Y; MALATY, H. M. ; GO, M, F. . Are there susceptible host to *Helicobacter pylori* infection? **Scand J Gastroenterol**, Oslo, v.29, p.6-10, 1994. suppl.205.

GRAHAM, D.Y. et al. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in India. Comparison of developing and developed countries. **Dig. Dis. Sci**. New York. v. 36, n.8, p. 1084-1088. Aug. 1991.

GREENSTEIN, G. et al. Nonsurgical periodontal therapy in 2000: a literature review. **J. Am Dent Assoc**, Chicago, v.131, n. 11, p.1580-1591, Nov. 2000.

GRUNSVEN, M. F., CARDOSO, E. B. T. Atendimento odontológico em crianças especiais. **Rev. APCD**, São Paulo, v.49, n.5, p.364-370, set/out,1995.

GUNSOLLEY, J C et al. Analysis of site specific periodontal bacteria sampling schemes. **J Periodontol**, Indianápolis, v.63, n. 6, p.507-514, Jun. 1992.

HAFFJEE, A.D. et al. The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal disease. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v.24, n. 5, p. 324-334, May, 1997.

HIDALGO E, DOMINGUEZ C. Mechanisms underlying chlorhexidine induced cytotoxicity. **Toxicology In Vitro**, New York, v. 15, n. 4-5, p. 271-276, Aug./Oct. 2001.

HOPKINS, R. J. et al. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in seventh-days Adventists and groups in Maryland: lack of association with diet. **Arch Intern Med**, Chicago, v. 150, n. 11, p.2347-2348, Nov. 1990.

HOUTE, J. Role of Micro-organism in caries etiology. **J. Dent. Res.**, Washington, v. 73, n.3, p.672-681, Mar. 1994.

HULTER, K et al. *Helicobacter pylori* from feces in the drinking water in Peru. **Gastroenterology**, Baltimore, v.110, p.1031-1035, 1996.

ISHIHARA, K et al. Oral inhibit *Helicobacter pylori* growth. **FEMS Microbiol Lett**, Amsterdam, v.152, n. 2, p. 355-361, Jun. 1997.

ISHIHARA, K et al. Shared antigenicity between *Helicobacter pylori* and periodontopathic *Campylobacter rectus* strain. **FEMS Microbiol Lett**, Amsterdam, v. 197, n.1, p.23-27, Apr. 2001.

JANULAITYTÉ-GÜNTHER, D. et al. What Bizzozero never could imagine: *Helicobacter pylori* today and tomorrow. **Medicina (Kaunas)**, Kaunas, v.39, n.6, p.542-549, 2003.

JEANSONNE, M. J.; WHITE, R. R. A comparison of 2,0% chlorexidine gluconate and 5,25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontics irrigants. **J. Endond.** Baltimore, v. 20, n. 6, p. 276-278, June 1994.

JENKINS, S. et al. The mechanism of action of Chlorhexidine. A study of plaque growth on enamel insert in vivo. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.15, p.415-24, 1988.

JENKS, P.J., KUSTERS, J.G. Pathogenesis and virulence of *Helicobacter pylori*. **Curr. Opin. Gastroenterol.**, Philadelphia, v. 16, n.1., p. 11-8, 2000.

JIANG, C. et al. Identification of *H.pylori* in saliva by a nested PCR Assay derived from a newly cloned DNA Probe. **Dig Dis Sci**, New York, v. 43, n.6, p. 1211- 1218, June. 1998.

KELLY, S. M. et al. Isolation of *Helicobacter pylori* from feces of patients with dyspepsia in the United Kindom. **Gastroenterology**, Baltimore, v.107, p.1671-1674, 1994.

KHANDEKAR, K. et al. DNA fingerprints of *Helicobacter pylori* from mouth and antrum of patientes with chonic ulcer dyspepsia. **Lancet**, London, v.342, n. 8873, p.751, Sep.1993.

KIKUCHI, S. Epidemiology of *Helicobacter pylori* and gastric cancer. **Gastric Cancer**. Tokyo, v. 5, n. 1, p. 6-15, 2002.

KIM, N. et al. *Helicobacter pylori* in dental plaque and saliva. **Korean J Intern Med.**, Seoul, v. 15, n.3, p.187-194, 2000.

KLEIN, P. D. et al. Water source as a risk factor for *Helicobacter pylori* infection in peruvian children. **Lancet**, London, v. 337, n. 8756 p.1503-1506, Jun. 1991.

KODAIRA, M. S., ESCOBAR, A. M. U., GRISI, S. Aspectos Epidemiológicos do *Helicobacter pylori* na infância e adolescência. **Rev. Saúde Pública**. São Paulo v. 36, n. 3, p. 356-69, jun. 2002.

KOLENBRANDER, P.E. Coaggregation of human oral bactéria: potential role in the accretion of dental plaque. **J. Appl Bacteriol**, London, v.74, p.79-86, 1993. (Symposium Suppl).

KONEMAN, E. W. et al. **Diagnóstico Microbiológico**. 5 ed .Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica; 2001. 1465p.

KRAUSER, R. et al. Inhibitory effects of various micro-organismos on the growth of *Helicobacter pylori*. **Lett Appl Microbiol**, Oxford, v. 40, n.1, p.81-86, 2005.

KUIPERS, E. J. Exploring the link between *Helicobacter pylori* and gastric câncer. **Aliment Pharmacol Ther**, v.13, p.3-11, 1999.

LADEIRA, M. S. P.; SALVADOR, D. M. F.; RODRIGUES, M. A. M. Biopatologia do *Helicobacter pylori*. **J. bras. patol. med. lab.** Rio de Janeiro, v. 39, n.4, p.335-342, out./ dez. 2003.

LADEIRA, M. S. P. **Estudo pelo Ensaio Cometa, dos danos no DNA de células da mucosa gástrica de portadores de gastrite crônica infectada ou não pelo *Helicobacter pylori***. 1997. Dissertação – Mestrado em Ciências Médicas - Instituto de biociência, Universidade Estadual Paulista. Botucatu,1997.

LEE, A., FOX, J., HAZEL, S. Minireview. Pathogenicity of *Helicobacter pylori*: a perspective. **Infect. Immun.** v. 61, n. 5, p. 1601-1610. May. 1993.

LI, C. et al. High prevalence of *Helicobacter pylori* in saliva demonstrated by a novel PCR assay. **J Clin Pathol**, London, v. 48, n. 7, p. 662-666, July, 1995.

LI, C et al. A newly developed PCR assay of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy, saliva, and feces: Evidence of high prevalence of *H.pylori* in saliva supports oral transmission. **Dig Dis Sci**, New York, v.41, p.2142-2149, 1996.

LINDSKOG, S. et al. Chlorhexidine as a root canal medicament for treating inflammatory lesions in the periodontal space. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v.14, n. 4, p.186-190, Aug. 1998.

LÖE, H. et al. Experimental gingivitis in man. **J. Periodontol.**, Indianápolis, v.36, p.177-187, 1965.

LOESCHE, W. J., SYED, S. A. Bacteriology of human experimente gingivitis: effect of plaque and gingivitis score. **Infect. Immune.**, Washington, v. 21, n. 3, p.830-839, Sep. 1978.

LOGAN, R. Epidemiology could yield news ways to manage H. pylori infection. **Lancet**. London, v. 354, n. 9183,p.1006, Sep.1999.

MAGALHÃES, A. F. N. et al. Gastrite crônica associada ao *Helicobacter pylori* em pacientes com dispepsia não ulcerosa e com úlcera duodenal. **Rev. Paul. Med.** São Paulo, v. 109, n.5, p. 197-203, Sep./Oct. 1991.

MAJMUDAR, P.; SHAH, S.M.; DHUMJIBHOY, K.R.; DESAI, H.G. Isolation of *Helicobacter pylori* from dental plaques in health volunteers. **Indian J. Gastroenterol.**, Baltimore, v.9, p.271-2, 1990.

MAPSTONE, N. P. et al. Identification of *Helicobacter pylori* DNA in the mouth and stomachs of patients with gastritis using PCR. **J. Clin. Pathol.**, London, v. 46, p.540-543. 1993.

MARQUES, C.O.; LAUDANNA, A.A. Gastrites. **Revista de Gastroenterologia da Fugesp** set/out, 2001. Disponível em: <http://www.fugesp.org.br/nutricao_e_saude_conteudo.asp?id_publicacao=1&edicao_numero=14&menu_ordem=2>. Acesso em: 06 nov. 2006.

MARSHALL, B. J., WARREN, J. R. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. **Lancet**, London, v.1, n. 8336, p.1273-1275, June, 1984.

MARSHALL, B.J., ARMSTRONG, J.A., MC GECHIE DB. Attempt to fulfil Koch's postulates for pylorus *Campylobacter*. **Med. J. Aust.** Sydney, v. 142, n.8, p. 432-39, 1985.

MARTINS et al. Soroprevalência de anticorpos contra o antígeno CagA do *Helicobacter pylori* em pacientes com ulcera gástrica na região Norte do Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Brasília, DF, v.35, n.4, p.307-310, jul./ago. 2002.

MEDEIROS, A. C.; COSTA, V. S.; MACEDO, L M B. Correlação do *Helicobacter pylori* com carcinoma gástrico em hospital universitário. **Revista Saúde**, Natal v. 15, n. 2, p. 5-11, 2001.

MELLO, E. S.; MELLO, C. R. Diferentes tipos de gastrite em pacientes com queixa digestiva alta. **Arq. Gastroenterol.**, São Paulo, v. 29, n.2, p.43-50,1991.

MENDALL, M. A. et al. Childhood living conditions and *helicobacter pylori* seropositivity in adult life. **Lancet**, London, v. 339, n. 8798, p. 896-897, May, 1992.

MEYER, J. M. et al. Risk factors for *Helicobacter pylori* in the United State: the Surveillance of *H.pylori* Antimicrobial Resistance Partnership (SHARP) study, 1993-1999. **Ann Intern Med**, Philadelphia, v.136, p.13-24, 2002.

MIRANDA, L.A., OPPERMAN, R.V. Avaliação clínica da influenciado polimento e da deplacagem na nova formação de placa bacteriana. **Revista da ABOPREV**, v.2, n.2, p.41-47, 1999.

MITCHELL, A et al. Age-specific *Helicobacter pylori* seropositivity rates of children in an impoverished urban area of northeast Brazil. **J Clin Microbiol**, Washington, v.41, p.1326-1328, 2003.

MIYABYASHI, H et al. Influence of Oral *Helicobacter pylori* on the Success of Eradication Therapy Against Gastric *Helicobacter pylori*. **Helicobacter**, Cambridge, v.5, n.1, p. 30-37, 2000.

MOBLEY, H. L. T. *Helicobacter pylori* urease. In: ACHTMAN M, SUERBAUM S. **Helicobacter pylori: molecular and cellular biology**. Wymondham: horizon Scientific Press, 2001. p. 155-170.

MOORE, L.V.H. et al. Bacteriology of humans gingivitis. **J. Dent. Res.**, Washington, v.66, n.5, p.989-995, 1987.

MORLOCK, B. J. et al. The effect of Nd:YAG laser exposure on root surfaces when used as an adjunct to root planing: an in vitro study. **J. Periodontal.**, Indianápolis, v.63, p.637-41, 1992

MORRIS, A., NICCHOLSON, G. Ingestion of *Campylobacter pylori* causes gastritis and raised fasting gastric pH. **Am J Gastroenterol**, New York, v.82, p. 192-199, 1987.

MRAVAK-STIPETIC, M et al. Detection of *Helicobacter pylori* in various oral lesions by nested polymerase chain reaction (PCR). **J Oral Pathol med**. Copenhagen, v.27, n. 1, p.1-3, Jan. 1998.

NAKAMURA, R M et al. Laboratory test for the evaluation of *Helicobacter pylori* infection. **J Clin Lab Anal**, New York, v.15, n. 6, p.301-307, 2001.

NEALE, K R; LOGAN, P H. The epidemiology and transmission of *Helicobacter pylori* infection in children. **Aliment Pharmacol Ther.**, Oxford, v.9, n.2, p. 77-84, 1995. Suppl.

NEGRINI, R. et al. Autoantibodies to gastric mucosa in *helicobacter pylori*. **Helicobacter**, Cambridge, v. 2, p. s13-s16, July, 1997. suplement 1.

NEWMAN, H. N. The rationale for chemical adjuncts in plaque control. **Int. dent. J**, London, v. 48, n. 3, p. 298-304. Jun. Suppl 1.

NGUYEN, A.M.H et al. Detection of *Helicobacter pylori* in dental plaque by reverse transcription polymerase chain reaction. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v. 31, n. 4, p. 783-787, Apr. 1993.

NGUYEN, T.N. et al. Host determinants of *Helicobacter pylori* infection and its clinical outcome. **Helicobacter**, Cambridge, v.4, n. 3, p.185-197, Sep. 1999.

NIH Consensus Conference. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. **JAMA**, Chicago, v.272, n.1, p.65-69, July, 1994.

NOIRI, Y. et al. the localization of periodontal-disease-associated bacteria in human periodontal pockets. **J. Dent. Res.**, Washington, v.80, n.10, p. 1930-1934, 2001.

O'ROURKE, K et al. Determinants of geographic variation in *Helicobacter pylori* infection among children on the US- Mexico border. **Am j Epidemiol**, Baltimore, v. 158, n. 8, p.816-824, Oct. 2003.

ODENBREIT, S. et al. translocation of *helicobacter pylori* CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion. **Science**. Washington, v. 287, n.5457, p. 1497-1500, Feb 2000.

OGUNBODEDE, E. O. et al. *Helicobacter pylori* in the dental plaque and gastric mucosa of dyspeptic Nigerian patients. **Trop. Gastroenterol.**, Washington, v.23, p. 27-132. 1002.

OHARA, P. K.; TORABINEJAD, M.; KETTERING, J. D. Antibacterial effects of various endodontic irrigants on selected anaerobic bacteria. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v.9, n. 3, p. 95-100, Jun. 1993.

OLIVEIRA, A. M. R. et al. Evaluation of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection in Children From Different Age Groups With and Without Duodenal Ulcer. **Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition**, v. 28, n.2, p.157-161, February, 1999

OLIVIER, J. B. et al. Absence of *Helicobacter pylori* within the Oral Cavities of Members of a Healthy South Africa Community. **J. Clin. Microbiol.** Washington, v. 44, n. 2, p.635-639, Feb. 2006.

OSHOWO, A. et al. Oral colonization is unlikely to play an important role in *Helicobacter pylori* infection. **Br J Surg**, Bristol, v.85, n.6, p.850-852, Juny, 1998.

OSHOWO, A. et al. *Helicobacter pylori*: The mouth, stomach and gut axis. **Ann Periodontol**. Chicago, v. 3, n. 1, p. 276-280, Jul. 1998.

OUHAYOUN, J P. Penetrating the plaque biofilm: impact of essential oil mouthwash. **J. Clin. Periodontol**. Copenhagen, v.30, n.5, p.10-12, 2003.

OWEN, R. J. et al. Direct DNA fingerprinting of *Helicobacter pylori* in dental plaque by PCR amplification and restriction analysis of urease A gene sequence. **Serodiagn Immunother Infect Disease**, v.6, p.196-202, 1994.

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

PALUSH, D. et al. recombination and mutation during long: term gastric colonization by *Helicobacter pylori* : estimate of clock rates, recombinates size, and minimal age. **Proc Natl Sci U S A**. Washington, v. 98, n. 15, p. 865-61, 2001.

PANNUTI,C. M., LOTUFO, R. F. M. **Periodontia e implantodontia: desmistificando a Ciência**. São Paulo: Artes Médicas, 2003. 542p

PARSONNET, J. et al. *Helicobacter pylori* infection and gastric lymphoma. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v.330,n. 18, p.1267-1271, May, 1994.

PARSONNET, J. et al. Risk for gastric cancer in people with cagA positive or cagA negative *Helicobacter pylori* infection. **Gut**. London, v. 40, n. 3, p.297-301, Mar. 1997.

PASSANEZI, E. et al. Problemas Periodontais de responsabilidade do clínico deral. In: BOTTINO, M. A.; FELLER, C. (Coord.). **Atualização na Clínica Odontológica**. São Paulo: Artes Médicas. 1992. p. 356-63.

PASTER, B. J. et al. Bacterial diversity in human subgingival plaque. **J. Bacteriol**, Washington, v. 183, n.12, p.3770-3783, Jun. 2001.

PATEL, m. p. et al. A polymeric system for the intra oral delivery of an antifungal agent. **Biomaterials.**, Guildford, v. 22, n. 17, p.2319-2324. Sep. 2001.

- PEEK, R. M., BLASER, M. J. *Helicobacter pylori* and gastrointestinal tract adenocarcinomas. **Nat Rev Cancer**, London, v.2, n.1, p.28-37, Jan. 2002
- PEEK, R. M. et al. *Helicobacter pylori* strain-specific genotypes and modulation of the gastric epithelial cell cycle. **Cancer res.** Baltimore, v. 59, n. 24, p.6124-6131. Dec.1999
- PETTERSON, W. L. Review article: *Helicobacter pylori* and gastric adenocarcinoma. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, Oxford, v. 16, p.40-46, 2002. (suppl.1).
- PINTO, V. G. **Saúde bucal coletiva**. São Paulo: Santos; 2000. 541 p.
- PRIETO, G. et al. *Helicobacter pylori* infection in children: clinical, endoscopic, and histologic correlations. **J. pediatr. Gastroenterol. Nutr.** New York, v. 14, n. 4, p. 204-225. May, 1992.
- RAMFJORD, S. P., ASH, M. M. **Periodontologia e periodoncia: teoria e prática moderna**. São Paulo: Santos , 1991. p. 62-73.
- RIGGIO, M P; LENNON, A. Identification by PCR of *Helicobacter pylori* in subgingival plaque of adult periodontitis patients. **J Medical Microbiol.**, Edinburgh, v. 48, n. 3, p. 317-322, 1999 Mar.
- ROSAN, B.; LAMONT, R. J. Dental plaque formation. **Microbes and infect.**, Paris, n. 2, n. 13, p.1599-1607, Nov. 2000.
- ROSING, C. K., TOLEDO, B. E. C. Controle químico da placa: utilização clínica da clorexidina em periodontia. **Rev. Periodontia**, São Paulo, v.1, n.2, p.56-58, out, 1992/mar. 1993.
- ROTHENBACHER, D. et al. Prevalence and determinants of *Helicobacter pylori* infection in preschool children: a population-based study from Germany. **Int J Epidemiol**, London, v. 27, n. 1, p.135-141, Feb. 1998.
- SACK, R. B.; GYR, K. *Helicobacter pylori* infection in developing world. **Lancet**. London, v.341, n. 8855, p. 1275, May, 1993.
- SALAMA, N.R. et al. Vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori* plays a role during colonization in a mouse model of infection. **Infect Immun.** v.69,n.2, p.730-6, 2001.
- SALVOLDI, E. et al. Absence of *Helicobacter pylori* in dental plaque determined by immunoperoxidase. **Helicobacter**, Cambridge, v.3, n.4, p.283-7, 2000.
- SANTOS, M. A. Prevalência do *H.pylori* em pacientes com câncer gástrico avançado. **GED. gastroenterol. endosc. dig.** São Paulo, v.17, p.3942, 1998.
- SCHÜTZE, K. et al. *Helicobacter pylori* reinfection with identical organism: transmission by patients' spouses. **Gut**. London, v. 36, n. 6, p. 831-833, Jun. 1995.

SEKINO, S. et al. The effect of a chlorhexidine regime on the new plaque formation. **J Clin Periodontol.** Copenhagen, v. 31, p.609-614, 2004.

SHAMES, B. et al. Evidence for the occurrence of the same strain of *Campilobacter pylori* in the stomach and dental plaque. **J. Clin. Microbiol.** Washington, v.27, p.2849-50, 1989.

SHILOAH, J., PATTERS M. R. DNA probe analyses of the survival of selected periodontal pathogens following acaling root planning, and intra-pocket irrigation. **J. Periodontol.**, Indianápolis, v.65, n. 6, p. 568-575, Jun. 1994.

SIMONSON, et al. *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* as prognostic markers following periodontal treatment. **J Periodntol.**, Indianápolis, v.63, n. 4, p.270-273, Apr. 1992.

SLOTS, J. Primer for antimicrobial periodontal therapy. **J. Periodontol. Res.** Copenhagen, v. 35, p. 108-114, 2000.

SOCRANSKY, S. S. et al. Microbial complexes in subgingival plaque. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v.25, p.134-144, 1998.

SOCRANSKY, S. S. et al. Relationship of subgingivalmicrobial complex to clinical features at the sample sites. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v.15, p. 440-444, 1988.

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. Evidence of bacterial etiology: a historial perspective. **Periodontol. 2000**, Copenhagen, n.5, p.7-25, Jun. 1994.

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. The bacterial etiology of destructive periodontal disease : Current concepts. **J. Periodontol.**, Indianápolis, v.63, n.4, p. 322-327, Apr. 1992.

SOLARI, C. A. et al. *Helicobacter pylori* in dyspeptic children and adults endoscopic, bacteriologic and histologic correlations. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** Rio de Janeiro, v. 89, n. 4, p.581-586, 1994.

SOLHEIM, H. et al. Oral retention and discoloration tendency from a chlorhexidine mouthrinse. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v.41, p.193-196, 1983.

SONG, Q. et al. Characteristic distribution pattern of *Helicobacter pylori* in dental plaque and saliva deteced With nested PCR. **J Med Microbiol.** Edinburgh, v. 49, p.349-353, 2000a.

SONG, Q. et al. *Helicobacter pylori* in dental plaque – A comparision of different PCR primer set. **Dig. Dis. Sci**, New York, v. 44, n.3, p.479-484. Mar. 1999.

SONG, Q. et al. *Helicobacter pylori* in the Oral Cavity: High Prevalence and Great DNA Diversity. **Dig. Dis. Sci**, New York, v. 45, n.11, p. 2162-2167, Nov. 2000.

SONG, Q. et al. Quantitation of *Helicobacter pylori* in dental plaque samples by competitive polymerase chain reaction. **J. Clin. Pathol**, London, v.53, n.3, p.218-222, Mar. 2000.

SOUTO, F. J. D. et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in rural area of the state of Mato Grosso, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, v. 93, n. 2, p.171-4, 1998.

SPRATT, D. A. et al. An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. **Int. Endod.**, v. 34, p. 300-307, 2001.

SUERBAUM, S. et al. Free recombination within *Helicobacter pylori*. **Proc Natl Sci U S A**. Washington, v. 95, p.2619-24, 1998.

SUERBAUM, S., MICHETTI, P. *Helicobacter pylori* infection. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 347, n. 15, p. 1175-86, 2002.

TEICHEIRA, K I R, CORTES, M E. Estado actual de la indicación de antimicrobianos para la medicación intracanal. **Acta odontol. venez.** Caracas, v. 43, n. 2, p. 177-189, mayo 2005. Disponível em:
<http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652005000200014&lng=es&nrm=iso>. Acesso em: 08 out 2006

THEILADE, E. et al. Experimental gingivitis in man. **J. Periodontol.**, Indianápolis, v.1, p.1-13, 1966.

THOMAS, J. E. et al. Isolation of *Helicobacter pylori* from human feces. **Lancet**, London, v.340, n. 8829, p.1194-1195, Nov.1992.

THOMAZINI et al. Infecção pelo *Helicobacter pylori* e o câncer gástrico: frequência de cepas patogênicas *cagA* e *vacA* em pacientes com câncer gástrico. **J Brás Patol Méd Lab**, v.42, n. 1, p.25-30, Fev., 2006.

TODESCAN, J. H., TODESCAN, C. G. O uso do aparelho de ultram son soluciona o problema periodontal? In: FELLER, C.; BOTTINO, M. A. **Atualização na Clínica Odontológica**: a prática da clínica geral. São Paulo: Artes Médicas, 1994. p. 227-59. (Congresso Paulistano de Odontologia, 16.).

TOMBOLA, F. et al. *Helicobacter pylori* toxin is a urea permease that promote uréia duffusion across epithelia. **J. Clin. Invest.** New York, v. 108, n. 6, p. 929-37, 2001.

TORRES, M. C. M. B. Utilização da clorexidina em seus diversos veículos. **Rev. Bras. Odont.**, Rio de Janeiro, v.57, n.3, p.174-180, Maio/Jun. 2000

TUMMURU, M.R., COVER, T.L., BLASER, M.J. Cloning and expression of a high-molecular-mass major antigen of *Helicobacter pylori*: evidence of linkage to cytotoxin production. **Infect Immunol.** Washington, v. 61, n. 5, p. 1799-1809. May, 1993.

- TURESKY, S. et al. Prolongation of anti-bacterial, activity of chlorhexidine absorbed to teeth. Effect of surfaces. **J. Periodontol**, Indianápolis, v. 48, n.10, p.646-9, Oct., 1977.
- UEMURA, N. et al. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric câncer. **N Engl j Med**, Boston, v.345, p. 784-9, 2001.
- UMEDA, M et al. High prevalence of *Helicobacter pylori* detected by PCR in the oral cavities of periodontitis patients. **J Periodontol**, Indianápolis, v. 74, p.129-134, 2003.
- VAN DER HULST, R.W.M. et al. *H.pylori* reinfection after successful eradication analyzed by RAPD or RFLP. **Gastroenterology**. Baltimore, v. 110, n. 4, p.A284, 1996.
- VAN-DOORN, L. et al. Clinical relevance of the *cagA*, *vacA*, *iceA* status of *Helicobacter pylori*. **Gastroenterology**., Baltimore, v 115, p. 59-66, 1998.
- VINCENT, P et al. *Helicobacter pylori* infectio in cohabiting children. **Lancet**, London, v. 337, n. 8745, p.848, Apr. 1991.
- VINHOLIS, A. H. C. et al. Mecanismo de ação da clorexidina. **Rev. Periodontia**, São Paulo, v.4, n.3, p.281-3, jan/jun, 1996.
- WALT, R.P. et al. comparison of the effect of ranitidine, cimentdine and placebo on the 24hours intragastric acidty and nocturnal acid secretion in the patients with duodenal ulcer. **Gut.**, London, v.22, p.49-54, 1981.
- WANG, J. et al. Comparison of cytotoxin genotypes of *H.pylori* in stomach and saliva. **Dig Dis Sci**, New York, v.47, n.8, p.1850-1856, Aug. 2002.
- WASH, J.H. A pH sensitivechannel regulates urea across to *Helicobacter pylori* urease. **Gastroenterollogy**. Baltimore, v. 118, p. 249-50, 2000.
- WEEKS, D. L., SANCHS,G. Sites of pH regulation of urea channel of *Helicobacter pylori*. **Mol. Microbiol.**, Oxford, v. 40, n. 5, p.1249-89,2001.
- WEEKS, D.L. et al. Hiegated urea channet the link between *Helicobacter pylori* urease and gastritc colonization. **Science**. Washington, v.287, p. 482-5,2000.
- WHITE, R. R.; HAYS, G. L.; JANER, L. R. Residual antimicrobial acitivity after canal irrigation with chlorexidine. **J. Endond**. Baltimore, v. 23, n. 4, p. 229-231, Apr. 1997.
- WILSON, M.J. bacterial biofilmes and human disease. **Sci. Prog.**, Oxford, v.84, n.3, p.235-254, 2001.
- XIA, H.X , TALLEY, N J. natural acquisition and spontaneous elimination of *Helicobacter pylori* infection : clinical implication. **Am J Gastroenterol**, New York, v. 92, p.1780-7, 1997.

XIA, H.X.; WINDLE, H. J.; MARRSHAL, D. G. Recrudescence of *Helicobacter pylori* after apparently successful eradication: novel application of randomly amplified polymorphic DNA fingerprinting. **Gut**. London, v. 37, p.30-4, 1995.

YOUNG, K.A.; ALLAKER, R.P.; HARDIE, J.M. Morfological analysis of *Helicobacter pylori* from gastric biopsies and dental plaque by scanning electron microscopy. **Oral Microbiol Immunol.**, Copenhagen, v. 16, p. 178-181, 2001.

¹ Este trabalho está de acordo com as normas de documentação da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), a saber:

NBR 6023: Informação e documentação – referências - elaboração, 2002;

NBR 6024: Numeração progressiva das seções de um documento, 2003

NBR 6027: Informação e documentação - sumário – apresentação, 2003.

NBR 10520: Informação e documentação - citações em documentos – apresentação, 2002;

NBR 14724: Informação e documentação - trabalhos acadêmicos– apresentação, 2005;

APÊNDICE A

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA INTEGRADO DE PÓS – GRADUAÇÃO ODONTOLÓGICA
DOUTORADO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ESTOMATOLOGIA

PESQUISA: *HELICOBACTER PYLORI* PRESENTE NO BIOFILME DENTAL COMO FONTE DE REINFECÇÃO DA MUCOSA GÁSTRICA

Formulário nº

Nome: _____

End.: _____ fone: _____

Nacionalidade: _____ Naturalidade: _____

Idade: _____ Gênero: _____ Estado civil: _____

Profissão: _____ Etnia _____

Nível de instrução: Analfabeto 1º grau 2º grau 3º grau

Coleta dos dados:

- Usando medicamentos nas últimas quatro semanas: sim não. Quais?

- História familiar de úlcera péptica: sim não

- História familiar de câncer gástrico (1º grau): sim não

- Antecedente pessoal de doença gastroduodenal: Gastrite Úlcera péptica
nenhuma outra. Qual? _____

- Tabagista: sim não

- Estilista: sim não

- Queixa principal: _____

- Local da retirada do fragmento do estômago: _____

- Diagnóstico da endoscopia: _____

- IPC: código 0 código1 código 2 código 3

17 – 14 ()

13 – 23 ()

24 – 27 ()

47 – 44 ()

43 – 33 ()

34 – 37 ()

- Teste para *H.pylori* por meio de PCR

Mucosa gástrica:

Antes do tratamento da mucosa gástrica: Positivo Negativo

Depois do tratamento da mucosa gástrica: Positivo Negativo

Biofilme dental:

Antes do tratamento bucal: Positivo Negativo

Depois do tratamento bucal: Positivo Negativo

APÊNDICE B

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA INTEGRADO DE PÓS – GRADUAÇÃO ODONTOLÓGICO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TÍTULO DO PROJETO: *HELICOBACTER PYLORI* PRESENTE NO BIOFILME DENTAL COMO FONTE DE REINFECÇÃO DA MUCOSA GÁSTRICA

PESQUISADORA: Raquel Christina Barboza Gomes

OBJETIVO: Verificar a presença do *Helicobacter pylori* na cavidade bucal e avaliar o efeito do Tratamento Periodontal na erradicação do mesmo na boca de pacientes com sintomatologia dispéptica em tratamento.

ESCLARECIMENTO

1. Você está sendo convidado (a), a participar desta pesquisa e a sua participação é voluntária; podendo desistir e solicitar ter seus dados retirados da pesquisa a qualquer momento.
2. Você responderá a um formulário sobre a sua condição de saúde e sua boca será examinada para que se possa observar a presença ou não de doenças bucais, principalmente na gengiva;
3. Você receberá orientação de como melhor fazer a higiene da boca e prótese, se possuir, como também, te será informado o diagnóstico e meios de como tratar alguma possível patologia bucal existente.
4. Para o exame bucal ser realizado, serão utilizados instrumentais rigorosamente esterilizados, fim de que , nenhum dano ou prejuízo a sua saúde ocorram.
5. Você concederá o direito de utilização de seu histórico médico, resultados de exames clínicos e laboratoriais, sendo mantido sigilo, com relação a sua identificação;
7. Você tem a garantia de que essa pesquisa não trará nenhum mal para a sua saúde, pelo contrário, ela poderá fazer o diagnóstico precoce de alterações gengivais, levando-a a um tratamento mais rápido e eficaz.

8. Todas as pessoas que farão parte da pesquisa receberão o mesmo tratamento, respeitando-se rigorosamente o princípio da igualdade.

Consentimento

Eu, _____, aceito participar da pesquisa realizada pela Dra. Raquel Christina Barboza Gomes e confirmo que fui esclarecido sobre a mesma.

João Pessoa, _____, de _____, de _____

Assinatura do paciente ou Responsável Legal

Raquel Christina Barboza Gomes (CRO 2083 -Pb).

Testemunhas: _____

