

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

FÁTIMA ROBERTA DE OLIVEIRA

MICROBIOTA ORAL ACIDOFILICA ASSOCIADA AO USO DE PRÓTESE
EM PACIENTES COM DOENÇA DO REFLUXO GASTROESOFÁGICO.

Porto Alegre

2013

FÁTIMA ROBERTA DE OLIVEIRA

MICROBIOTA ORAL ACIDOFILICA ASSOCIADA AO USO DE PRÓTESE
EM PACIENTES COM DOENÇA DO REFLUXO GASTROESOFÁGICO.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Cirurgiã-Dentista.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cristiane M. Mengatto

Porto Alegre

2013

CIP – Catalogação na Publicação

Oliveira, Fátima Roberta de

Microbiota oral acidofílica associada ao uso de prótese em pacientes com doença do refluxo gastroesofágico / Fátima Roberta de Oliveira. – 2013.
37 f. il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Curso de Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS, 2013.

Orientadora: Cristiane M. Mengatto

1. Microbiota oral. 2. Refluxo gastroesofágico. 3. Úlcera gástrica. 4. Cavidade oral. I. Mengatto, Cristiane M. II. Título.

Dedico este trabalho àqueles que são os pilares de minha vida
e sem os quais eu não seria nada:
meus pais, Roberto e Nara,
meu amor, Daniel,
meus irmãos, Márcia e Marcelo,
e meus sobrinhos, Laura, Pedro e Artur.

AGRADECIMENTOS

À **Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS**, na pessoa de seu diretor, **prof. Dr. Pantelis Varvaki Rados**, e seu vice-diretor, **prof. Dr. Régis Burmeister**, por me acolher durante os anos de minha formação acadêmica e oferecer oportunidades ímpares de interações profissionais e pessoais.

Primeiramente a **Deus** por estar sempre presente, me guiando e iluminando os meus caminhos.

Aos meus pais, **Nara de Oliveira e Roberto de Oliveira**, pela confiança, amor, cuidado, e sabedoria. Por sempre me proverem de ensinamentos para a vida e para todas as questões em momentos difíceis da vida.

Ao **Daniel Stefanis**, por me ensinar muitas coisas da vida, por me acolher em sua vida sem exigências, pela paciência, apoio, compreensão, carinho, amizade, companheirismo, amor e alegria.

Aos meus irmãos **Márcia Aoki e Marcelo de Oliveira**, pelo apoio e parceria.

À minha sobrinha **Laura Aoki**, que me contagia com a alegria e a sinceridade que só uma criança pode ter, sempre demonstrando o quanto eu sou importante na sua vida e aos meus sobrinhos **Pedro Dantas e Artur Dantas** que mesmo de longe me trazem muita felicidade.

Aos amigos **Charlene Dalberto, Karen de Paula, Leonardo da Silveira, Lisângela da Silva, Lucas Jardim e Rosilaine Schena** que caminharam junto comigo nesses anos e que me deram forças nos momentos difíceis dessa jornada. Muitos momentos de alegria passamos juntos.

A todos os meus **colegas do ATO 13/01**, aos que não são mais colegas, por algum motivo, aos colegas de outros semestres que tive a oportunidade de conhecer.

Ao querido amigo e colega **Cauã Coutinho**, o qual tive o prazer de conhecer nessa jornada e que deixou a lição de viver a vida sempre de forma intensa. Você viverá para sempre em nossos corações.

Aos **mestres**, que serviram de inspiração me levando a enfrentar os desafios da vida e a crer na minha própria autenticidade. Àqueles que dedicaram seu tempo e experiência à minha formação.

À minha orientadora **prof^a. Dra. Cristiane M. Mengatto**, por aceitar a me orientar prontamente ao meu pedido, pelos ensinamentos, confiança, incentivo e dedicação, sempre disposta a sanar minhas dúvidas com muita paciência.

À minha co-orientadora **prof^a. Dra. Clarissa F. Parolo**, pelo estímulo, apoio e dedicação.

À **banca avaliadora** que aceitou fazer parte deste momento tão importante da minha vida.

À **Luisa Mercado**, técnica do Laboratório de Bioquímica e Microbiologia da Faculdade de Odontologia da UFRGS, que sempre esteve disposta a ajudar e a colaborar com o perfeito andamento da pesquisa e que cultivou um lugar no meu coração pelo seu jeito especial de ser e de agir com todos.

À **Nailê Damé**, Doutoranda do Programa de Pós-Graduação da UFRGS, com concentração em Cariologia, que sempre esteve disposta a ajudar executando algumas tarefas da pesquisa.

Aos acadêmicos, **Eliane Schoenknecht e Charlene Dalberto** pelo auxílio e dedicação nas tardes de coleta.

Ao cirurgião dentista **Leonardo Scherer**, que sempre esteve disposto em ensinar as tarefas com toda a paciência e dedicação.

Meus agradecimentos, sem todos vocês esta pesquisa não poderia ser concluída.

*O único homem que está isento de erros,
é aquele que não arrisca acertar.*

(Albert Einstein)

RESUMO

OLIVEIRA, Fátima Roberta **Microbiota oral acidofílica associada ao uso de prótese em pacientes com doença do refluxo gastroesofágico**. 2013. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

O objetivo principal deste estudo foi verificar se indivíduos usuários de prótese com DRGE possuem pH e fluxo salivar e microbiota oral acidofílica diferenciados dos indivíduos sem DRGE. Para isso, entre os indivíduos que procuraram atendimento no Ambulatório de gastroenterologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, foram selecionados 40 voluntários, de ambos os sexos, com idades entre 18 e 80 anos, subdivididos em 4 grupos: A= dentados, sem DRGE; B= dentados, com DRGE; C= edêntulos usuários de prótese total superior, sem DRGE; D= edêntulos com prótese total superior, com DRGE. O diagnóstico da presença de DRGE foi clínico, através dos critérios de Montreal e foi complementado pela consideração de dados dos laudos de Phmetria esofagiana prolongada e de endoscopia digestiva alta. A saliva não-estimulada foi coletada juntamente com o biofilme do palato duro, do dorso da língua, e da região interna da prótese total. Foram aferidos o pH e o fluxo salivar a partir da coleta de saliva não-estimulada, e, através de cultivo em meio específico, foram identificados e contados os seguintes microrganismos: Estreptococos do grupo mutans (EGM), Lactobacillus spp. (L), e Candida spp. (C), além dos anaeróbios totais (AT). Os dados coletados foram tabulados e expressos como mediana (1^o–3^o quartis), e analisados estatisticamente por meio do Teste de Kruskal Wallis, com nível de significância de 5%. Os níveis de microrganismos acidofílicos e anaeróbios totais estavam aumentados na saliva dos indivíduos edêntulos com DRGE (EGM= 4,08 (3,26-4,89); L= 3,88 (2,17-4,72), C= 2,03 (0-2,85); AT= 7,10 (6,52-7,57)), comparado aos dentados com DRGE (EGM= 2,78 (1,74-3,17); L= 1,33 (0-2,00), C= 0; AT= 6,15 (5,87-6,52)). O grupo de dentados com DRGE (B) apresentaram menor contagem média de microrganismos acidofílicos e anaeróbios totais ao mesmo tempo em que apresentaram maior fluxo salivar (A= 0,50; B= 1,00; C= 0,30; D= 0,28). Embora as limitações do presente estudo, os resultados permitiram concluir que: a) os indivíduos que tem DRGE e usam próteses totais podem apresentar maior contagem de microrganismos acidofílicos e anaeróbios totais na saliva do que os dentados com DRGE; b) o uso da prótese total quando o paciente não tem DRGE, não altera as contagens de microrganismos acidofílicos; c) os indivíduos dentados com DRGE apresentam níveis maiores de fluxo salivar, e, talvez em virtude disto, apresentam menor contagem de microrganismos acidofílicos na saliva comparados aos edêntulos; d) não há diferença de contagem dos microrganismos acidofílicos e anaeróbios totais da base interna das próteses totais superiores de indivíduos com DRGE; e) a DRGE parece ser uma condição de alteração da quantidade de EGM, Lactobacillus spp., Candida spp. e anaeróbios totais na saliva e não nas superfícies bucais estudadas.

Palavras-chave: Microbiota oral. Refluxo gastroesofágico. Úlcera gástrica. Cavidade oral.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Fátima Roberta. 2013. **Acidophilic oral microbiota associated with the use of dentures in patients with gastroesophageal reflux disease**. 37 f. Final Paper (Graduation in Dentistry) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

The main objective of this study was to verify if denture wearers with GERD have altered salivary pH, salivary flow rate and oral acidophilic microbiota compared to individuals without GERD. For that, 40 volunteers of both genders, aged between 18 and 80 years were selected among those who sought care at the Clinic of Gastroenterology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, and were divided into 4 groups: A = dentate, without GERD, B = dentate, with GERD, C = edentulous denture wearers superior, without GERD, D = edentulous denture wearers superior, with GERD. The diagnosis of the presence of GERD was checked clinically using the criteria of Montreal and complemented by esophageal pHmetry and endoscopy. The non-stimulated saliva was collected along with the biofilm of the hard palate, the dorsum of the tongue, and the inner region of the denture. Salivary pH and salivary flow rate were measured from the amount of non-stimulated saliva, and through cultivation in a specific medium. The following microorganisms were identified and counted: *Streptococcus mutans* (EGM), *Lactobacillus* spp. (L), *Candida* spp. (C) and total anaerobes (TA). The collected data were tabulated and expressed as median (1st-3rd quartile), and analyzed statistically using the Kruskal-Wallis test, with significance level of 5%. The levels of acidophilic and anaerobic microorganisms were increased in the saliva of edentulous individuals with GERD (EGM = 4.08 (3.26 to 4.89), L = 3.88 (2.17 to 4.72), C = 2.03 (0 to 2.85), TA = 7.10 (6.52 to 7.57)), compared to dentate with GERD (EGM = 2.78 (1.74 to 3.17), L = 1.33 (0 to 2.00), C = 0, AT = 6.15 (5.87 to 6.52)). The group of dentate with GERD (B) showed lower levels of acidophilic and anaerobic microorganisms and higher salivary flow rate (A = 0.50, B = 1.00, C = 0.30, D = 0, 28). Although the limitations of this study, the results allowed the following conclusion: a) individuals who have GERD and wear complete dentures may have greater acidophilic microorganism count and total anaerobes in saliva than the dentate with GERD; b) the use of complete denture when the patient does not have GERD, does not alter the counts of acidophilic microorganisms; c) the dentate subjects with GERD have higher levels of salivary flow rate, and perhaps by virtue of this, have a lower count acidophilic microorganisms in saliva compared to edentulous; d) there is no difference in the levels of acidophilic and anaerobic microorganisms in the internal base of maxillary dentures of individuals with GERD; e) GERD seems to be a condition that alters the amount of EGM, *Lactobacillus* spp., *Candida* spp. and total anaerobes in the saliva and not on the adhered buccal surfaces studied.

Keywords: Oral microbiota. Gastroesophageal reflux disease. Gastric ulcer. Oral cavity.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Idade média e desvio-padrão.....	18
Tabela 2- Mediana e quartis (Q1=25% e Q3=75%) do pH salivar.....	19
Tabela 3- Mediana e quartis (Q1=25% e Q3=75%) do fluxo salivar (ml/min).....	19
Tabela 4- Contagem de Estreptococos do Grupo Mutans (EGM) nos diferentes locais avaliados, expressa em mediana e quartis (Q1=25% e Q3=75%) de Log ₁₀ (UFC).....	20
Tabela 5- Contagem de <i>Lactobacillus spp.</i> nos diferentes locais avaliados, expressa em mediana e quartis (Q1=25% e Q3=75%) de Log ₁₀ (UFC).....	21
Tabela 6- Contagem de <i>Candida ssp.</i> nos diferentes locais avaliados, expressa em mediana e quartis (Q1=25% e Q3=75%) de Log ₁₀ (UFC).....	22
Tabela 7- Contagem de Anaeróbios totais nos diferentes locais avaliados, expressa em mediana e quartis (Q1=25% e Q3=75%) de Log ₁₀ (UFC).....	22
Tabela 8- Contagem de microrganismos acidofílicos na região interna da base das próteses totais de indivíduos edêntulos sem (Grupo C) e com DRGE (Grupo D), expressa em mediana e quartis (Q1=25% e Q3=75%) de Log ₁₀ (UFC).....	23

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AINE	Anti-inflamatórios não-esteróide
BHI	Caldo Infusão de cérebro e coração
EGM	Estreptococos do Grupo Mutans
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
MSB	Agar Mitis Salivarius
RTF	Fluido de transporte reduzido
UFC	Unidades formadoras de colônias

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	13
2.1	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	13
2.2	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	13
2.3	DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DO REFLUXO GASTROESOFÁGICO	15
2.4	COLETA DE DADOS E ANÁLISE - BIOFILME E SALIVA	15
2.5	CULTIVO E CONTAGEM DOS MICRORGANISMOS ACIDOFÍLICOS	16
3	RESULTADOS.....	18
4	DISCUSSÃO.....	24
5	CONCLUSÕES.....	30
	REFERÊNCIAS.....	31
	APÊNDICE A- CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE	
	ÉTICA.....	35
	APÊNDICE B- TERMOS DE CONSENTIMENTO LIVRE E	
	ESCLARECIDO	36

1 INTRODUÇÃO

A Doença do Refluxo Gastroesofágico é uma alteração digestiva, de atenção primária, geralmente subdiagnosticada e subtratada, onde o conteúdo do estômago e duodeno (ácido clorídrico, bile e suco pancreático) reflui do estômago em direção ao esôfago (EL-SERAG; SONNENBERG, 1997), causando sintomas incômodos ou complicações ao paciente (VAKIL; VAN ZANTEN; KAHRILAS, 2006). Como o revestimento do esôfago não é apropriado para o contato com estas substâncias, este pode se tornar inflamado. As consequências do contato do refluxado com o esôfago variam desde a inflamação das paredes do esôfago (esofagite), redução do calibre do esôfago (estenose), úlcera, até o aparecimento de Esôfago de Barrett que é considerado uma lesão pré-maligna em que o tecido esofágico torna-se avermelhado, semelhante ao estômago (KARKOS et al., 2009) e que pode evoluir para displasia e câncer de esôfago (KOPPERT et al., 2005). As manifestações clínicas que variam de leves episódios de azia, gastrite, regurgitação ácida sem esofagite, inflamação crônica da mucosa com esofagite e ulceração, até complicações mais severas como os casos de estenose e hemorragia (PILOTTO et al., 2006). A prevalência de esofagite tem sido significativamente maior em pessoas idosas do que em indivíduos jovens ou adultos, podendo a velhice ser considerada um fator de risco no desenvolvimento de formas graves de DRGE (EL-SERAG; SONNENBERG, ¹1997, apud PILOTTO et al., 2006). Estudos recentes mostraram que a saliva dos pacientes com DRGE apresenta-se mais ácida (pH entre 6,51 a 7,1) que a dos pacientes saudáveis (pH entre 7,0 e 8,0), (MANTZOURANI et al., 2010; ECKLEY; COSTA, 2006). O ambiente mais ácido pode refletir na alteração da microbiota oral, favorecendo os microrganismos acidofílicos, como os envolvidos na cárie, estomatite protética e afta recorrente, condições comuns aos pacientes idosos.

Sabe-se que o uso de próteses dentais aumenta com a idade (FURE; ZICKERT², 1990 apud SUMI et al., 2002) e estão sujeitas a serem colonizadas pela microbiota oral, a qual pode sofrer modificações quando o paciente se torna edêntulo, aumentando a presença de *Candida ssp* e bactérias acidofílicas

¹ EL-SERAG, H.B.; SONNENBERG, A. Associations between different forms of gastro-oesophageal reflux disease. *Gut*, London, v. 41, no. 5, p. 594–599, Nov. 1997.

² FURE, S.; ZICKERT, I. Salivary conditions and cariogenic microorganisms in 55, 65, and 75-year-old Swedish individuals. *Scand J Dent Res.*, Copenhagen, v. 98, no. 3, p. 197–210, June 1990.

(MANTZOURANI et al., 2010; ROCHA et al., 2003); Anticorpos e células mediadores de resposta diminuem em idosos (MARSH; PERCIVAL; CHALLACOMBE, 1992), e assim torna-se mais comum encontrar-se o aumento da prevalência de organismos transitórios e / ou infecções oportunistas (MARCHINI et al., 2007).

É difícil distinguir a principal causa da mudança na microbiota oral, pois existem outros fatores relevantes além da idade, tais como doenças, hábitos alimentares, fluxo salivar, medicação, má higiene bucal e pH salivar (MARSH; PERCIVAL; CHALLACOMBE, 1992). No entanto, não se sabe se pacientes com DRGE, que podem apresentar pH salivar mais baixo devido aos episódios frequentes refluxos, possuem a microbiota bucal alterada com maior presença de microrganismos acidofílicos (*Streptococcus* do Grupo Mutans (EGM), *Lactobacillus* spp e *Candida.albicans*), e portanto, maior presença de estomatite protética (MANTZOURANI et al., 2010). Existem poucos estudos conduzidos sobre as alterações em microbiota oral acidofílica em pacientes com DRGE, usuários de prótese dental. Desta maneira, consideramos as seguintes hipóteses: a) o pH e o fluxo salivar são similares entre os indivíduos dentados e edêntulos, com e sem DRGE; b) os indivíduos dentados e edêntulos, com e sem DRGE apresentam mesma quantidade de microrganismos acidofílicos na cavidade oral. O objetivo geral deste estudo foi verificar se os pacientes dentados e os usuários de prótese total com DRGE possuem pH salivar, fluxo salivar e microbiota oral acidofílica diferenciados dos pacientes saudáveis, sem DRGE. Para isso, foram verificados o pH e fluxo salivar de indivíduos edêntulos usuários de prótese total com e sem DRGE e comparados com os de indivíduos totalmente dentados com e sem DRGE. Também foram identificados e quantificados os microrganismos acidofílicos (EGM, *Lactobacillus* spp. e *Candida* spp.) encontrados na saliva, no palato duro, no dorso de língua, e na base interna das próteses.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo transversal e observacional envolveu a distribuição dos voluntários (n=40) em 4 grupos experimentais, segundo as condições apresentadas com relação à presença ou não de DRGE, e à presença (dentados) ou ausência de dentes (edêntulos): **Grupo A:** dentado, sem DRGE (n=8); **Grupo B:** dentado, com DRGE (n=8); **Grupo C:** edêntulo usuário de prótese total, sem DRGE (n=12); **Grupo D:** edêntulo usuário de prótese total, com DRGE (n=12).

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Medicina da UFRGS (protocolo #110269). Todos os participantes que aceitaram participar da pesquisa receberam informações orais e escritas sobre as condições do estudo e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), em apêndice. A população foi selecionada entre as pessoas que frequentavam o atendimento no Ambulatório de Gastroenterologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (HCPA) durante o período de julho de 2011 a julho de 2012.

2.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Como meio de inclusão no estudo os voluntários deveriam ter idade entre 18 e 80 anos, sem limitante para gênero masculino ou feminino; relatar uma boa saúde geral (NAMIOS et al., 2007). Os grupos A e B deveriam ter um mínimo de 24 dentes em boca (BURNETT; CLIFFORD, 1999, 1994) e os grupos C e D deveriam ser constituídos por indivíduos edêntulos em ambas as arcadas que fizessem uso de prótese total superior há no mínimo 1 ano (SUMI et al., 2002) tivessem usado a sua prótese total superior por pelo menos 12 dias seguidos (GASPAROTO et al., 2009).

2.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Indivíduos que apresentaram condições de saúde adversas ou fatores que pudessem alterar os resultados da pesquisa, tais como diabetes, doença oral ativa (SUMI et al., 2002), hepatite, câncer em tratamento quimioterápico ou radioterápico (KROETZ; CZLUSNIAK, 2003), HIV positivo, gestantes e lactantes (AL ASQAH et al., 2009) foram excluídos da avaliação. Voluntários que faziam uso contínuo/ diário de medicamentos para tratamento das doenças gastroesofágicas, como inibidores

de bombas de prótons e reguladores da motilidade esofágica ou antiácidos rotineiros foram excluídos da pesquisa.

Foram também excluídos os indivíduos com lesões orais (leucoplasia ou lesões tumorais); e os que faziam consumo crônico de álcool e fumantes (MARCHINI et al., 2007). Voluntários que relataram ter feito uso recente de antibióticos, antiinflamatórios não-esteróides (AINE) e/ou outras drogas, incluindo imunossupressores no período de 3 meses anteriores à pesquisa (RYU et al., 2010; PRADEEP; NANDAKUMAR; SHENOY, 2006; AL ASQAH et al., 2009), também foram excluídos. Os indivíduos que relataram ter ingerido alimentos e líquidos (exceto água) ou realizado higiene oral menos que 2 horas antes da pesquisa, foram excluídos devido ao teste de coleta de saliva e possível alteração na microbiota oral.

Para os grupos de pacientes dentados (grupos A e B), foram excluídos os indivíduos com ausência de suporte dental posterior ou utilizavam próteses dentárias removíveis extensas; voluntários com desordens motoras, neurológicas ou psiquiátricas (interferência na higienização) (CIBIRKA; RAZZOOG; LANG, 1997), e indivíduos que apresentavam lesões cavitadas de cárie. Também foram excluídos voluntários que apresentassem achados clínicos compatíveis com o diagnóstico de estomatite protética, de acordo com o aspecto clínico da mucosa inflamada, sendo utilizada a classificação de Newton (1962), a qual compreende três tipos clínicos: a hiperemia puntiforme (classe I), a hiperemia difusa (classe II) e a hiperemia granular (classe III).

2.3 DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DO REFLUXO GASTROESOFÁGICO (DRGE)

A DRGE foi caracterizada de acordo com os Critérios de Montreal (VAKIL; VAN ZANTEN; KAHRILAS, 2006). Para acessar os sinais e sintomas clínicos para o diagnóstico da DRGE o pesquisador baseou-se na história clínica relatada pelo paciente, como a existência dos sintomas associados ao refluxo, sua frequência, hora de aparecimento, ao tipo de tratamento caseiro o paciente recorre e o tipo de medicação regularmente utilizada. O diagnóstico da DRGE foi complementado pela consideração dos dados clínicos constantes no prontuário do paciente com relação aos laudos dos exames de Phmetria esofagiana prolongada e de endoscopia digestiva alta, que normalmente são solicitados pelos médicos do ambulatório na

consulta inicial e constantes no prontuário do paciente. A população alocada nos grupos sem DRGE (grupos A e C) foi proveniente da seleção dos indivíduos que estavam apenas acompanhando os pacientes que procuraram atendimento no Ambulatório de Gastroenterologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. No caso de o acompanhante se enquadrar nos critérios de inclusão e exclusão desejados para o presente estudo, e aceitar participar voluntariamente, o mesmo passou pelas mesmas etapas de todos os voluntários com DRGE, exceto pelos exames médicos gastroenterológico, de PhMetria e Endoscopia; visto que os acompanhantes não tinham consulta médica agendada para tais fins e não foram submetidos a exames adicionais desnecessários, apenas para fins de pesquisa, sendo o diagnóstico das condições estomacais normais dado apenas pelos sinais e sintomas abordados nos questionários da pesquisa.

Desta maneira, os voluntários foram considerados “com DRGE”, se relatassem sintomas típicos da DRGE, como a pirose, por mais que 1 vez por semana nos questionários, durante 8 semanas contínuas ou intercaladas, associadas ou não ao exame de pHmetria anormal e síndrome com lesão esofágica verificada em endoscopia; ou apresentassem sintomas atípicos em combinação com pHmetria anormal (FORNARI et al., 2004).

2.4 COLETA DE DADOS E ANÁLISE - BIOFILME E SALIVA

As coletas ocorreram entre as 15h e 17h. Anteriormente à coleta de biofilme, foi realizada a coleta de saliva não estimulada, por meio do método de expectoração não estimulado após remoção das próteses (SANTOS et al., 2007; NAVAZESH, 1982) durante um período de 10 minutos dentro de um recipiente plástico estéril (PERCIVAL et al., 1991). O volume e pH da saliva coletada foram medidos logo após a coleta. O biofilme foi removido com cotonetes de algodão estéreis que foram friccionados em duas rotações de 180 graus em seu eixo após ser feito bochecho com água filtrada por 15 segundos, dos seguintes sítios: centro posterior do dorso da língua (ROSSI-AGUIAR et al., 2009; CAMPOS et al., 2008; GEBARA et al., 2006); centro do palato duro (CAMPOS et al., 2008); e centro da superfície interna da prótese total superior (CAMPOS et al., 2008).

As amostras de biofilme oral coletadas foram depositadas em 1ml de fluido de transporte reduzido (RTF) (HOOVER; NEWBRUN, 1977) em frascos estéreis. E as

amostras de biofilme oral e de saliva foram conservadas em um recipiente isolante com gelo, transportadas para o laboratório para processamento dentro de 2 a 4 horas das coletas (PERCIVAL et al., 1991).

No laboratório, as amostra de biofilme oral e de saliva foram homogeneizadas em um mixer (agitador de tubos), por 30 segundos. Procedeu-se então, uma diluição decimal de 10^{-1} a 10^{-4} em solução salina estéril. O cálculo do fluxo salivar não estimulado foi realizado através da análise do volume salivar dividido pelo tempo de coleta da saliva. O valor foi expresso em mL/min. O pH salivar foi medido através de fitas indicadoras de pH (Merck[®], Merck KGaA, Darmstadt, Hessen, Germany), com medições de pH de 0-14. A fita foi mergulhada na saliva não processada contida em tubos falcon estéreis, durante 30 segundos obtendo-se a medida do pH.

2.5 CULTIVO E CONTAGEM DOS MICRORGANISMOS ACIDOFÍLICOS

As diluições da saliva e do biofilme foram cultivadas em duplicatas para determinar a contagem total de anaeróbios totais, de Estreptococos do Grupo Mutans (EGM), de *Lactobacillus* spp., e de *Candida* spp.. Foram utilizadas duas gotas de 25µL das diluições seriadas 0:1, 1:10, 1:100, 1:1000 e 1:10000 para contagem de Estreptococos do Grupo Mutans (EGM), *Lactobacillus* spp. e *Candida* spp. Para os anaeróbios totais, foram utilizadas duas gotas de 25µL das diluições seriadas de 1:10 até 1:10000. Foi utilizado caldo de Infusão de cérebro e coração (BHI) (Himedia[®], Himedia Laboratories, Mumbai, Maharashtra, Índia), suplementado com sangue de carneiro 5%(v/v) (LB[®], Laborclin, Pinhais, Paraná, Brasil) e vitamina K (LB[®], Laborclin, Pinhais, Paraná, Brasil) para determinar a contagem total de anaeróbios nas amostras. As placas de BHI foram incubadas em anaerobiose a 37°C na estufa por 120 horas. Os Estreptococos do Grupo Mutans (EGM) foram isolados no meio Agar Mitis Salivarius (MSB) (BD[®], Difco&BBL, Franklin Lakes, New Jersey, EUA), suplementado com bacitracina (Sigma-Aldrich[®], Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Missouri, EUA), telurito de potássio hidratado (Sigma-Aldrich[®], Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Missouri, EUA) e sacarose PA (Vetec[®], Vetec, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil) por 48 horas, a 37 °C na estufa, em microaerofilia. Para o isolamento de *Lactobacillus* spp., o meio de Rogosa SL Agar (Himedia[®], Himedia Laboratories, Mumbai, Maharashtra, Índia), suplementado com ácido acético 99,9% (VT[®], Vite Química, Gravataí, Rio Grande do Sul, Brasil) foi utilizado com cultivo por

72 horas, a 37 °C na estufa, em microaerofilia. O meio para cultivo de *Candida* spp. foi Sabouraud Agar com Clorafenicol (Acumedia[®], Neogen Corporation, Lansing, Michigan, EUA), que foi incubado em anaerobiose a 37 °C na estufa por 120 horas.

Após cultivo, o número de unidades formadoras de colônias (UFC) foi determinado pela diluição mais apropriada. Duas a três colônias características para cada meio de cultivo seletivo foram selecionadas para avaliação da morfologia e confirmação celular através da coloração de Gram.

Os resultados obtidos para a contagem Estreptococos do Grupo Mutans (EGM), *Lactobacillus* spp., *Candida* spp. e anaeróbios totais foram expressos em \log_{10} das unidades formadoras de colônias (UFC). Os dados foram apresentados em média \pm desvio-padrão ou mediana com intervalo entre quartis conforme apropriado. O teste de Shapiro Wilk foi utilizado para se verificar a distribuição e normalidade das amostras, com significância de 5%. A comparação estatística entre os grupos foi feita pela Análise de Variâncias (ANOVA) de 1 via, seguido pelo teste post-hoc de Tukey, quando existiu normalidade dos dados, ou pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de comparações múltiplas de Newman-Keuls, quando os dados apresentaram distribuição heterogênea, com significância de 5%.

3 RESULTADOS

Um total de 745 pessoas foram abordadas. Os dois principais motivos para os indivíduos abordados não poderem participar do estudo foi o uso diário de medicamentos antiácidos, principalmente bombas inibidoras de prótons, que poderiam interferir com a microbiota oral e o tabagismo. Após terem sido aplicados os critérios de inclusão e exclusão, foram selecionados um total de 40 indivíduos, que foram distribuídos em 4 grupos: A (n=8); B (n=8); C (n=12) e D (n=12). A amostragem total foi composta por 45% de indivíduos do gênero masculino e 55% do gênero feminino, com distribuição similar entre os grupos. Nos grupos dentados (A e B; n= 16), 56% eram do gênero feminino e nos grupos edêntulos (C e D; n=24), 54% eram do gênero feminino. A média de idade dos participantes foi de $53,5 \pm 14,8$ anos, de maneira que os indivíduos dentados (grupos A e B) apresentaram uma média de idade menor ($39,6 \pm 10,2$ anos) que os edêntulos (grupos C e D) ($62,8 \pm 8,9$ anos), com diferença estatística significativa entre dentados e edêntulos, $p < 0,01$ (Tabela 1).

Tabela 1- Idade média e desvio-padrão.

	A	B	C	D
Média	41,0 ^a	38,1 ^a	63,1 ^b	62,6 ^b
Desvio-padrão	8,9	11,8	7,9	10,1

Nota: Letras diferentes representam diferença estatística significativa entre os grupos ($p < 0,01$), através da Análise de Variâncias (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

A maioria dos indivíduos dentados apresentava vida profissional ativa (comerciante, operador de máquinas, agricultor, etc.), enquanto a maioria dos indivíduos desdentados relatou ser aposentados. A renda média mensal dos indivíduos do grupo A foi de R\$1780,00, do grupo B foi de R\$1140,00, dos grupos C e D foram de R\$1180,00, sendo que 93% do total de participantes possuíam casa própria.

O tempo médio de edentulismo do grupo C foi de $26,8 \pm 11,2$ anos e do grupo D foi de $21,6 \pm 12,4$ anos, sendo que utilizavam a prótese atual por em média $12,0 \pm 10,5$ anos. A maioria destes indivíduos relatou higienizar suas próteses 3

vezes ao dia com escova e creme dental. Tanto os indivíduos edêntulos quanto os dentados afirmaram que costumam consumir, em média, 1 vez ao dia, algum tipo de alimento que contém sacarose, sendo que relataram fazer, em média, 4 refeições ao dia.

Nenhum dos pacientes apresentou estomatite protética, avaliada de acordo com a classificação de Newton (1962).

A análise estatística mostrou que não houve diferença estatística do pH salivar entre os grupos ($p= 0,117$), com as medianas variando entre 7,0 e 7,5 (Tabela 2). Já o fluxo salivar mostrou-se diferente entre os grupos, com $p= 0,015$, segundo o teste não-paramétrico de Kruskal Wallis, para variâncias desiguais. Após o teste post-hoc de Newman-Keuls, verificou-se que houve diferença estatística significativa entre os grupos A e D ($p= 0,017$), B e D ($p= 0,004$) (Tabela 3). Os grupos de indivíduos edêntulos sem DRGE apresentaram valores intermediários de fluxo salivar; enquanto os indivíduos edêntulos com DRGE apresentaram menor fluxo salivar que os dentados dos grupos A e B. Assim, comparando-se apenas os indivíduos com DRGE, verificou-se que os indivíduos dentados apresentam maior fluxo salivar que os edêntulos.

Tabela 2- Mediana e quartis (Q1=25% e Q3=75%) do pH salivar.

	A	B	C	D
Mediana	7,0	7,5	7,0	7,0
Q1-Q3	7,0-7,0	7,0-8,0	7,0-7,0	7,0-7,0
p-valor	0,117			

Nota: ($p=0,117$), através do teste de Kruskal Wallis, a 5% de significância.

Tabela 3- Mediana e quartis (Q1=25% e Q3=75%) do fluxo salivar (ml/min).

	A	B	C	D
Mediana	0,50 ^a	1,00 ^a	0,30 ^{ab}	0,28 ^b
Q1-Q3	0,38-0,51	0,35-1,00	0,22-0,45	0,18-0,30

Nota: Letras diferentes representam diferença estatística significativa entre os grupos ($p=0,015$), através do teste de Kruskal Wallis seguido pelo teste de Newman-Keuls, a 5% de significância.

Após a análise da contagem de EGM nos diferentes locais de coleta (Tabela 4), observou-se que os indivíduos edêntulos apresentaram maior quantidade de EGM na saliva do que os indivíduos dentados com DRGE ($p= 0,02$), enquanto os indivíduos dentados sem DRGE representaram um grupo de valores intermediários entre os grupos B, C e D. Não houve diferença estatística significativa entre os grupos para a contagem de EGM no palato ($p= 0,944$). Embora a contagem de EGM tenha sido maior no dorso da língua dos pacientes edêntulos, não foi encontrada diferença estatística significativa entre os grupos ($p= 0,317$).

Tabela 4- Contagem de Estreptococos do Grupo Mutans (EGM) nos diferentes locais avaliados, expressa em mediana e quartis (Q1=25% e Q3=75%) de $\text{Log}_{10}(\text{UFC})$.

	Saliva				Palato				Dorso da língua			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
Mediana	3,09 ^{ab}	2,78 ^a	4,19 ^b	4,08 ^b	1,33	1,67	1,70	1,52	1,93	1,79	3,15	3,58
Q1	n.d	1,74	3,42	3,26	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	2,40
Q3	3,69	3,17	5,31	4,89	2,39	2,84	2,98	2,69	3,29	2,95	3,98	4,18
<i>p</i> -valor	0,031 [*]				0,944				0,317			

Notas: Letras diferentes representam diferença estatística significativa entre os grupos (em ambas as diferenças, $p=0,02$), teste de Newman-Keuls, a 5% de significância.

nd = níveis não detectáveis de microrganismos, abaixo de 40.

*Diferença estatística significativa entre os grupos, teste de Kruskal Wallis, a 5% de significância.

Indivíduos edêntulos apresentaram maior quantidade de *Lactobacillus ssp.* na saliva que os indivíduos dentados com DRGE (diferença B-C, $p= 0,039$; diferença B-D, $p= 0,019$) enquanto os indivíduos dentados sem DRGE representaram um grupo de valores intermediários entre os grupos B, C e D (Tabela 5). A contagem de *Lactobacillus ssp.* foi muito baixa no palato, não havendo diferença estatística significativa entre os grupos ($p= 0,665$). No entanto, 41,7% dos indivíduos edêntulos sem DRGE apresentaram este microrganismo acidofílico no palato, enquanto 25% dos indivíduos com DRGE, tanto os dentados quanto os edêntulos, tiveram a presença de *Lactobacillus ssp.*, e 12,5% dos indivíduos dentados sem DRGE. Embora a contagem de *Lactobacillus ssp.* tenha sido maior no dorso da língua dos

pacientes edêntulos com DRGE, não foi encontrada diferença estatística significativa entre os grupos ($p=0,589$).

Tabela 5- Contagem de *Lactobacillus spp.* nos diferentes locais avaliados, expressa em mediana e quartis (Q1=25% e Q3=75%) de Log_{10} (UFC).

	Saliva				Palato				Dorso da língua			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
Mediana	1,75 ^{ab}	1,33 ^a	3,66 ^b	3,88 ^b	n.d	n.d	n.d	n.d	2,09	2,45	2,60	3,19
Q1	n.d	n.d	2,79	2,17	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	2,53
Q3	3,59	2,00	4,34	4,72	n.d	1,53	2,64	1,58	3,26	4,12	3,53	3,80
p-valor	0,045 [*]				0,665				0,589			

Notas: Letras diferentes representam diferença estatística significativa entre os grupos (diferenças B-C, $p=0,039$; B-D, $p=0,019$), teste de Newman-Keuls, a 5% de significância. nd = níveis não detectáveis de microrganismos, abaixo de 40.

*Diferença estatística significativa entre os grupos, teste de Kruskal Wallis, a 5% de significância.

A contagem de *Candida ssp.* foi baixa nos diferentes locais de coleta (Tabela 6). No entanto, a detecção deste microrganismo na saliva foi mais frequente nos indivíduos edêntulos, tanto sem e com DRGE (C= 66,7% e D= 58,3%). No palato, a frequência de detecção de *Candida ssp.* foi maior nos indivíduos edêntulos com DRGE (33,3%) do que nos demais grupos (A= 12,5%, B= 0, C= 8,3%). No dorso da língua, a frequência de detecção deste microrganismo foi maior nos indivíduos edêntulos (C= 41,7% e D= 41,7%), comparado aos grupos de dentados (A= 25% e B= 12,5%). Para a saliva, foi encontrada diferença estatística significativa entre os grupos de dentados e edêntulos ($p= 0,03$). Entretanto, não foi observada diferença estatística significativa entre os grupos para o palato ($p= 0,155$), nem para o dorso da língua ($p= 0,159$).

Tabela 6- Contagem de *Candida ssp.* nos diferentes locais avaliados, expressa em mediana e quartis (Q1=25% e Q3=75%) de Log₁₀(UFC).

	Saliva				Palato				Dorso da língua			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
Mediana	n.d ^a	n.d ^a	2,08 ^b	2,03 ^b	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	1,47
Q1	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Q3	n.d	n.d	2,43	2,85	n.d	n.d	n.d	1,42	1,39	n.d	1,71	2,05
p-valor		0,030*				0,155				0,159		

Notas: Letras diferentes representam diferença estatística significativa entre os grupos (p=0,04), teste de Newman-Keuls, a 5% de significância.

nd = níveis não detectáveis, abaixo de 40 microrganismos.

*Diferença estatística significativa entre os grupos, teste de Kruskal Wallis, a 5% de significância.

Os indivíduos edêntulos apresentaram maior quantidade de anaeróbios na saliva do que os indivíduos dentados com DRGE (diferença B-C, p= 0,009; diferença B-D, p= 0,021), enquanto os indivíduos dentados sem DRGE representaram um grupo de valores intermediários entre os grupos B, C e D (Tabela 7). Não houve diferença estatística significativa entre os grupos para a contagem de anaeróbios totais no palato (p= 0,566), nem no dorso da língua (p= 0,912).

Tabela 7- Contagem de Anaeróbios totais nos diferentes locais avaliados, expressa em mediana e quartis (Q1=25% e Q3=75%) de Log₁₀(UFC).

	Saliva				Palato				Dorso da língua			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
Mediana	6,99 ^{ab}	6,15 ^a	7,00 ^b	7,10 ^b	5,54	4,82	5,01	4,94	6,55	6,71	6,83	6,63
Q1	6,62	5,87	6,81	6,52	4,79	4,13	4,41	4,26	5,36	5,45	6,13	6,06
Q3	7,19	6,52	7,21	7,57	6,29	5,45	5,36	5,61	6,91	7,00	7,01	6,84
p-valor		0,05*				0,566				0,912		

Notas: Letras diferentes representam diferença estatística significativa entre os grupos (diferenças B-C, p=0,009; B-D, p=0,021), teste de Newman-Keuls, a 5% de significância.nd = níveis não detectáveis de microrganismos, abaixo de 40.

*Diferença estatística significativa entre os grupos, teste de Kruskal Wallis, a 5% de significância.

Na base interna das próteses totais superiores dos pacientes edêntulos sem e com DRGE, foram encontrados todos os microrganismos acidofílicos estudados, sendo a média de contagem (\pm desvio-padrão) de EGM igual a 3,09 (\pm 1,56), de *Lactobacillus ssp.* igual a 2,46 (\pm 1,45), de *Candida ssp.* igual a 1,96 (\pm 1,04) e de anaeróbios totais igual a 5,00 (\pm 1,87). A detecção de *Candida ssp.* foi mais frequente na prótese total superior de indivíduos com DRGE (58,3%) do que nas de indivíduos sem DRGE (41,7%). Os EGM e *Lactobacillus ssp.* foram encontrados com a mesma frequência na base da prótese total superior dos indivíduos sem e com DRGE (66,7%). No entanto, nos grupos de indivíduos edêntulos sem (grupo C) e com DRGE (grupo D), não houve diferença estatística significativa nas contagens de microrganismos acidofílicos da região interna das bases da prótese total superior (Tabela 8).

Tabela 8- Contagem de microrganismos acidofílicos na região interna da base das próteses totais de indivíduos edêntulos sem (Grupo C) e com DRGE (Grupo D), expressa em mediana e quartis (Q1=25% e Q3=75%) de $\text{Log}_{10}(\text{UFC})$.

	EGM		Lactobacillus ssp.		Candida ssp.		Anaeróbios totais	
	C	D	C	D	C	D	C	D
Mediana	3,17	3,65	2,69	2,06	n.d	2,07	5,25	5,75
Q1	n.d	2,07	n.d	n.d	n.d	n.d	4,71	4,79
Q3	3,79	4,35	3,51	3,78	2,64	3,15	6,10	5,97
p-valor	0,483		0,952		0,441		0,795	

Notas: Diferença estatística significativa entre os grupos, teste de Mann-Whitney, a 5% de significância.
nd = níveis não detectáveis, abaixo de 40 de microrganismos.

4 DISCUSSÃO

Este estudo é de delineamento transversal, de cunho observacional no qual foram avaliadas 745 pessoas. Teve como objetivos avaliar os efeitos da DRGE sobre a microbiota oral acidofílica, pH e fluxo salivar em pacientes dentados e usuários de prótese total, pois no presente momento existem poucos estudos com essa finalidade. Para a inclusão nos grupos com DRGE, houve dificuldade devido ao fato de o indivíduo não poder estar em tratamento medicamentoso para a DRGE. No grupo de voluntários usuários de prótese total sem DRGE a maior dificuldade foi em relação aos hábitos de higiene e à frequência de troca das próteses. A qualidade das próteses totais tende a diminuir muito com o tempo de uso, principalmente a partir do quarto ano e que, após o oitavo ano de uso uma grande parte dos pacientes acabam apresentando problemas mastigatórios (YOSHIZUMI³, 1964 apud CABRINI et al., 2008).

No presente estudo os valores de pH e fluxo salivar estavam dentro da normalidade. Nauntofte et al. (2005) propuseram que a aferição do fluxo salivar devia ser realizada através da saliva não estimulada, utilizando-se valor igual ou inferior a 0,1 mL/min e, para saliva estimulada, igual ou inferior a 0,5-0,7 mL/min, para o diagnóstico da hipossalivação. Não se observou diferença estatística em relação ao pH salivar em ambos os grupos (Tabela 2). Assim como em outros estudos que avaliaram o pH salivar em indivíduos com e sem DRGE, não foi observada diferença de pH entre os grupos teste e controle (CORRÊA et al., 2012; SILVA et al., 2001). Diferentemente de outros autores que mostraram que a saliva de pacientes com DRGE apresenta-se mais ácida que a de pacientes saudáveis, apresentando uma correlação positiva entre alterações de pH salivar e DRGE (MANTZOURANI et al., 2010; ECKLEY; COSTA, 2006). Em outro estudo foi observado valores de pH salivar significativamente maiores em indivíduos que possuíam DRGE em comparação aos saudáveis, quando a saliva era coletada de forma estimulada (CAMPISI et al., 2008).

Ao se comparar somente o grupo de usuários de prótese saudáveis com os grupos de dentados com e sem DRGE não houve diferença estatística para o fluxo

³ YOSHIZUMI, D.T. An evaluation of factors pertinent to the success of complete denture service. *J. Prosthet. Dent.*, St. Louis, v. 14, p. 866-878, 1964.

salivar não estimulado. Não obstante, quando foi associado o uso de prótese com a DRGE verificou-se uma redução significativa. Loesche et al. (1995) demonstrou existir uma correlação positiva entre o fluxo salivar e o número de dentes. Estudos anteriores sugeriram que existia uma diminuição de fluxo salivar com o envelhecimento (RYU et al., 2010; NARHI; KURKI; AINAMO, 1999). Campisi et al. (2008) encontraram uma menor taxa de fluxo salivar estimulado nos indivíduos com DRGE, entretanto se observou uma semelhança no fluxo salivar não estimulado entre os indivíduos saudáveis e com DRGE. Corrêa et al. (2012) também não encontraram diferenças no fluxo salivar (tanto o estimulado, quanto o não estimulado) entre indivíduos com e sem DRGE. Moazzez et al. (2004) relataram uma diminuição de fluxo salivar em alguns pacientes com DRGE que apresentavam sintoma clínico de rouquidão em comparação com o grupo de indivíduos saudáveis, entretanto, na maioria dos casos, os dois grupos apresentaram fluxos salivares semelhantes entre si. Yoshikawa et al. (2012) observaram um reduzido volume de fluxo salivar em indivíduos com DRGE. Em outros estudos não foi observado diferença significativa na taxa de fluxo salivar estimulado entre indivíduos com e sem DRGE (SILVA et al., 2001; MOAZZEZ et al., 2004).

Os microrganismos, em geral, apresentaram-se em maior número na saliva em comparação com as outras superfícies da cavidade oral, tanto nos indivíduos dentados quanto nos usuários de prótese total. Isso se deve ao fato de a saliva banhar a maior parte das áreas presentes na cavidade oral. Ela age como um coletor de microrganismos e de células descamadas das superfícies, que também possuem microrganismos (DAWES, 2003). Tanner et al. (2002) relataram que a maioria dos microrganismos da saliva são oriundos da língua. O baixo fluxo salivar pode explicar o número maior de bactérias na saliva dos indivíduos edêntulos, pois é preciso um tempo maior para coletar um mililitro de saliva (LOESCHE et al., 1995).

O presente estudo encontrou que o número de microrganismos apareceu diminuído na saliva de indivíduos dentados com DRGE em comparação aos usuários de prótese com DRGE. Esse resultado pode ser em função de os microrganismos estarem mais diluídos, devido ao fluxo salivar aumentado em indivíduos dentados com DRGE. Outro fator que pode ter contribuído para esse resultado seriam os critérios de inclusão do estudo estabelecerem que o ambiente bucal devesse estar em condições de saúde, e esse fato já reduz a microbiota da

cavidade oral. Alguns autores sugeriram que os contatos com os ácidos, como o refluxado, tornariam as superfícies dos dentes mais polidas dificultando o acúmulo bacteriano (CORRÊA; LERCO; HENRY, 2008). Corrêa et al. (2012) compararam indivíduos dentados com e sem DRGE e encontraram que aqueles com DRGE apresentavam um número de microrganismos reduzidos na saliva, mostrando uma diferença significativa de estreptococos que se apresentavam em menor número em indivíduos com DRGE e um número reduzido de lactobacilos em voluntários com DRGE. Alguns autores relataram que indivíduos que possuíam DRGE apresentavam menor número de lesões de cárie em comparação com aqueles que eram saudáveis (CORRÊA et al., 2012; CORRÊA; LERCO; HENRY, 2008; CAZZONATTO; BERNASCONI; PEDRAZZOLLI, 2003). Entretanto, outros estudos com crianças, constataram um número maior de *S. mutans* na saliva das crianças com DRGE em comparação com as saudáveis (ERSIN et al., 2006; LINNETT et al., 2002). Os *S. mutans* têm um papel importante tanto na iniciação como na progressão de lesões cáries, enquanto que os *Lactobacillus* spp. apenas atuam na progressão da cárie, uma vez que a lesão já tenha sido iniciada (TANZER⁴ et al., 2001 apud PAROLO, 2009).

Existem poucos estudos na literatura sobre os efeitos do processo de envelhecimento em relação à estabilidade da microbiota oral (MARSH, 1988), isso porque, fica difícil distinguir os reais efeitos da idade, devido a uma série de outros fatores relevantes que, também, mudam com a idade, como mudanças de hábitos alimentares, fluxo salivar, higiene bucal, pH salivar e uso de dentaduras (LOESCHE et al., 1995; MARSH et al., 1992; PERCIVAL et al., 1991; MARSH, 1988). Em um estudo com indivíduos idosos dentados Percival et al. (1991) demonstraram que comumente pode ocorrer um aumento na prevalência de EGM, lactobacilos e fungos nos idosos. Além disso, a ausência de dentes e a xerostomia, apresentada por muitos idosos, podem afetar de forma direta a escolha alimentar e essa escolha, certamente, afetaria a composição microbiológica da saliva destes indivíduos (LOESCHE et al., 1995).

Na análise de EGM, a proporção desse microrganismo foi estatisticamente maior na saliva do grupo de indivíduos edêntulos. Estudos anteriores também

⁴ TANZER, J. M.; LIVINGSTON, J.; THOMPSON, A. M. The microbiology of primary dental caries in humans. **J. Dent. Educ.**, Washington, v. 65, n. 10, p. 1028-37, Oct. 2001.

revelaram um aumento na proporção de EGM na saliva, porém sem significado estatístico (NARHI et al., 1999; MARSH et al., 1992; PERCIVAL et al., 1991). Quando se realiza uma reabilitação protética na cavidade bucal de um paciente edêntulo, observa-se o reestabelecimento de microbiota oral, antes modificada com a total perda dentária, por exemplo, o ressurgimento de EGM. (MANTZOURANI et al., 2010). Não foi observada diferença estatística para EGM, em ambos os grupos, tanto no palato, quanto no dorso da língua, porém a contagem de EGM foi maior no dorso da língua, embora não significante estatisticamente. Isto pode ter ocorrido devido a maior área de retenção que a língua possui em comparação ao palato. O dorso da língua se apresenta como um dos mais complexos nichos ecológicos presentes no corpo humano (UREÑA, 2002).

Na contagem de lactobacilos, observa-se maior quantidade destas bactérias na saliva de voluntários edêntulos. Outros estudos também encontraram aumento estatisticamente significativo para *Lactobacillus* spp., não somente em indivíduos que utilizavam dentaduras (MARSH et al., 1992), mas também na saliva de indivíduos idosos (PERCIVAL et al., 1991). Não houve diferença estatística para *Lactobacillus* spp, em ambos os grupos, nas regiões do palato e dorso de língua, no entanto a contagem de *Lactobacillus* spp foi maior no dorso da língua pela sua característica retentiva (embora não significativo). As diferentes superfícies da cavidade bucal são diferentemente colonizadas pelos microrganismos existentes nela. Lactobacilos, que apresentam dificuldade em aderir-se em superfícies lisas, e que necessitam de sítios retentivos para a sua colonização, fazem da superfície de próteses um meio ideal. Eles também possuem a capacidade de adesão nas mucosas orais e no dorso da língua (PAROLO, 2009; BADET; THEBAUD, 2008). Essas bactérias são capazes de sobreviver em ambientes extremamente ácidos (BADET; THEBAUD, 2008).

Para *Candida* spp., houve aumento significante na saliva dos edêntulos. Outros estudos encontraram um aumento com significado estatístico de fungos em indivíduos com prótese (MARSH et al.,1992;). Assim como em EGM e em Lactobacilos não se verificou diferença estatística para *Candida* spp. nas áreas do palato e do dorso da língua em indivíduos edêntulos. A *Candida* spp é um microrganismo que possui uma grande capacidade de adesão a superfícies mucosas, e isso confere um risco para o desenvolvimento de patógeneses na

cavidade bucal (BILHAN et al., 2009). A *Candida* spp. é o tipo mais comum de microrganismo encontrado em infecções orais por *Candida*, entretanto não necessariamente causa estomatite protética (OKSALA⁵,1990; ZEGARELLI⁶, 1993; DAR-ODEH; SHEHABI⁷, 2003 apud BILHAN et al., 2009), visto que é necessário haver outros fatores predisponentes como a idade, defesa imunológica, doenças sistêmicas, tempo de uso da prótese e falta de higiene da prótese (BUDTZ-JORGENSEN⁸, 1981; MIKKONEN⁹ et al., 1984; NEVALAINEN et al., 1997; ROSSIE¹⁰; GUGGENHEIMER¹¹, 1997; SAKKI¹² et al., 1997; CANNON¹³; CHAFFIN, 1999; GUGGENHEIMER et al., 2000; SHERMAN¹⁴ et al., 2002 apud BILHAN et al., 2009).

Em relação aos anaeróbios totais, os indivíduos edêntulos apresentaram maior quantidade destes microrganismos na saliva. Estudos anteriores demonstraram uma correlação entre idade e diminuição do fluxo salivar com o aumento no número de anaeróbios totais (RYU et al., 2010).

Em relação à base interna da prótese não foi observado diferença estatística, tanto para o grupo com DRGE, quanto para o grupo sem DRGE, apesar de estudos afirmarem que a região interna das próteses é a mais comprometida em relação à quantidade de biofilme (MOREIRA; QUELUZ, 2000; DE FIORI et al., 1985). Próteses totais possuem porosidades que podem favorecer a adesão e a colonização de microrganismos (SHAY, 2000), essa adesão também pode ser facilitada em virtude da dificuldade da ação de limpeza da saliva (ROCHA et al., 2003) e da língua ou outra musculatura orofacial (SHAY, 2000). O biofilme que se

⁵ OKSALA, E. Factors predisposing to oral yeast infections. **Acta Odontol. Scand.**, London, v. 48, no. 1, p. 71-4, Feb. 1990.

⁶ ZEGARELLI, D. J. Fungal infections of the oral cavity. **Otolaryngol. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 26, no. 6, p. 1069-89, Dec. 1993.

⁷ DAR-ODEH, N. S.; SHEHABI, A. A. Oral candidosis in patients with removable dentures. **Mycoses.**, v. 46, no. 5-6, p. 187-91, Jun. 2003.

⁸ BUDTZ-JORGENSEN, E. The significance of *Candida albicans* in denture stomatitis. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v. 82, n. 2, p. 151-90, 1974.

⁹ MIKKONEN, M. et al. Prevalence of oral mucosal lesions associated with wearing removable dentures in Finnish adults. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, Copenhagen, v. 12, n. 3, p. 191-4, Jun. 1984.

¹⁰ ROSSIE, K.; GUGGENHEIMER, J. Oral candidiasis: clinical manifestations, diagnosis, and treatment. **Pract. Periodontics Aesthet. Dent.**, New York, v. 9, n. 6, p. 635-41; quiz 642, Aug. 1997.

¹¹ GUGGENHEIMER, J. et al. Insulin-dependent diabetes mellitus and oral soft tissue pathologies: II. Prevalence and characteristics of *Candida* and *Candidal* lesions. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 89, n. 5, p. 570-6, May. 2000.

¹² SAKKI, T.; KNUUTTILA, M. Controlled study of the association of smoking with lactobacilli, mutans streptococci and yeasts in saliva. **Eur. J. Oral Sci.**, Copenhagen, v. 104, n. 5-6, p. 619-22, Oct-Dec. 1996.

¹³ CANNON, R. D.; CHAFFIN, W. L. Oral colonization by *Candida albicans*. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.**, Alexandria, v. 10, n. 3, p. 359-83, 1999.

¹⁴ SHERMAN, R. G. et al. Oral candidosis. **Quintessence Int.**, Berlin, v. 33, n. 7, p. 521-32, Jul-Aug 2002.

forma nas superfícies das próteses se apresenta bastante organizado em sua composição (SILVA; SEIXAS, 2008).

O presente estudo não avaliou a capacidade tampão da saliva. Outros autores relatam que a capacidade tampão em indivíduos com DRGE foi reduzida em comparação aos indivíduos saudáveis (CORRÊA et al., 2012; MOAZZEZ et al., 2004). Em outros relatos foi observado uma melhora na capacidade tampão de indivíduos que possuíam DRGE (CAMPISI et al., 2008; BOUCHOUCHA et al., 1997). Entretanto, Silva et al. (2001) não encontraram diferença significativa na capacidade tampão da saliva entre os indivíduos com e sem DRGE.

5 CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo permitiram concluir que:

- a) A contagem de anaeróbios totais, Estreptococos do grupo mutans (EGM), Lactobacillus SSP e Candida ssp foi maior na saliva de indivíduos edêntulos sem DRGE do que em indivíduos dentados com DRGE.
- b) Os indivíduos dentados com DRGE apresentaram fluxo salivar aumentado, comparado aos demais indivíduos com DRGE.
- c) O fluxo salivar aumentado nos pacientes dentados com DRGE pode ter diluído as contagens de microrganismos na saliva, de maneira que este grupo apresentou as menores contagens de microrganismos na saliva.
- d) Não houve diferença de contagem dos microrganismos acidofílicos e anaeróbios totais da base interna das próteses totais superiores de indivíduos com DRGE.

REFERÊNCIAS

- AL ASQAH, M. et al. Is the presence of *Helicobacter pylori* in the dental plaque of patients with chronic periodontitis a risk factor for gastric infection? **Can. J. Gastroenterol.**, Oakville, v. 23, no. 3, p.177-179, Mar. 2009.
- BADET, C.; THEBAUD, N. B. Ecology of Lactobacilli in the Oral Cavity: A Review of Literature. **Open Microbiol. J.**, Hilversum, v. 2, p. 38–48, Apr. 2008.
- BILHAN, H. et al. The role of *Candida albicans* hyphae and *Lactobacillus* in denture-related stomatitis. **Clin. Oral Investig.**, Berlin, v. 13, no. 4, p. 363-368, Dec. 2009.
- BOUCHOUCHA, M. et al. Relationship between acid neutralization capacity of saliva and gastro-oesophageal reflux. **Arch. Physiol. Biochem.**, Lisse, Netherlands, v.105, no.1, p.19-26, Feb. 1997.
- BURNETT, C.A.; CLIFFORD, T.J. Reproducibility of the speech envelope and interocclusal dimensions in dentate subjects. **Int. J. Prosthodont.**, Lombard, v. 7, no. 6, p. 543-548, Dec. 1994.
- BURNETT, C.A.; CLIFFORD, T.J. The mandibular speech envelope in subjects with and without incisal tooth wear. **Int. J. Prosthodont.**, Lombard, v.12, no. 6, p. 514-518, Nov./Dec. 1999.
- CABRINI, J. et al. Tempo de uso e a qualidade das próteses totais – uma análise crítica. **Ciênc. Odontol. Bras.**, São José dos Campos, v. 11, n. 2, p. 78-85, abr./jun. 2008.
- CAMPISI, G. et al. Saliva variations in gastro-oesophageal reflux disease. **J. Dent.**, Oxford, v. 36, p. 268–271, 2008.
- CAMPOS, M. S. et al. Biofilm microbial communities of denture stomatitis. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v. 23, no. 5, p. 419-424, Oct. 2008.
- CAZZONATTO, J.R.H.; BERNASCONI, G.C.R.; PEDRAZZOLLI, J.R. Gastroesophageal reflux and oral lesions: is the acid that bad? **GED: Gastroenterol. Endosc. Dig.**, São Paulo, v.22, p.42-46, 2003.
- CIBIRKA, R. M.; RAZZOOG, M.; LANG, B. R. Critical evaluation of patient responses to dental implant therapy. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 78, no. 6, p. 574-581, Dec. 1997.
- CORRÊA, M.C.; LERCO, M.M.; HENRY, M.A. Study in oral cavity alterations in patients with gastroesophageal reflux disease. **Arq. Gastroenterol.**, São Paulo, v. 45, no. 2, p.132-136, Apr./June 2008.
- CORRÊA, M. C. et al . Salivary parameters and teeth erosions in patients with gastroesophageal reflux disease. **Arq. Gastroenterol.**, São Paulo, v. 49, no. 3, July/Sept. 2012.
- DAWES, C. Estimates, from salivary analyses, of the turnover time of the oral mucosal epithelium in humans and the number of bacteria in an edentulous mouth. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v. 48, no.5, p. 329-336, May 2003.

DE FIORI, S.R. et al. Objetivo da terapia protética em relação aos aspectos preventivos e comunitários de atendimento odontológico. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v. 39, p.258-262, 1985.

ECKLEY, C.A.; COSTA, H.O. Comparative study of salivary pH and volume in adults with chronic laryngopharyngitis by gastroesophageal reflux disease before and after treatment. **Braz. J. Otorhinolaryngol.**, São Paulo v. 72, no. 1, p. 55-60, Jan./Feb. 2006.

EL-SERAG, H.B.; SONNENBERG, A. Associations between different forms of gastro-oesophageal reflux disease. **Gut.**, London, v. 41, no. 5, p. 594–599, Nov. 1997

ERSIN, N.K. et al. Oral and dental manifestations of gastroesophageal reflux disease in children: a preliminary study. **Pediatr. Dent.**, Chicago, v. 28, no. 3, p. 279-284, May/June 2006.

FORNARI, F. et al. Symptom's questionnaire for gastroesophageal reflux disease. **Arq. Gastroenterol.**, São Paulo, v. 41, no. 4, p. 263-267, Oct./Dec. 2004.

GASPAROTO, T. H. et al. Isolation of *Candida dubliniensis* from denture wearers. **J. Med. Microbiol.**, Edinburgh, v. 58, no. 7, p. 959-962, July 2009.

GEBARA, E.C.E. et al. Persistence of *Helicobacter pylori* in the oral cavity after systemic eradication therapy. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 33, no. 5, p. 329–333, May 2006.

HOOVER, C. I.; NEWBRUN, E. Survival of bacteria from human dental plaque under various transport conditions. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v. 6, no. 3, p. 212-218, Sept. 1977.

KARKOS, P.D. et al. Reflux and sleeping disorders: a systematic review. **J. Laryngol. Otol.**, London, v. 123, no. 4, p. 372-374, Apr. 2009.

KOPPERT, L.B. et al. The molecular biology of esophageal adenocarcinoma. **J. Surg. Oncol.**, New York, v. 1;92, no. 3, p. 169-90. Dec. 2005.

KROETZ, F.M.; CZLUSNIAK, G.D. Alterações bucais e condutas terapêuticas em pacientes infanto-juvenis submetidos a tratamentos anti-neoplásicos. **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, Ponta Grossa, v. 9, n. 2, p. 41-48, jun. 2003.

LINNETT, V. et al. Oral health of children with gastro-esophageal reflux disease: A controlled study. **Aust. Dent. J.**, Sydney, v.47, no.2, p. 156–162, June 2002.

LOESCHE, W. J. et al. Factors which influence levels of selected organisms in saliva of older individuals. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v. 33, no. 10, p. 2550-2557, Oct. 1995.

MANTZOURANI, M. et al. Non-oral bifidobacteria and the aciduric microbiota of the denture plaque biofilm. **Mol. Oral Microbiol.**, Copenhagen, v. 25, no. 3, p. 190-199, June 2010.

- MARCHINI, L. et al. Bacterial diversity in aphthous ulcers. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v. 22, no. 4, p. 225-231, Aug. 2007.
- MARSH, P.D. Do changes in the oral microflora occur with age? **Microb. Ecol. Health Dis.**, London, v. 1, p. 273-274, 1988.
- MARSH, P. D.; PERCIVAL, R. S.; CHALLACOMBE, S. J. The influence of denture-wearing and age on the oral microflora. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 71, no. 7, p. 1374-1381, July 1992.
- MOAZZEZ, R.; BARTLETT, D.; ANGGIANSAH, A. Dental erosion, gastro-oesophageal reflux disease and saliva: how are they related? **J. Dent.**, Bristol, v.32, no. 6, p. 489–494, Aug. 2004.
- MOREIRA, E.L.; QUELUZ, D.P. A importância da manutenção da vida útil das próteses em pacientes da Terceira Idade. **PCL: Revista Brasileira de Prótese Clínica & Laboratorial.**, Curitiba, v. 2, n. 8, p.43-51, 2000.
- NAMIOT, D. B. et al. Oral health status and oral hygiene practices of patients with peptic ulcer and how these affect *Helicobacter pylori* eradication from the stomach. **Helicobacter**, Oxford, v. 12, no. 1, p. 63-67, Feb. 2007.
- NARHI, T. O.; KURKI, N.; AINAMO, A. Saliva, salivary micro-organisms, and oral health in the home-dwelling old elderly a five year longitudinal study. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 78, no. 10, p. 1640-1646, Oct. 1999.
- NAUNTTOFTE, B.; TENOVUO, J.O.; LAGERLÖF, F. Secreção e composição da saliva. In: FEJERSKOV, O.; KIDD, E. **Cárie dentária: a doença e o seu tratamento clínico**. São Paulo: Liv. Santos, 2005, p. 7-27.
- NAVAZESH, M.; CHRISTENSEN, C.M. A comparison of whole mouth resting and stimulated salivary measurement procedures. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 61, no. 10, p. 1158-1162, Oct. 1982.
- NEWTON, A.V. Denture sore mouth: a possible etiology. **Br. Dent. J.**, London, v. 1, p. 357-360, 1962.
- PERCIVAL, R. S.; CHALLACOMBE, S. J.; MARSH, P. D. Age-related microbiological changes in the salivary and plaque microflora of healthy adults. **J. Med. Microbiol.**, Edinburgh, v. 35, no. 1, p. 5-11, July 1991.
- PAROLO, C.C.F. **Estudo dos lactobacilos no biofilme dental**. 2009. 96f. Tese (Doutorado em Clínica Odontológica) - Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- PILOTTO, A. et al. Clinical Features of Reflux Esophagitis in Older People: A Study of 840 Consecutive Patients. **JAGS.**, New York, v. 54, no. 10, p.1537–1542, Oct. 2006.
- PRADEEP, S.A.; NANDAKUMAR, K.; SHENOY, K.T. Are dental plaque, poor oral hygiene, and periodontal disease associated with *Helicobacter pylori* Infection? **J. Periodontol.**, Chicago, v. 77, no. 4, p. 692–698, Apr. 2006.

- ROCHA, E. P. et al. Longitudinal study of the influence of removable partial denture and chemical control on the levels of *Streptococcus mutans* in saliva. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 30, no. 2, p. 131-138, Feb. 2003.
- ROSSI-AGUIAR, S.V.P. et al. Oral cavity is not a reservoir for *Helicobacter pylori* in infected patients with functional dyspepsia. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v. 24, no. 3, p. 255–259, June 2009.
- RYU, M. et al. Oral environmental factors affecting number of microbes in saliva of complete denture wearers. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 37, no. 3, p. 194-201, Mar. 2010.
- SUMI, H. et al. Colonization of denture plaque by respiratory pathogens in dependent elderly. **Gerodontology.**, Oxford, v. 19, no. 1, p. 25-29, July 2002.
- SANTOS, P.P.A. et al. Saliva: Métodos atuais para coleta e obtenção da amostra. **Rev. Fac. Odontol.**, Porto Alegre, v. 48, n. 1/3, p. 95–98, 2007.
- SHAY, K. Denture hygiene: a review and update. **J. Contemp. Dent. Pract.**, Cincinnati, v. 1, no. 2, p. 28-41, Feb. 2000.
- SILVA, M.A. et al. Gastroesophageal reflux disease: new oral findings. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* **Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 91, no. 3, p. 301–310, Mar. 2001.
- SILVA, R.J.; SEIXAS, Z.A. Materiais e métodos de higienização para próteses removíveis. **Int. J. Dent.**, Recife, v.7, n.2, p. 125-132, abr./ jun. 2008.
- TANNER, A.C. et al. The microbiota of young children from tooth and tongue samples. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 81, no. 1, p. 53–57, Jan. 2002.
- UREÑA, J.L. **Microbiologia Oral**. Madrid, 2ª ed., McGraw Hill Interamericana de España, 2002, p. 103–571.
- VAKIL, N.; VAN ZANTEN, S.V.; KAHRILAS, P. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. **Am. J. Gastroenterol.**, New York, v. 101, no. 8, p. 1900–1920, Aug. 2006.
- YOSHIKAWA, H. et al. Oral symptoms including dental erosion in gastroesophageal reflux disease are associated with decreased salivary flow volume and swallowing function. **J. Gastroenterol.**, Tokyo, v.47, no.4, p. 412-420, Apr. 2012.

APÊNDICE A - CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

COMISSÃO CIENTÍFICA E COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

A Comissão Científica e o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (CEP/HCPA), que é reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS e pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB00000921) analisaram o projeto:

Projeto: 110269

Data da Versão do Projeto: 23/05/2011

Data da Versão do TCLE: 07/07/2011

Pesquisadores:

BETINA SCHEEREN

DANIELA MAFFEI BOTEGA

CRISTIANE MACHADO MENGATTO

Título: Microbiota oral acidofílica associada ao uso de prótese em pacientes com doença do refluxo gastroesofágico.

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos, bem como o respectivo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com as diretrizes e normas nacionais e internacionais de pesquisa clínica, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.

- Os membros da Comissão Científica e do Comitê de Ética em Pesquisa não participaram do processo de avaliação dos projetos nos quais constam como pesquisadores.
- Toda e qualquer alteração do projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente ao CEP/HCPA.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao CEP/HCPA.
- Somente poderá ser utilizado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido no qual conste o carimbo de aprovação do CEP/HCPA.

Porto Alegre, 12 de julho de 2011.

Profª Nadine Clausell
Coordenadora GPPG e CEP/HCPA

APÊNDICE B – TERMOS DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Microbiota oral associada a doença do refluxo gastroesofágico

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Controles - Acompanhantes

Título da Pesquisa: *Microbiota oral acidofílica associada ao uso de prótese em pacientes com doença do refluxo gastroesofágico.*

Pesquisadores envolvidos

Prof^a. Dr^a. Cristiane Machado Mengatto (professora responsável pelo projeto da Faculdade de Odontologia UFRGS) – aplicará o TCLE

Prof. Dra. Clarissa Parolo (colaboradora Odontologia)

Prof. Dr. Sérgio G. S. Barros (professor responsável pelo projeto da Faculdade de Medicina UFRGS)

Leonardo Scherer (aluno de Iniciação Científica da Odontologia)

Justificativa

Algumas pessoas apresentam sensações de azia, refluxo, regurgitação, características da doença de refluxo gástrico, a qual vem sendo correlacionada com bactérias orais e estomacais que vivem em meio ácido. Algumas pessoas também podem possuir a presença dessas bactérias na cavidade oral, estando depositada na placa dentária da dentadura e ser uma porta de entrada para o estômago, como também um possível reservatório e fonte de reinfecção do estômago, dos dentes ou da dentadura. A saliva ácida e a presença destas bactérias ácidas na dentadura podem estar relacionadas à estomatite protética, um tipo de infecção e inflamação no céu da boca relacionada à higienização das próteses. Se for confirmado que estas bactérias estão mais frequentes nos pacientes com refluxo, medidas adicionais de desinfecção deverão ser estabelecidas para controle deste microorganismos na prótese dentária, para reduzir o risco de estomatite protética nos pacientes com refluxo.

Objetivos

Esta pesquisa será realizada para verificar se pessoas que fazem o uso de prótese total e que tenham doença do refluxo podem ter um pH mais ácido na cavidade oral do que pacientes saudáveis, podendo aumentar a presença das bactérias e fungos na cavidade oral, os quais vem sendo correlacionadas à doença do refluxo e à estomatite protética.

Procedimentos

Para atingir tais objetivos, necessitamos contar com sua participação, como um controle negativo para o estudo, ou seja, um voluntário que não tem sintomas e sinais de problema gástrico e que não procurou atendimento no HCPA por problemas gástricos. Desta maneira, para ser selecionado, você deverá possuir dentadura superior ou deverá possuir mais do que 24 dentes na boca, além de outros critérios de inclusão e exclusão determinados pelos pesquisadores. Se você for selecionado e aceitar participar desta pesquisa, você irá responder a alguns questionários em papel sobre sua situação gástrica tempo de preenchimento estimado: 10 minutos) e será examinado por um cirurgião-dentista participante desta pesquisa (antes da consulta agendada pelo médico da pessoa que você acompanha). Logo após ter respondido aos questionários da pesquisa, você será chamado em uma sala reservada de atendimento no próprio Ambulatório de Gastroenterologia, previamente à sua consulta médica, para breve consulta odontológica, que durará em torno de 5 a 8 minutos. Durante esta consulta, os pesquisadores irão avaliar seus dentes com uso de um pequeno espelho clínico e luz, avaliar a presença de lesões na mucosa oral e contar o número total de dentes restantes para confirmar se você poderá fazer parte do estudo. No caso de não possuir dentes, será solicitado que remova suas dentaduras para que sejam lavadas com água para coleta de material bacteriano que esteja aderido na mesma com uso de um cotonete. Também será solicitado que você colete saliva em um tubinho plástico. Os pesquisadores também solicitarão que você realize um bochecho com água, e irão coletar material microbiológico de alguns sítios da sua cavidade oral com uso de um cotonete de algodão. Tais coletas não geram nenhum tipo de dor ou desconforto. Ao final das coletas, você terá uma avaliação da condição geral de seus dentes ou dentadura. Se os pesquisadores encontrarem necessidade tratamento odontológico, você será devidamente orientado a procurar tratamento odontológico particular ou a procurar o serviço de triagem de pacientes da Faculdade de Odontologia da UFRGS para poder participar dos atendimentos clínicos comumente executados pelos alunos de graduação, através da lista de seleção. Você será abordado antes do exame médico para o qual a pessoa que você acompanha compareceu neste ambulatório de Gastroenterologia, não precisando comparecer nenhum outro dia apenas para a pesquisa. Participar da pesquisa não irá interferir u exigir consulta médica e quaisquer exames complementares de indicação médica (teste de impedância, PHmetria, endoscopia etc).

Benefícios e Métodos Alternativos

Não há benefícios diretos ou prejuízos em você participar desta pesquisa, exceto que você receberá um exame odontológico de sua saúde bucal e será orientado caso precise do serviço de atendimento de pacientes da Faculdade de Odontologia da UFRGS, para poder participar dos atendimentos clínicos comumente executados pelos alunos de graduação, através da lista de seleção. Não existem métodos alternativos descritos para as análises.

3

Comitê de Ética em Pesquisa
GPPG/HCPA

VERSÃO APROVADA

12 / 07 / 2011

11-0269



Desconfortos e Riscos

O desconforto esperado em participar desta pesquisa será dispôr de seu tempo durante a espera de sua consulta médica para responder aos questionário e ser examinado posteriormente, conforme já descrito antes, que lhe tomará um tempo total aproximado de 15 a 18 minutos, o que não interferirá em momento algum com sua consulta médica. A coleta de material não provocará dor já que consta apenas de um esfregaço de cotonete na cavidade bucal. Durante o exame, você será solicitado a remover suas próteses em uma sala fechada estando na presença apenas dos pesquisadores, a fim de reduzir constrangimentos. A sua participação neste estudo não oferece nenhum tipo de risco e desconforto adicional para a sua saúde, além dos esperados acima mencionados.

Forma de Acompanhamento e Garantia de Esclarecimento

Você será acompanhado durante toda a pesquisa e qualquer problema observado deverá ser relatado ao coordenados da mesma. Você tem a garantia de que receberá respostas a qualquer pergunta, ou esclarecimento a qualquer dúvida relacionada à pesquisa. Os pesquisadores envolvidos assumem o compromisso de proporcionar toda a informação obtida, e acompanharão e assistirão todos os voluntários a qualquer momento durante a mesma.

Grupo Placebo ou Controle

O grupo controle será constituído pelos acompanhantes dos pacientes que procuram atendimento no Ambulatório de Gastroenterologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, e pacientes que não possuam sinais e sintomas de refluxo. O grupo controle não terá que fazer nenhum tipo de exame gástrico ou consulta médica adicional por participar da pesquisa. Apenas responderá aos questionários, passará pelo exame odontológico e terá seu peso e altura medidos.

Liberdade de Recusar a Participar

Você tem a liberdade de se recusar a participar do estudo e também poderá se retirar do mesmo durante qualquer tempo. Caso você se recuse a participar ou se retire da pesquisa por qualquer motivo, você não sofrerá qualquer tipo de prejuízo, bem como isto não afetará qualquer atendimento médico-odontológico na Faculdade de Odontologia da UFRGS ou no Hospital de Clínicas – HCPA-UFRGS.

Garantia de Sigilo

Os pesquisadores responsáveis se comprometem a resguardar todas as informações da pesquisa, não revelando a identidade do voluntário que as originou.

Formas de Ressarcimento

Não haverá gastos referentes à sua participação nesta pesquisa.

Eu, _____ certifico que tendo lido e entendido todas as informações acima, estou de acordo com a realização do estudo e aceito participar do mesmo como voluntário.

Porto Alegre, ____ de _____ de 2011

Nome do voluntário

Assinatura do voluntário

Profa. Dra. Cristiane Mengatto
(aplicadora do TCLE)

Nome da testemunha

Assinatura da testemunha

1ª via: Instituição (Faculdade de Odontologia - UFRGS)

2ª via: Voluntário

OBS: A sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Em caso de dúvida quanto aos seus direitos, escreva para Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS.

Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA - CEP/ HCPA tel: (51) 3359 7640 e 3359 8000 - Rua Ramiro Barcelos, 2350, Porto Alegre – RS.

Endereço da Faculdade de Odontologia UFRGS: Rua Ramiro Barcelos, 2492. Porto Alegre/RS. Telefones para contato com o pesquisador responsável (Dra. Cristiane Mengatto): (51) 9991 4176 ou (51) 3308 5192

Comitê de Ética em Pesquisa
GPPG/HCPA
VERSÃO APROVADA
12 / 07 / 2011
11-0269