



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM PROCESSOS INTERATIVOS DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS**

MARIANA CEDRAZ DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE BIOFILME SUBGENGIVAL DE
PUÉRPERAS E SUA RELAÇÃO COM O NASCIMENTO DE BEBÊS
COM BAIXO PESO**

Salvador
2013

MARIANA CEDRAZ DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE BIOFILME SUBGENGIVAL DE
PUÉRPERAS E SUA RELAÇÃO COM O NASCIMENTO DE BEBÊS
COM BAIXO PESO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do grau de mestre em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.

Orientador: Prof. Dr. Roberto José Meyer
Co-orientadora: Profa. Dra. Soraya Castro Trindade

Salvador
2013

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Universitária de Saúde, SIBI - UFBA.

O48 Oliveira, Mariana Cedraz de
Avaliação microbiológica de biofilme subgengival de puérperas e sua relação com o nascimento de bebês com baixo peso / Mariana Cedraz de Oliveira. – Salvador, 2013.

95 f.

Orientador: Prof. Dr. Roberto José Meyer.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia.
Instituto de Ciências da Saúde, 2013.

1. Periodontia. 2. Crianças. 3. Saúde. 4. Recém-nascido. I. Meyer, Roberto José. II. Universidade Federal da Bahia. III. Título.

CDU 616.314.17-002

MARIANA CEDRAZ DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE BIOFILME SUBGENGIVAL DE
PUÉRPERAS E SUA RELAÇÃO COM O NASCIMENTO DE BEBÊS
COM BAIXO PESO**

Dissertação submetida ao exame de defesa, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Universidade Federal da Bahia.

Banca Examinadora

Roberto José Meyer (Orientador) _____

Doutor em Imunologia pela Universidade Federal da Bahia

Professor Titular do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia

Soraya Berti Couto (Examinador externo) _____

Doutora em Estomatologia pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Professora Assistente da Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Viviane Almeida Sarmiento (Examinador interno) _____

Doutora em Odontologia pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Professora Associada da Universidade Federal da Bahia

Salvador, 2 de dezembro de 2013.

À minha família, meu bem maior. Por quem sigo e que me dá forças
para seguir – sempre em frente, passo a passo à eternidade.

AGRADECIMENTOS

Aos meus familiares (mãe, pai, irmãos, madrasta, padrasto, namorado, felinas), pela cumplicidade, incentivo e por estarem ao meu lado neste e em outros desafios dessa ainda-não-tão-longa estrada;

Aos amigos e amigas queridos, pelo carinho e confiança;

Aos mestres queridos, todos aqueles que, de alguma forma, foram especiais na minha formação – acadêmica, cidadã e humana;

Ao Prof. Roberto Meyer, pela orientação e oportunidade de desenvolver esse trabalho;

À minha co-orientadora Prof. Soraya Trindade, pelo cuidado inestimável, confiança e ensinamentos mil;

Aos colegas de mestrado, sobretudo minhas queridas companheiras de equipe, por compartilhar os sabores e dissabores desta jornada;

Ao Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular (LABIMUNO) – UFBA – e grupo de pesquisa, especialmente Paulo e Prof. Márcia, pelo cuidado, apoio e conselhos;

Ao Núcleo de Pesquisa Prática Integrada e Investigação Multidisciplinar (NUPPIIM) – UEFS, especialmente aos alunos de graduação e toda a equipe envolvida no Projeto Gera Vida;

Ao Laboratório de Biologia Molecular do Hospital Universitário Professor Edgar Santos (HUPES) – UFBA, especialmente ao Prof. Andreas, a Mila, Diana, Bel e Breno, pelo apoio fundamental, pelos conhecimentos e por tornar todas as manhãs de PCRs e geis de agarose tão mais leves e cheias de risos;

A todas as puérperas participantes da pesquisa que, mesmo em momento tão delicado, se dispuseram a contribuir com o estudo – o meu agradecimento mais que especial;

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste estudo.

OLIVEIRA, Mariana Cedraz de. *Avaliação microbiológica de biofilme subgengival de puérperas e sua relação com o nascimento de bebês com baixo peso*. 95 f. 2013. Dissertação (Mestrado em Processos Interativos de Órgãos e Sistemas) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

RESUMO

O nascimento de crianças com baixo peso representa um grave problema de saúde pública, pois se configura num importante preditor de morbimortalidade infantil e a periodontite tem sido apontada como um provável fator de risco para esta ocorrência. O conhecimento dos mecanismos biológicos envolvidos no desfecho gestacional e na doença periodontal é fundamental para se determinar qual a plausibilidade da associação entre eles para possíveis intervenções na saúde pública. **Objetivo:** Estudar a associação entre a presença de bactérias periodontopatogênicas no biofilme subgengival de puérperas e o nascimento de bebês com peso inferior a 2500g. **Metodologia:** O estudo possui caráter observacional, transversal, aninhado a um estudo do tipo caso-controle, em que o grupo teste (A) foi constituído por mães de crianças nascidas com peso inferior a 2500g e o grupo controle (B), por mães de recém-nascidos do mesmo hospital, com peso igual ou superior a 2500g. As puérperas, cujos partos foram realizados no Hospital da Mulher, em Feira de Santana, Bahia, foram convidadas a responder, mediante anamnese dirigida, um questionário semiestruturado englobando dados sociodemográficos, aspectos da história gestacional, aspectos relacionados à saúde geral e bucal. Após a entrevista, foi realizado um exame periodontal completo e as amostras de biofilme foram coletadas em seis diferentes sítios da boca. As puérperas foram também divididas considerando a presença e ausência de periodontite (grupos CP e SP, respectivamente) para uma melhor compreensão sobre as suas condições de infecção bucal. A análise da presença dos periodontopatógenos *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* e *Prevotella intermedia* foi realizada por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Efetuou-se a análise de distribuição da variável principal e de todas as covariáveis consideradas, sendo a análise do estudo constituída basicamente por uma comparação da frequência das bactérias entre o grupo-teste e grupo-controle. Para análise estatística, foi empregado o teste Qui-quadrado de Pearson; as *odds ratio* (OR) e os intervalos de confiança foram obtidos por meio do teste de Mantel-Haenszel. **Resultados:** Foram avaliadas 303 puérperas, das quais 79 (26,1%) pertenceram ao grupo-teste e 224 (73,9%), ao grupo-controle. Os grupos apresentaram homogeneidade na maioria dos aspectos avaliados. Foram observadas diferenças estatisticamente significantes para a idade das participantes, IMC (Índice de Massa Corporal) e histórico de gestações anteriores com nascimento de bebês com baixo peso. O grupo A teve maior frequência de periodontite (33,34%) do que o grupo B (16,22) e estes não apresentaram diferenças quanto aos aspectos relacionados à saúde bucal. Foi observada uma alta frequência de detecção positiva dos periodontopatógenos no biofilme subgengival em ambos os grupos. A presença de *P. gingivalis* e *P. intermedia* foi detectada com maior frequência entre as mulheres com periodontite (74,19% e 88,7%, respectivamente). **Conclusão:** Na amostra estudada, a presença dos periodontopatógenos em puérperas não levou à ocorrência de nascimentos de bebês com peso inferior a 2500g.

Palavras-chave: Periodontite. Recém-nascido de baixo peso. *Porphyromonas gingivalis*. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Treponema denticola*. *Tannerella Forsythia*. *Prevotella intermedia*.

OLIVEIRA, Mariana Cedraz de. *Microbiological evaluation of subgingival biofilm of puerperal and its relationship with the birth of babies with low birth weight*. 95 s. 2013. Thesis (Master) - Institute of Health Sciences, Federal University of Bahia, Salvador.

ABSTRACT

The birth of underweight children is a serious public health problem because it sets an important predictor of infant mortality and periodontitis has been identified as a probable risk factor for this occurrence. Knowledge of the biological mechanisms involved in the pregnancy outcome and periodontal disease is essential to determine the plausibility of association between them for possible public health interventions. **Objective:** To study the association between the presence of periodontopathogenic bacteria in subgingival biofilm of postpartum women and the birth of babies weighing less than 2500g. **Methodology:** The study of an observational and cross-sectional nature, related to a case-control type study in the test group (A) consisted of mothers of children born weighing less than 2500g and the control group (B), for mothers of newborns born in the same hospital, weighing 2500g or more. Postpartum women whose deliveries were performed at Women's Hospital in Feira de Santana, Bahia, were invited to answer through anamnesis, a semi-structured questionnaire covering sociodemographic data, aspects of gestational history, aspects related to general and oral health. After the interview, a complete periodontal examination and biofilm samples were collected at six different sites in the mouth was performed. Mothers were also divided considering the presence and absence of periodontitis (CP and SP groups, respectively) for a better understanding of their conditions of oral infection. Analysis of the presence of periodontal pathogens *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, and *Prevotella intermedia* was performed by Polymerase Chain Reaction (PCR). The analysis of distribution was performed of main variable and all covariates considered distribution, and analysis of the study consisted primarily of a comparison of the frequency of bacteria between the experiment and control groups. Statistical analysis was performed using Pearson's Chi-square test; the *odds ratio* (OR) and confidence intervals were obtained by means of Mantel-Haenszel test. **Results:** 303 women were studied, of which 79 (26.1%) belonged to the test group and 224 (73.9%) to the control group. The groups were homogeneous in most aspects evaluated. Statistically significant differences for the participants' age were assessed; BMI (Body Mass Index) and history of previous pregnancies with low weight birth babies were observed. Group A had a higher frequency of periodontitis (33.34%) than group B (16,22) and these did not show differences regarding aspects related to oral health. A high frequency of positive detection of periodontal pathogens in subgingival biofilm in both groups was observed. The presence of *P. gingivalis* and *P. intermedia* was detected more frequently among women with periodontitis (74.19% and 88.7%, respectively). **Conclusion:** In this sample, the presence of periodontal pathogens in postpartum women has not led to the occurrence of births of babies weighing less than 2500g.

Keywords: Periodontitis; Low Birth Weight Newborn. *Porphyromonas gingivalis*. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Treponema denticola*. *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Possíveis vias ou mecanismos biológicos associando a doença periodontal e complicações na gravidez	35
Quadro 1	Nomenclatura, sequência, temperatura de anelamento e tamanho dos amplicons produzidos dos pares de <i>primers</i> espécie-específicos para PCR	47
Quadro 2	Valores utilizados para preparo do master mix das reações de PCR para <i>P. gingivalis</i> , <i>A. actinomycetemcomitans</i> , <i>T. denticola</i> e <i>P. intermedia</i>	47
Quadro 3	Valores utilizados para preparo do master mix das reações de PCR para <i>T. forsythia</i>	48
Figura 2	Amplificação por PCR de <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> utilizando <i>primers</i> específicos	49
Figura 3	Amplificação por PCR de <i>Porphyromonas gingivalis</i> utilizando <i>primers</i> específicos	49
Figura 4	Amplificação por PCR de <i>Treponema denticola</i> utilizando <i>primers</i> específicos	50
Figura 5	Amplificação por PCR de <i>Prevotella intermedia</i> utilizando <i>primers</i> específicos	50
Figura 6	Amplificação por PCR de <i>Tannerella forsythia</i> utilizando <i>primers</i> específicos	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Aspectos sociodemográficos dos grupos de mães de recém-nascidos com peso < 2500g (GRUPO A) e de mães de recém-nascidos com peso ≥ 2500g (GRUPO B). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2013 (n=303)	56
Tabela 2	Aspectos relacionados à saúde bucal dos grupos de mães de recém-nascidos com peso <2500g (GRUPO A) e de mães de recém-nascidos com peso ≥ 2500g (GRUPO B). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2013 (n=303)	58
Tabela 3	Frequências dos cinco periodontopatógenos nas amostras de biofilme subgingival, detectados através de PCR, entre os grupos de mães de recém-nascidos com peso < 2500g (GRUPO A) e de mães de recém-nascidos com peso ≥ 2500g (GRUPO B). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2013 (n=303)	59
Tabela 4	Frequências dos cinco periodontopatógenos nas amostras de biofilme subgingival, detectados através de PCR, entre os grupos de puérperas classificadas sem periodontite (GRUPO SP) e com periodontite (GRUPO CP). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2013 (n=300)	61

LISTA DE ABREVIATURAS, NOTAÇÕES E SIGLAS

AA	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
AIG	Adequado para a idade gestacional
CEP	Comitê de ética em pesquisa
CIUR	Crescimento intrauterino restrito
CP	Com periodontite
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Doença periodontal
FNT- α	Fator de necrose tumoral alfa
GIG	Grande para a idade gestacional
HLA-C	Antígeno leucocitário humano C
HLA-E	Antígeno leucocitário humano E
HLA-G	Antígeno leucocitário humano G
IG	Idade gestacional
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IMC	Índice de massa corporal
NK	<i>Natural killer</i>
LPS	Lipopolissacarídeo
OMS	Organização Mundial de Saúde
OR	<i>Odds ratio</i>
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PG	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
PGE2	Prostaglandina E2
PI	<i>Prevotella intermedia</i>
PIG	Pequeno para a idade gestacional
qPCR	Reação em cadeia da polimerase quantitativa
SP	Sem periodontite
TD	<i>Treponema denticola</i>
TF	<i>Tannerella forsythia</i>
Th1	T-helper 1
UEFS	Universidade Estadual de Feira de Santana

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1	ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DA DOENÇA PERIODONTAL	18
2.2	PERÍODO GESTACIONAL: MUDANÇAS FISIOLÓGICAS E BUCAIS	23
2.3	FATORES DE RISCO ASSOCIADOS AOS DESFECHOS GESTACIONAIS INDESEJADOS	27
2.4	ALTERAÇÕES PERIODONTAIS E COMPLICAÇÕES GESTACIONAIS	31
3	OBJETIVOS	38
3.1	OBJETIVO GERAL	39
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39
4	METODOLOGIA	40
4.1	DESENHO DO ESTUDO	41
4.2	PROCEDIMENTO DE AMOSTRAGEM	41
4.3	COLETA DE DADOS	42
4.3.1	Exame periodontal	42
4.3.1.1	Profundidade de sondagem	43
4.3.1.2	Índice de recessão/hiperplasia	43
4.3.1.3	Nível de inserção clínica	43
4.3.1.4	Índice de sangramento à sondagem	44
4.3.2	Coleta de biofilme subgingival	44
4.4	DIAGNÓSTICO DA DOENÇA PERIODONTAL E AVALIAÇÃO DO BAIXO PESO AO NASCER	44
4.5	AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA	45
4.5.1	Extração de DNA bacteriano das amostras	45
4.5.2	Reação em cadeia da polimerase (PCR)	46
4.5.2.1	Seleção dos <i>primers</i>	46
4.5.2.2	Preparação de Master Mix e condições da amplificação por PCR	47
4.5.3	Detecção dos produtos de PCR por eletroforese em gel de agarose	48
4.6	DESCRIÇÃO DAS VARIÁVEIS	51
4.6.1	Variável dependente	51
4.6.2	Variáveis independentes	51
4.6.3	Covariáveis	51
4.6.3.1	Sociodemográficas	52
4.6.3.2	História gestacional e condições pré-existentes	52
4.6.3.3	Aspectos relacionados à saúde bucal	52

4.7	ANÁLISE DOS DADOS	53
4.8	ASPECTOS ÉTICOS	53
5	RESULTADOS	55
6	DISCUSSÃO DOS DADOS	62
7	CONCLUSÃO	69
	REFERÊNCIAS	71
	APÊNDICES	85
	APÊNDICE A – Questionário	86
	APÊNDICE B – Ficha de coleta de dados clínicos	89
	APÊNDICE C - Protocolo para purificação de DNA de pellets das bactérias. Gram- negativas (PureLink™ Genomic DNA Mini Kit – Invitrogen)	90
	APÊNDICE D – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	92
	ANEXO	94
	ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-UEFS)	95

1 INTRODUÇÃO

As doenças periodontais representam um dos principais problemas de saúde bucal em todo o mundo. (JIN et al., 2011) Consistem em um processo inflamatório no tecido periodontal, resultante do acúmulo de biofilme bacteriano na superfície dentária, sendo a sua ocorrência associada a condições socioeconômicas desfavoráveis, comportamentos prejudiciais à saúde como tabagismo, alcoolismo, dieta insatisfatória, higiene bucal deficiente e dificuldade de acesso aos serviços de saúde. (GROSSI et al., 1995; WANDERA et al., 2012; VAN DYKE; VAN WINKELHOFF, 2013) A expressiva prevalência na população e o potencial para desencadear graves repercussões à distância no organismo tornam as doenças periodontais um relevante problema de saúde pública. A periodontite grave, que pode resultar em perda dentária, é encontrada em 5-20% da maioria das populações adultas em todo o mundo (PETERSEN et al., 2005), embora o complexo de fatores que participam da sua determinação e a diversidade de métodos de diagnóstico contribuam para que sua frequência tenha grande variação nas diversas regiões. (GOMES-FILHO et al., 2006)

Nos últimos anos, foram realizados estudos que investigaram a possível correlação entre a presença de doenças periodontais e alterações sistêmicas, como desordens cardiovasculares, diabetes *mellitus*, osteoporose, infecções no trato respiratório, parto prematuro e baixo peso ao nascer, o que propiciou o surgimento de uma nova área de pesquisa comumente chamada de Medicina Periodontal ou Periodontia Médica. (BRUNETTI; MORAES; MORAIS, 2007; SEYMOUR et al., 2007) Ainda que as alterações periodontais sejam bastante prevalentes na população, elas podem ser observadas com mais frequência em algumas situações, como no período gestacional. O grande aumento dos níveis hormonais na gravidez ocasiona mudanças fisiológicas importantes no organismo da mulher, inclusive afetando o periodonto e levando à exacerbação ou ao estabelecimento de gengivites ou periodontites. (GÜNCÜ; TÖZÜM; ÇAGLAYAN, 2005) A gestante torna-se mais sensível a algumas infecções, como as do trato genitourinário, que estão associadas a um aumento no risco de complicações gestacionais. (HILLIER et al., 1995; MILANEZ, 2005; PRETORIUS; JAGATT; LAMONT, 2007)

A partir dos anos 90, começaram a surgir evidências de associação entre alterações periodontais maternas e desfechos gestacionais indesejados, tais como prematuridade e baixo peso ao nascer. (COLLINS et al., 1994a, 1994b; OFFENBACHER et al., 1996; OFFENBACHER et al., 1998; DASANAYAKE, 1998; DAVENPORT et al., 1998) Segundo Davenport (2010), a periodontite não difere de nenhuma outra infecção em seus desfechos, sendo plausível que bactérias orais possam contribuir para desfechos adversos na gestação. Muitos estudos observaram a presença de associação entre a periodontite em gestantes e a

ocorrência dos referidos desfechos, a qual se manteve mesmo quando foram controlados diversos fatores que contribuem para ambas as condições. (CRUZ et al., 2005, GAZOLLA et al., 2007; GOMES-FILHO et al., 2009; CHAMBRONE et al., 2011; KUMAR et al., 2013) Entretanto, a despeito disso, essa questão permanece obscura, uma vez que outras investigações não encontraram evidências dessa associação, o que permite classificar a temática como ainda bastante controversa. (MOORE; RANDAHAWA; IDE, 2005; LUNARDELLI; PERES, 2005; MOREU; TÉLLEZ; GONZÁLEZ-JARANAY, 2005; MICHALOWICZ et al., 2006) A falta de consenso quanto à existência ou relevância de tal associação pode ser atribuída principalmente a variações nas populações avaliadas, à presença de potenciais fatores confundidores e a variações na definição de periodontite nos diferentes estudos. (IDE; PAPAPANOU, 2013)

A condição clínico-periodontal e bacteriológica da gestante, assim como os perfis imunológicos relacionados com a doença periodontal, são apontados como fatores de risco na relação com os desfechos gestacionais adversos. Tendo em vista que a prematuridade e/ou baixo peso ao nascer representam importantes preditores de morbimortalidade infantil em todo o mundo (DAVENPORT, 2010) e que não vêm apresentando tendência de redução, destaca-se a necessidade do estudo dos possíveis fatores de risco envolvidos para possibilitar o desenvolvimento de estratégias de prevenção efetivas. Dentre os fatores de risco apontados por estudos recentes, tem-se discutido o papel do biofilme subgengival. De acordo com Brunetti e colaboradores (2004), é possível que a infecção periodontal, representada por um desafio anaeróbio gram-negativo, possa servir como um reservatório crônico para transferência de bactérias ou produtos bacterianos, como lipopolissacarídeos (LPS), para a unidade fetoplacentária. Tendo em vista a necessidade da realização de mais estudos que avaliem a relação entre a infecção periodontal e os desfechos gestacionais indesejados, esta investigação objetiva avaliar a associação entre a presença de bactérias periodontopatogênicas no biofilme subgengival e a ocorrência de nascimento de bebês com peso inferior a 2500g.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Nesta seção, serão abordados quatro aspectos da doença periodontal e sua relação com a gestação.

2.1 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DA DOENÇA PERIODONTAL

Embora a doença periodontal seja relatada e conhecida há milênios, somente no final do século XIX passou-se a conjecturar que micro-organismos pudessem participar da sua etiologia. Na década de 1960, acreditava-se que o acúmulo de qualquer tipo de placa bacteriana sobre os dentes poderia resultar em cárie ou doença periodontal, dependendo somente da quantidade e da sua localização - “hipótese da placa inespecífica”. (LORENZO; MAYER, 2004) Durante os anos 70 e 80, foi estabelecido que as doenças periodontais têm natureza infecciosa e que micro-organismos específicos estavam relacionados ao desenvolvimento da gengivite e periodontite, surgindo então a “teoria da especificidade da placa”. (MARTINS; MARTINS, 2007)

Apesar de a placa subgengival ter estrutura semelhante à supragengival, particularmente com respeito à placa associada à gengivite sem a formação de bolsas profundas, as condições ecológicas e os fatores que guiam o desenvolvimento dos biofilmes supra e subgengival são diferentes, devido em grande parte à sua localização. O biofilme subgengival se beneficia da proteção oferecida pela sua localização, visto que os tecidos periodontais o protegem das condições adversas encontradas no ambiente supragengival. (LANG; MOMBELLI; ATTSTRÖM, 2005; WEIDLICH, 2007)

O microambiente subgengival é decisivamente influenciado pelo fluido sulcular gengival. Ainda que este exerça função primária na defesa local, o desenvolvimento da microbiota periodontal, cujo metabolismo é predominantemente proteolítico, depende ou é estimulado por biofatores presentes no fluido, como proteínas, hemina, menadiona e hormônios. Além disso, também são extremamente favorecidas por constituintes presentes no biofilme dental maduro, uma vez que outras espécies bacterianas produzem fatores indispensáveis ao crescimento de muitas delas. Assim sendo, um dos sérios riscos do acúmulo da placa bacteriana é favorecer o desenvolvimento de espécies patogênicas pela cadeia alimentar. (LORENZO; MAYER, 2004)

Geralmente, a microbiota bucal está em harmonia e equilíbrio com o hospedeiro, sendo a formação do biofilme dental um processo natural e que contribui para a integridade fisiológica e imunológica do hospedeiro. (WEIDLICH, 2007) Contudo, se o *habitat* for gravemente alterado, ocorrerá um desequilíbrio desse ecossistema caracterizado pela

supressão das espécies sensíveis e pelo superdesenvolvimento daquelas resistentes – ao que denominamos sucessão bacteriana. Durante o processo de estabelecimento de uma periodontite crônica, ocorrem duas sucessões bacterianas: a primeira se dá na passagem do periodonto normal para a gengivite e a segunda, mais drástica, na passagem desta para a periodontite.

O periodonto sadio apresenta uma microbiota escassa, constituída principalmente pelos colonizadores iniciais da superfície dental e do epitélio sulcular. Numa situação de gengivite induzida por placa, ocorre um aumento virtual da profundidade do sulco gengival, fornecendo uma maior área para colonização bacteriana e aumento da condição de anaerobiose. A maior quantidade de bactérias aumenta a resposta inflamatória defensiva, resultando em maior fluxo de fluido gengival, o que favorece o desenvolvimento de patógenos anaeróbios proteolíticos Gram-negativos. Na periodontite crônica, com a persistência da inflamação e perda de colágeno, o aumento gradativo da profundidade da bolsa favorece a instalação de bactérias, sobretudo das anaeróbias estritas, e há maior afluência de fatores nutritivos através do fluido gengival. O conjunto desses fatores possibilita uma alteração grave na constituição da microbiota subgengival, que passa a ser composta por 90% de espécies anaeróbias estritas. (AVILA-CAMPOS, 2003; LORENZO; MAYER, 2004)

É necessário reconhecer que gengivites e periodontites são doenças com natureza, história natural, epidemiologia e manejo terapêutico distintos, visto que a gengivite está relacionada com o biofilme supragengival e a periodontite, ao subgengival. Contudo, apesar da distinção, o estabelecimento da periodontite é precedido pela gengivite, sendo o biofilme subgengival originado do supragengival, e essa transformação é relevante para o entendimento dos mecanismos patogênicos iniciais das periodontites. Pode-se perceber que já nos momentos iniciais de formação do biofilme supragengival, os mecanismos de defesa do hospedeiro são ativados e a mesma resposta inflamatória, que tem como papel primário proteger o hospedeiro, acaba por criar condições favoráveis para o desenvolvimento do biofilme subgengival e seu potencial patogênico. (WEIDLICH, 2007)

A “chave” das alterações ecológicas na doença periodontal é esta: quanto maior formação de placa, maior será a produção de metabólitos tóxicos (enzimas e toxinas) na região do epitélio não queratinizado do sulco gengival. Em consequência, aumentam a intensidade da inflamação e a elevação da permeabilidade capilar, o que acarreta maior afluência de exsudato gengival, favorecendo o desenvolvimento de patógenos periodontais. (LORENZO; MAYER, 2004) O aumento dessa população resulta em maior elaboração de metabólitos e consequente incremento das respostas inespecífica e específica, gerando

mediadores pró-inflamatórios que contribuem decisivamente para a destruição progressiva e dramática dos tecidos periodontais nos estágios avançados da doença.

A formação do biofilme subgingival parece ser uma adaptação necessária e conveniente que permite a sobrevivência microbiana, mesmo na presença de um sistema de defesa imunocompetente. Em função da sua estrutura, pode ser resistente não somente a antimicrobianos e agentes químicos, mas também a mecanismos de defesa do hospedeiro. (WEIDLICH, 2007) A inflamação periodontal começa como uma resposta protetora contra o biofilme bacteriano, mas, em indivíduos suscetíveis, esta inflamação não consegue ser resolvida e se torna uma patologia periodontal com impacto sistêmico. (VAN DYKE; VAN WINKELHOFF, 2013) Devido ao fato de a maioria das bactérias se restringir ao biofilme e suas proximidades e pela proteção conferida por este, a resposta imunoinflamatória não consegue eliminá-las totalmente, situação que leva à cronicidade do processo.

Tem sido objeto de atenção a possível participação de espécies individuais como fatores de risco para doenças periodontais destrutivas. Entretanto, a doença periodontal não é causada por apenas um micro-organismo e, sim, representa o resultado de uma infecção mista ou polimicrobiana. (MARTINS; MARTINS, 2007) Em 1998, foram descritos por Socransky e colaboradores (1998) cinco complexos microbianos, que se instalam sequencialmente no processo de formação do biofilme dental, visto que a associação bacteriana neste não é aleatória e cada espécie tem seu parceiro de interação. Os colonizadores iniciais seriam representados pelos complexos amarelo, azul, verde e violeta e atuariam fornecendo receptores e criando condições ecológicas para a instalação do complexo laranja, do qual faz parte a *Prevotella intermedia*. Este, por sua vez, precede a instalação do vermelho, aglomerado formado por *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema denticola*, que se apresentam em maior número quando há sinais clínicos de inflamação subgingival e são reconhecidas como os principais micro-organismos envolvidos no processo de destruição periodontal. (TAKEUCHI et al., 2001; LORENZO; MAYER, 2004; WEIDLICH, 2007)

Os critérios para definição de patógenos das doenças periodontais destrutivas incluem associação, eliminação, resposta do hospedeiro, fatores de virulência, estudos em animais e estabelecimento do risco, sendo que a discriminação de um patógeno não se baseia em um único critério. Para um patógeno periodontal causar doença é essencial que ele seja capaz de colonizar a área subgingival e produzir fatores que agridam diretamente o tecido do hospedeiro ou que façam com que o próprio tecido se agrida. Para colonizar os sítios subgingivais, uma espécie deve ser capaz de aderir a uma ou mais superfícies, multiplicar-se,

competir com sucesso contra outras espécies que desejam o mesmo local e defender-se dos mecanismos de defesa do hospedeiro. (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005)

As bactérias encontradas no biofilme subgengival apresentam uma grande variedade de fatores de virulência, a saber: fatores de colonização, como as fímbrias; locomoção e/ou invasão tecidual; produção de moléculas com ação antibacteriana, como o pigmento negro produzido por *Porphyromonas* spp. e espécies de *Prevotella* que têm atividade contra *Streptococcus mutans*; produção de enzimas histolíticas, como proteases, fosfolipase A, fosfatases alcalina e ácida, hialuronidase e condroitinsulfatas; produtos metabólicos tóxicos, como hemolisinas, epiteliotoxinas, fator inibidor da proliferação de fibroblastos, peptidoglicanos, toxina indutora de reabsorção óssea, catabólitos da fermentação e proteólise e endotoxinas (LPS). As endotoxinas são constituintes do envelope externo das bactérias Gram-negativas e são liberadas nas vesículas de alguns patógenos ou quando a célula bacteriana sofre lise, podendo ativar vias alternativas do sistema complemento, levando à inflamação e reabsorção óssea, bem como estimular a produção de mediadores inflamatórios (prostaglandinas e citocinas). Podem-se citar também os fatores de evasão das defesas do hospedeiro, como a produção de fibrinolizina, localização intracelular, inibição da atividade de leucócitos polimorfonucleares e produção de fatores de depressão ou supressão imunológica. (LORENZO; MAYER, 2004; LOTUFO; PANNUTI, 2004)

As doenças periodontais parecem ser causadas por um grupo relativamente definido de patógenos periodontais atuando sozinhos ou em conjunto, que incluem *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (anteriormente *Actinobacillus actinomycetemcomitans*), *Campylobacter rectus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia* (anteriormente *Bacteroides forsythus*), *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Treponema* sp., entre outros. (TAKEUCHI et al., 2001; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005)

Uma das associações mais fortes entre um suspeito patógeno e a doença periodontal destrutiva está relacionada ao *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, que consiste em um bastonete pequeno de terminação arredondada, imóvel, sacarolítico, capnofílico, Gram-negativo, que forma pequenas colônias convexas de centro “estrelado” quando cultivado em ágar-sangue. Embora imóvel, caracteriza-se pela capacidade de interiorizar-se na estrutura gengival, invadindo células epiteliais da gengiva humana, epiteliais bucais e endoteliais vasculares. Informações sugerem que é um provável patógeno da periodontite agressiva, anteriormente conhecida como Periodontite Juvenil Localizada, e tem sido relacionado com as formas adultas da doença periodontal destrutiva, mas o seu papel ainda não foi esclarecido. (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005) A espécie é representada por seis sorotipos (a-f), sendo o

“b” detectado em maior número em lesões periodontais ativas e periodontite agressiva, enquanto o “a” e o “c” têm uma associação mais forte com saúde periodontal. (LORENZO; MAYER, 2004; DUMITRESCU; OHARA, 2010) É o único produtor na cavidade bucal de leucotoxina presente nas suas microvesículas e sintetiza também fatores de depressão ou supressão imunológica - na microbiota bucal, parece ser uma característica única deles, que elabora uma proteína capaz de inibir a síntese de DNA, RNA e proteínas por linfócitos T e a produção de imunoglobulinas por linfócitos B. (LORENZO; MAYER, 2004)

Porphyromonas gingivalis é também considerado um importante patógeno periodontal, sendo caracterizado como bastonete anaeróbico, imóvel, assacarolítico, Gram-negativo, que geralmente exhibe morfologia de cocos ou bastonetes pequenos. É um membro do grupo muito investigado “*Bacteroides* produtores de pigmentos negros”. Membros dessa espécie produzem collagenase, enzimas com ação semelhante à tripsina, proteases (como as gingipaínas, que fornecem a vantagem de usar proteínas de alto peso molecular do hospedeiro no seu metabolismo), fosfatases alcalina e ácida, envolvidas na reabsorção óssea, hemolisinas, que fornecem a grande quantidade de ferro de que a bactéria necessita, endotoxinas, ácidos graxos, NH₃, H₂S, indol, entre outros. Mais frequentemente encontrada nas formas destrutivas da doença, tem sido associada a um risco aumentado de gravidade e progressão da doença periodontal. (LORENZO; MAYER, 2004; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005)

Tannerella forsythia é um bastonete altamente pleomórfico, anaeróbico, fusiforme, Gram-negativo, cujo crescimento demonstrou ser intensificado pela cocultivação com *F. nucleatum*, aparecendo frequentemente com essa espécie em sítios subgingivais. (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005) Produz catabólitos da fermentação e proteólise, que aumentam a permeabilidade do epitélio do sulco gengival e reduzem a síntese local de proteínas como o colágeno, dificultando o reparo do tecido lesado. É encontrado em maior número em sítios de doença periodontal destrutiva, abscessos periodontais e lesões periodontais ativas do que em sítios saudáveis ou com gengivite. (LORENZO; MAYER, 2004; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005)

Recentemente, espécies específicas de espiroquetas têm sido relacionadas com o colapso periodontal e observou-se que *Treponema denticola* é mais comum em sítios com doença periodontal que em sítios saudáveis e na placa subgingival do que supragingival (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005). *T. denticola* produz collagenase, enzima com ação semelhante à tripsina, hialuronidase e condroitinsulfatases, que facilitam sua entrada pela barreira do epitélio e pela invasão no tecido conjuntivo, fibrinolisinase (também relacionada à invasão nos tecidos), hemolisinas, entre outros fatores de virulência. (LORENZO; MAYER,

2004) As espiroquetas são micro-organismos altamente móveis, Gram-negativos, anaeróbicos, helicoidais, comuns em muitas bolsas periodontais. Têm sido claramente implicadas como prováveis agentes etiológicos da gengivite ulcerativa necrosante aguda e se encontram em elevado número nos sítios com aumento de profundidade da bolsa - sítios saudáveis exibem poucas espiroquetas ou nenhuma, sítios com gengivite exibem índices baixos a moderados, enquanto muitas bolsas profundas abrigam grande número desse micro-organismo.

Prevotella intermedia consiste em um bastonete arredondado, anaeróbico estrito, Gram-negativo, fortemente associado à doença periodontal, apresentando-se em níveis particularmente elevados na gengivite ulcerativa necrosante aguda, em certas formas de periodontite e em sítios progressivos de doenças crônicas. Parece apresentar diversas propriedades virulentas exibidas pelo *Porphyromonas gingivalis* e demonstrou induzir infecções mistas quando injetada em animais de laboratório. (LOTUFO; PANNUTI, 2004; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005)

2.2 PERÍODO GESTACIONAL: MUDANÇAS FISIOLÓGICAS E BUCAIS

No período gestacional, o corpo feminino passa por diversas mudanças físicas, hormonais e imunológicas. Uma vez que a gravidez pode ser comparada a um transplante, sendo o feto considerado um organismo “estranho” por possuir metade do material genético herdado do pai, o organismo materno precisa sofrer adaptações para enfrentar este desafio. O sucesso da gravidez depende da adequação do organismo materno às necessidades orgânicas próprias do complexo materno-fetal e do parto. Durante a gestação, ainda que o sistema imune materno esteja ativo e possa até mesmo representar um perigo ao feto, as mães usualmente parecem tolerar mais do que rejeitá-los. Tanto o feto quanto a mãe contribuem para o desenvolvimento e manutenção do útero grávido como um sítio privilegiado imunologicamente e fatores fetais conduzem a mudanças nas respostas imunológicas maternas. (HUNT et al., 2005)

A gestante sofre profundas adaptações anatômicas, fisiológicas e bioquímicas que acontecem no curto espaço de tempo da gravidez, tendo início logo após a fertilização e continuando durante a gestação, desaparecendo rápida e quase por completo após o parto e término da lactação. Todo o organismo materno é envolvido, ocorrendo alterações: endócrinas (placenta, pâncreas, tireoide), do aparelho genital, nas mamas, nos sistemas digestivo, imunológico, metabólico, sistemas urinário, hematológico, cardiovascular, no sistema nervoso

central, sistema respiratório, alterações osteoarticulares, na pele e no estado emocional. (REIS, 1993; FERREIRA; TANURE; FERREIRA, 2011) As exigências da gravidez atingem os limites da capacidade funcional de muitos órgãos maternos, podendo fazer despontar ou até agravar quadros patogênicos. Passa a existir um sistema de comunicação materno-fetal, definindo duas unidades funcionais básicas: a fetoplacentária e parácrina, que funcionam pelo estímulo hormonal. (RUDGE; BORGES; CALDERÓN, 2005) No período gestacional, ocorre um fenômeno denominado “tolerância imunológica”, estado imunológico caracterizado por resposta efetora reduzida ou ausente, do qual são constituintes essenciais: a expressão de moléculas de HLA-G, HLA-E e HLA-C nas células do trofoblasto, o controle da atividade citolítica NK por meio de receptores inibitórios, a expressão de proteínas reguladoras do complemento, a regulação do recrutamento de leucócitos e proliferação celular na interface materno-fetal e a supressão de linfócitos Th1 na decídua. (SARAFANA et al., 2007)

A aceitação materna do feto resulta do isolamento do embrião num ambiente semipermeável. Inicialmente, as alterações se devem às ações hormonais provenientes do corpo lúteo e da placenta e, a partir do segundo trimestre, também ao crescimento uterino. (SARAFANA et al., 2007) A placenta, além dos hormônios proteicos, produz hormônios esteroides em grandes quantidades - a progesterona e os estrógenos, sobretudo, o estriol. Estes exercem função proliferativa sobre a maioria dos órgãos reprodutores da mãe, causando aumento do útero, mamas e genitália externa. Ainda promovem alterações que facilitam a passagem do feto pelo canal de parto. A progesterona diminui a contratilidade do útero grávido, sendo secretada em quantidades moderadas pelo corpo lúteo e em grandes quantidades pela placenta. (RUDGE; BORGES; CALDERÓN, 2005; FERREIRA; TANURE; FERRIRA, 2011)

As variações hormonais influenciam fisiologicamente diversas condições no sexo feminino – puberdade, ciclo menstrual, gestação, climatério - e, da mesma forma, elas também influenciam condições bucais, levando ao estabelecimento ou exacerbação de gengivites, surgimento de granulomas gengivais grávidos e progressão de periodontites pré-existentes. (PASSANEZI; BRUNETTI; SANT’ANA, 2007) A gestante também pode apresentar alterações bucais como salivação excessiva, que normalmente desaparece após o quarto mês, podendo ser intensa e macerar as comissuras labiais – em geral, está associada a náuseas e dificuldade de deglutição; alterações gustativas, com mudança de paladar e hábitos alimentares (FERREIRA; TANURE; FERRIRA, 2011); maior formação de saburra decorrente do antiperistaltismo – o refluxo é facilitado pela diminuição da tonicidade do esfíncter esofágico inferior. (VIEIRA; FALCÃO, 2007) Contudo, segundo Passanezi,

Brunetti e Sant'Ana (2007), quase todas as gestantes apresentarão alterações periodontais, sendo que a gengivite e a periodontite acometem entre 30 a 100% destas mulheres.

Na gravidez, há uma produção elevada de progesterona e estrogênio e no fim do terceiro trimestre esses hormônios alcançam um pico. Essas alterações estão associadas com mudanças na permeabilidade vascular, resultando em edema gengival e aumento do fluido gengival. Geralmente, há o surgimento e/ou aumento da gravidade da gengivite, sendo que mulheres sem gengivite prévia podem apresentar eritema e sangramento gengival e aquelas que já apresentavam gengivite perceberão um aumento na sua gravidade. (GÜRSOY et al., 2008) As alterações inflamatórias gengivais se iniciam por volta do segundo mês e têm aumento no oitavo mês, não parecendo estar relacionadas diretamente com a quantidade de placa presente. A gengivite na gravidez se mostra numa situação transitória e autolimitante, uma vez que os tecidos gengivais retornam à situação de saúde após o parto, quando os níveis hormonais alcançam os valores iniciais. (FERNANDES; OPPERMANN; RÖSING, 2004) Segundo Moimaz e colaboradores (2006), durante a gestação, as alterações periodontais caracterizam-se muito mais por hiperplasia gengival do que por condições destrutivas dos tecidos do periodonto, sendo irrelevante a perda de inserção presente nesse período.

A microbiota desempenha um papel etiológico desencadeador na resposta imunológica local, culminando com liberação de diversas citocinas e quimiocinas e sofrendo fortes influências sistêmicas, como modificações hormonais – que não causam por si só as lesões, mas potencializam o quadro infeccioso e a lesão tecidual associada à própria resposta. (PASSANEZI, BRUNETTI; SANT'ANA, 2007) Na década de 1980, estudos demonstraram a presença de receptores para estrogênio e progesterona no tecido conjuntivo do ligamento periodontal, no osso alveolar e no periósteo associado ao mesmo (THOMSOM, 1982; ERIKSEN et al., 1988) e eles exacerbam a resposta gengival ao biofilme. O estrogênio teria um efeito direto na exacerbação da periodontite, enquanto a progesterona afetaria o tecido gengival de maneira indireta – atuaria potencializando a ação proinflamatória do estrogênio. (XIE, 2003) O desequilíbrio ou os níveis elevados desses hormônios modificam a composição bacteriana do biofilme, resultando no crescimento de microbiota anaeróbica Gram-negativa, a qual modifica o aspecto clínico resultante na gravidez (KOTHIWALE; PANWAR, 2011) e contribui para o início e/ou progressão da doença periodontal. (GÜNCÜ; ÖZÜM, ÇAGLAYAN, 2005)

Existem dados limitados sobre a composição da microbiota subgengival durante a gravidez. Em estudo realizado por Di Placido e colaboradores (1998), observou-se o crescimento seletivo de periodontopatógenos, principalmente de *Prevotella intermedia*, entre

o terceiro e quarto mês de gestação – período coincidente com o início clínico das lesões gengivais maternas. Este crescimento ocorre devido à atuação do estradiol, do estrogênio e da progesterona, como fatores de crescimento bacteriano, possibilitando maior captação de nutrientes, aumento do metabolismo e, conseqüentemente, crescimento populacional. (KORNMAN et al., 1980; LORENZO; MAYER, 2004; GÜRSOY et al., 2009)

O aumento em *P. intermedia* no biofilme subgengival de gestantes durante o segundo trimestre foi relatado primeiramente por Kornman e colaboradores (1980). Mais tarde, Muramatsu e Takaesu (1994) demonstraram níveis aumentados de *P. intermedia* do quarto ao oitavo mês de gravidez e observaram um segundo pico nas proporções das bactérias na última visita - um mês após o nascimento. Outros estudos mais recentes também observaram essas alterações para outras bactérias periodontopatogênicas, como *Campylobacter rectus* (YOKOYAMA et al., 2008) e *Prevotella nigrescens*. (GÜRSOY et al., 2009)

No estudo de Carrillo-de-Albornoz e colaboradores (2010), mulheres grávidas foram avaliadas no primeiro, segundo e terceiro trimestres de gestação e três meses após o nascimento. Os autores concluíram que as gestantes tiveram uma tendência a apresentar um perfil bacteriano mais patogênico em comparação com o pós-parto, o que coincidiu com o agravamento dos parâmetros clínicos. Não foram observadas alterações no perfil microbiológico subgengival durante a gravidez, embora tenham sido encontradas diferenças significantes para todos os patógenos após o parto, o que implica uma modificação qualitativa do biofilme subgengival do estado de gravidez para o pós-parto. As pacientes portadoras de *P. gingivalis* apresentaram um estado inflamatório gengival aumentado e foram encontradas correlações entre os níveis de hormônios maternos e *P. gingivalis* e *Prevotella intermedia*.

Em estudo recente realizado por Machado e colaboradores (2012), não foram observadas diferenças significantes dos números de periodontopatógenos entre os grupos de mulheres grávidas e não-grávidas, apesar das contagens médias mais altas de *P. intermedia* nas gestantes. Contudo, eles destacaram que a maioria das mulheres incluídas no estudo não tinha doença periodontal. Os autores apontam também que os altos níveis de *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *A. actinomycetencomitans*, *T. denticola*, *C. rectus* e *T. forsythia* observados nas gestantes do seu estudo, independente da presença de periodontite ou da falta de diferenças em comparação com as mulheres não gestantes, podem sugerir um risco aumentado de complicações gestacionais.

Quando as mulheres são suscetíveis à destruição periodontal ou têm uma condição inflamatória gengival pré-existente, um tratamento deve ser realizado como forma de prevenir o comprometimento de estruturas de suporte do periodonto, que poderiam predispor ao

desenvolvimento de periodontite. Uma atenção diferenciada deve estar presente nos diferentes momentos da vida da mulher de forma mais sistemática, focada nas particularidades que as doenças periodontais assumem. Essa atenção é ainda mais importante quando se leva em conta que, entre as consequências das doenças periodontais na mulher, existem riscos maiores para a sua saúde e de sua prole. Assim sendo, os cirurgiões-dentistas devem ser reconhecidos como profissionais da equipe médica, transdisciplinar e multidisciplinar, que se dedica à saúde da mulher. (FERNANDES; OPPERMANN; RÖZING, 2004; HUCK; TENENBAUM; DAVIDEAU, 2011)

2.3 FATORES DE RISCO ASSOCIADOS AOS DESFECHOS GESTACIONAIS INDESEJADOS

Durante o período gestacional, muitos episódios indesejados podem ocorrer, como aborto espontâneo, parto prematuro, baixo peso ao nascer, retardo do crescimento fetal e anomalias esqueléticas. (BRUNETTI et al., 2004) Muitos deles são considerados importantes problemas médicos, sociais e econômicos, como os recém-nascidos prematuros/com baixo peso ao nascer, que representam grande proporção da morbimortalidade materna e, especialmente, neonatal. (KOTHIWALE; PANWAR, 2011)

A despeito dos avanços na Perinatologia, a prematuridade está entre os problemas médicos de mais difícil resolução e que, além de oneroso, não é isento de riscos. A morbidade do recém-nascido pré-termo está relacionada à imaturidade anatômica e fisiológica de seus órgãos, à alta incidência de defeitos congênitos, ao trabalho de parto e às causas que o determinam, como infecções e doenças sistêmicas maternas. O conhecimento das causas da prematuridade constitui elemento básico à sua prevenção e, de acordo com Guariento e Delascio (1987), elas podem ser divididas em: causas obstétricas, ginecológicas e extra-tocoginecológicas. Ressaltam-se ainda as causas iatrogênica, eletiva, imunológica e desconhecida, a qual representa 20 a 40% dos casos. (SOUZA; CAMANO; BRUNETTI, 2004)

O crescimento fetal é resultante de complexo relacionamento de estruturas morfológicas e funcionais, de evolução ordenada e constante, que culmina com o nascimento. A evolução completa e adequada desse processo é regida por fatores genéticos, nutricionais, maternos, uteroplacentários e hormonais, os quais interagem entre si. O peso fetal ao nascimento é determinado principalmente pela mãe, que contribui com sua carga genética e com fatores nutricionais e hormonais. (DEMIAN; CORRÊA JÚNIOR, 2011) O feto com

crescimento intrauterino restrito (CIUR) é aquele que não atingiu todo o seu potencial de desenvolvimento. Quaisquer fatores adversos que acometam a gestação poderão levar a alterações no desenvolvimento embrionário e fetal e estas podem interferir no desenvolvimento dos órgãos fetais, no seu metabolismo e no seu padrão de crescimento, causando repercussões que podem ser definitivas ou temporárias. (CORRÊA, 2011) Grandes deprivações proteico-calóricas, fumo, drogas e medicamentos em uso crônico ou abusivo estão associados a pesos mais baixos ao nascer. (DEMIAN; CORRÊA JÚNIOR, 2011)

Até 1960, todos os neonatos com baixo peso eram classificados como prematuros. Em 1961, a OMS reconheceu que gestações de duração normal também poderiam produzir neonatos com menos de 2500g, sugerindo que estes fossem chamados de recém-nascidos (RNs) de baixo peso ao nascimento. Com o surgimento das curvas de crescimento fetal, eles passaram a ser classificados em relação à idade gestacional (IG) como: adequados para a IG (AIG), pequenos para a IG (PIG) ou grandes para a IG (GIG). Segundo Souza, Camano e Brunetti (2004), conceituar um conceito como de baixo peso, sem considerar o período gestacional, é de pouca valia, pois engloba conceitos de características diferentes, e excluindo, por vezes, o pré-termo grande para a própria IG. Dessa forma, o primeiro passo para o diagnóstico de CIUR é a determinação correta da IG, sendo que a anamnese e, se possível, a ultrassonografia no primeiro trimestre serão fundamentais. (CORRÊA, 2011)

De acordo com a Organização Mundial da Saúde e o Fundo das Nações Unidas para a Infância (2004), mais de 20 milhões de crianças em todo o mundo nascem com baixo peso, o que corresponde a 15,5% de todos os nascimentos, sendo que, destes, 95,6% ocorrem nos países em desenvolvimento. O nível de baixo peso ao nascer em países em desenvolvimento (16,5%) é mais do que o dobro do nível em regiões desenvolvidas (7%). No Brasil, dados recentes (BRASIL. Ministério da Saúde, 2010) mostram que, em 2010, o número de nascidos vivos com baixo peso foi de 240.353 (8,41%). São Paulo foi o estado com maior número (55.323), seguido por Minas Gerais (24.183), Rio de Janeiro (19.676) e Bahia (17.343). Na região Nordeste, do total de 7.069 neonatos de baixo peso a termo ou pós-termo, a capital baiana (Salvador) desponta com 1.477 ocorrências.

A restrição do crescimento intrauterino está associada a aumento significativo de morbimortalidade perinatal. A mortalidade neonatal de recém-nascidos com CIUR é de 6 a 10 vezes mais do que a daqueles que cresceram normalmente na vida intrauterina. Quanto à morbidade, revela altas taxas de asfixia intraparto, hipoglicemia e retardo mental, bem como risco aumentado de desenvolver doenças crônicas na vida adulta. (DEMIAN; CORRÊA JÚNIOR, 2011; CORRÊA, 2011)

Diversas são as causas de CIUR, sendo a etiologia classicamente dividida em causas de origem materna, fetal e placentária. Também podem ser divididas segundo o mecanismo fisiopatológico que levaria à doença: aporte materno inadequado de nutrientes e oxigênio, mau-funcionamento placentário e lesão direta no feto. Entre as agressões diretas ao feto, estão as causas genéticas, infecciosas e exposição à radiação ou a substâncias teratogênicas. (CORRÊA, 2011)

Os diversos fatores de risco para nascimento prematuro e baixo peso ao nascer são idade materna baixa, primeira gravidez, histórico de prematuridade/baixo peso, aborto, hábitos como tabaco, café, abuso de drogas, educação e gênero do feto. (TRENTIN et al., 2007; KOTHIWALE; PANWAR, 2011; MORAES et al., 2012) É consensual atualmente o conceito de que a idade ideal para a instalação da primeira gestação seria de 18 a 20 anos, uma vez que tanto as primigestas precoces (16 anos) como as tardias (28-30-32 e 35 anos) apresentam frequente ocorrência de aborto e parto prematuro, doença hipertensiva específica da gestação, entre outras, e conseqüentemente, maior morbiletalidade perinatal. Razões sexuais, emocionais e socioeconômicas podem interferir na boa evolução da gestação, bem como a profissão/ocupação da gestante, pois intoxicações lentas dependentes da sua profissão geralmente resultam em maior incidência de abortamento e óbito do concepto. Durante a anamnese da paciente, além dos fatores supracitados, devem ainda ser arguidos antecedentes familiares e pessoais, características étnicas e hábitos relacionados com o tabagismo, alcoolismo e o uso de drogas. (NEME, 2005)

Entre os fatores de risco associados aos desfechos gestacionais adversos, diversos estudos e evidências clínicas sustentam o importante papel que as infecções maternas exercem sobre o nascer prematuro e nascimento de bebês com baixo peso. (HILLIER et al., 1995) Diversos estudos geraram evidências de que muitos dos partos prematuros estão associados à infecção clínica ou subclínica dos sistemas genital e urinário, geralmente pelo reconhecimento de micro-organismos no líquido amniótico e no conteúdo vaginal e endocervical das gestantes, além da comprovação histológica de corioamnionite. (SOUZA; BRUNETTI; CAMANO, 2004) Infecções do trato urinário representam a complicação médica mais frequente durante a gestação, sobretudo, a bacteriúria assintomática, sendo favorecida pelas profundas modificações na anatomia do trato urinário e função renal, mediadas por hormônios e fatores mecânicos. (MILANEZ, 2005) Entre as alterações do conteúdo vaginal capazes de vaticinar a prematuridade, destaca-se a vaginose bacteriana, caracterizada pela diminuição de lactobacilos e aparecimento de grande número de outros micro-organismos, sobretudo

anaeróbios. (HILL, 1998; SOUZA; BRUNETTI; CAMANO, 2004; PRETORIUS; JAGATT; LAMONT, 2007)

De acordo com Takeuchi e colaboradores (2012), a inflamação também é um fator de risco para o nascimento prematuro e baixo peso ao nascer e a infecção microbiana aumentaria a produção de citocinas pró-inflamatórias na interface materno-fetal, rompendo com o delicado equilíbrio destas e ativando o mecanismo de parto prematuramente. Pretorius; Jagatt; Lamont (2007) apontaram que a inflamação é um fator principal na via final comum que resulta em trabalho de parto prematuro espontâneo, nascimento prematuro e sequelas neonatais adversas. O mecanismo pelo qual a parturição é iniciada, seja na gravidez a termo seja no pré-termo, não é totalmente conhecido. (SOUZA BRUNETTI; CAMANO, 2004) Acredita-se que o aumento da produção de prostaglandinas pelo âmnio e cório, processo no qual estão envolvidas várias citocinas e fatores de crescimento, e sua passagem para os tecidos maternos seriam as primeiras etapas do trabalho de parto. (BITTAR; ZUGAIB, 2005) Levando-se em conta que, no início do trabalho de parto, são encontradas concentrações aumentadas de prostaglandinas no líquido amniótico, a teoria prostaglandínica é considerada uma das mais bem estabelecidas. (REZENDE, 1995)

Embora haja divergências, a hipótese que associa uma infecção ao nascer prematuro é a de que os próprios micro-organismos ou suas toxinas, como os LPS, podem alcançar a cavidade uterina durante a gestação pela corrente sanguínea, a partir de um foco não-genital ou por meio de uma rota ascendente do trato genital inferior. Ao interagirem, provavelmente na decídua, estimulam a produção de mediadores químicos inflamatórios – as prostaglandinas (PGE₂) e o fator de necrose tumoral – por parte da gestante, que alcançam níveis elevados, acelerando a gestação, promovendo a dilatação cervical, a contração do músculo uterino, o início do trabalho de parto e o nascimento propriamente dito. A ocorrência de infecções maternas clinicamente detectáveis, pela atuação de micro-organismos ou suas toxinas, pode provocar resposta inflamatória tecidual exacerbada associada à liberação de interleucina-1, prostaglandinas e fator de necrose tumoral alfa (FNT- α), mediadores químicos envolvidos também no desencadeamento do parto, (NEME, 2000)

2.4 ALTERAÇÕES PERIODONTAIS E COMPLICAÇÕES GESTACIONAIS

Nos últimos anos, diversos estudos têm apontado a associação entre a doença periodontal e as condições sistêmicas. Entretanto, as primeiras citações sobre as doenças bucais que poderiam comprometer outros tecidos, órgãos ou sistemas são encontradas já nos papíros médicos datados de 2100 a. C. – mencionavam a dor de dente associada à doença no sistema reprodutor feminino. (REILLY; GLAFFEY, 2005) Miller (1891), no século XIX, chamou a atenção para esta relação, especialmente com o estudo da boca como foco de infecção, apontando a necessidade de uma profunda compreensão por parte do médico e do cirurgião-dentista dos “germes da boca” como um fator na produção de doença.

Desde o início do século XX, para definir a disseminação de micro-organismos e seus produtos, de locais cronicamente infeccionados para outros órgãos do corpo, passou a ser empregado o termo “infecção focal”, sendo as “infecções focais dentárias” aquelas em que há participação de micro-organismos bucais no desenvolvimento de doenças à distância. (NEWMAN, 1996; LOTUFO; PANNUTI, 2004; WILLIAMS; PAQUETTE, 2005) Então, como tentativa de prevenir e/ou tratar as doenças que afetavam as pessoas, seguiu-se um período de “orgia” de extrações dentárias. Contudo, na década de 1950, ficou claro tanto para a Medicina como para a Odontologia que as infecções bucais, como cárie, gengivite e periodontite, não podiam explicar muitas das doenças sistêmicas que acometiam as pessoas e a teoria da infecção focal passou a ser preterida. (WILLIAMS; PAQUETTE, 2005)

O interesse pelos efeitos sistêmicos da infecção periodontal renasceu nos anos 90, devido a uma série de avaliações epidemiológicas que demonstraram associações estatísticas entre a saúde bucal deficiente e diversos comprometimentos sistêmicos. Tem-se discutido como potenciais as associações entre doença periodontal e diabetes *mellitus*, tabagismo, doenças cardiovasculares, doenças respiratórias e desfechos gestacionais adversos, como o nascimento prematuro e baixo peso ao nascer. (CRUZ et al., 2005; BRUNETTI; MORAES; MORAIS, 2007; SEYMOUR et al., 2007; OTOMO-CORGEL et al., 2012)

Tem-se como aspecto consistente e reprodutível do nascimento prematuro de neonato com baixo peso a observação de níveis elevados de PGE2 e fator de FNT- α , mesmo na ausência de quaisquer infecções clínica ou subclínica do trato genitourinário, o que levou à conclusão que a maioria dos casos é provavelmente causada por uma infecção de origem desconhecida. (KOTHIWALE; PANWAR, 2011) Recentemente, foi levantada a hipótese de que a infecção periodontal poderia constituir uma infecção materna remota que influenciaria adversamente os resultados gestacionais. Estudos realizados por Collins e colaboradores (1994a, b), Offenbacher e colaboradores (1996; 1998), Dasanayake (1998), Davenport e colaboradores (1998) e Jeffcoat e colaboradores (2001) forneceram as primeiras evidências

dessa associação. Collins e colaboradores (1994 a), através de modelos de hamster grávidas, mostraram que a exposição maternal ao LPS de *P. gingivalis* antes e durante a gravidez pode induzir efeitos deletérios no feto em desenvolvimento. Estes autores também relataram que infecções com *P. gingivalis* podem eliciar resultados gestacionais adversos e níveis de PGE2 e FNT- α resultantes são associados com a gravidade do efeito sobre o feto, com diminuição média do peso dos fetos em 24%. (COLLINS et al., 1994b)

Offenbacher e colaboradores (1996) realizaram o primeiro estudo de caso-controle, com 124 gestantes ou puérperas, para avaliar essa associação e relataram que, mesmo controlando outros fatores de risco para o baixo peso ao nascimento prematuro, a doença periodontal é um fator de risco estatisticamente significativa para esta condição. Observaram ainda que mulheres que tiveram recém-nascidos com baixo peso ao nascer, como consequência da ruptura prematura de membranas, tinham a tendência de ter doença periodontal mais grave do que mulheres com crianças de peso normal. Dasanayke (1998) e Davenport e colaboradores (1998), assim como diversos estudos recentes, têm indicado uma associação estatisticamente significativa entre doença periodontal materna e resultados gestacionais adversos. (LOURO et al., 2001; LÓPEZ; SMITH; GUTIERREZ, 2002; CRUZ et al., 2005; BASSANI; OLINTO; KREIGER, 2007; SADDKI et al., 2008; VOGT et al., 2010; KOTHIWALE; PANWAR, 2011; TAKEUCHI et al., 2012; KUMAR et al., 2013)

No entanto, não é possível afirmar categoricamente que a infecção periodontal em gestantes seja um fator de risco para desfechos gestacionais adversos, uma vez que outros estudos também publicados recentemente não confirmam essa associação. (NOACK et al., 2005; MOORE; RANDAHAWA; IDE, 2005; MOREU, TÉLEZ; GONZÁLEZ-JARANAY, 2005; LUNARDELLI; PERES, 2005; MICHALOWICZ et al., 2006; FARRELL; IDE; WILSON, 2006; AGUEDA et al., 2008) Essas diferenças podem ser resultado de fatores relacionados à seleção e características da amostra, critérios de exclusão e inclusão utilizados, definição dos grupos de caso e controle, diversidade de métodos de avaliação e definições da condição periodontal, acrescentando-se a falta de uma classificação comum ou um padrão-ouro. (ALMEIDA et al., 2006; TAKEUCHI et al., 2012; KUMAR et al., 2013) Slots (1998) apontou que doenças periodontais e “médicas” podem frequentemente ocorrer juntas, sem indicar relação de causa e efeito, porém, a implicação da possível associação causal entre doença periodontal e baixo peso ao nascer não pode ser minimizada. É também possível que haja uma conjunção de fatores subjacentes genéticos e/ou ambientais que colocam um paciente em risco de ambas as situações. (LOURO et al., 2001)

Os desfechos gestacionais adversos estão geralmente associados a níveis elevados de mediadores inflamatórios locais e sistêmicos e infecções intrauterinas. Evidências atuais sugerem que os desfechos adversos primariamente se originam de infecções ascendentes da vagina ou do colo do útero ou a partir de disseminação sistêmica de fontes não-genitais conhecidas ou não. (GOLDENBERG et al., 2008) A periodontite materna representa uma fonte potencial de micro-organismos conhecidos por, rotineiramente, entrar na circulação e podendo, direta e/ou indiretamente, influenciar a saúde da unidade materno-fetal, ou seja, apesar da natureza localizada da doença periodontal, a infecção do sulco/bolsa periodontal pode levar a respostas inflamatórias para além do periodonto. (SANZ et al., 2013; VAN DYKE; VAN WINKELHOFF, 2013) Entretanto, o mecanismo exato pelo qual a doença periodontal na gestante poderia levar à ocorrência das complicações gestacionais ainda não foi completamente esclarecido.

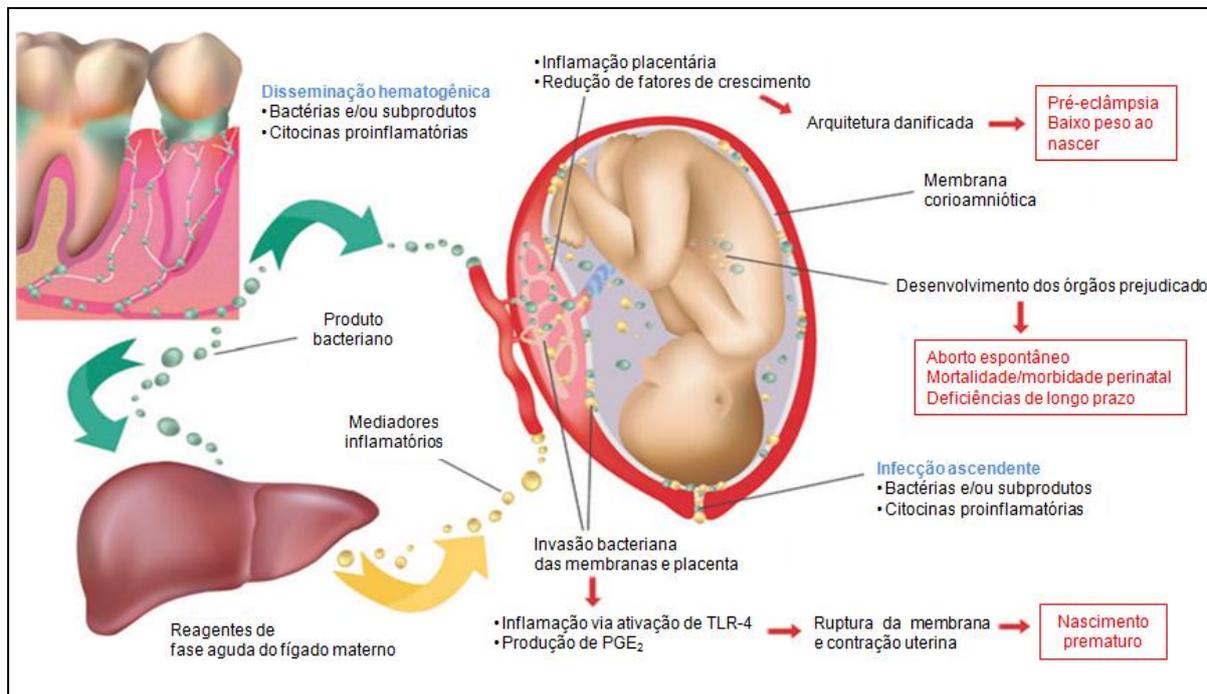
Sabe-se que há um equilíbrio entre as bactérias do biofilme dentário e o sistema imunológico do hospedeiro - os micro-organismos liberam antígenos que são reconhecidos e combatidos por mecanismos inatos e adaptativos. Uma barreira de epitélio juncional íntegro e de neutrófilos polimorfonucleares impede que micro-organismos e seus produtos se disseminem pela corrente sanguínea. (DARVEAU; TANNER; PAGE, 1997) Contudo, durante a gravidez, a inflamação gengival aumenta significativamente na presença de fatores locais, observam-se altos níveis de mediadores inflamatórios nos tecidos periodontais e o epitélio ulcerado e inflamado da bolsa torna-se vulnerável a bactérias da microbiota subgengival. Conseqüentemente, ocorrem bacteremias transitórias, podendo concebivelmente alcançar os tecidos placentários, o que forneceria o ímpeto inflamatório para a indução do trabalho de parto. (LEÓN et al., 2007; VAN DYKE; VAN WINKELHOFF, 2013) Endotoxinas, como o LPS produzido no biofilme subgengival, também podem alcançar a corrente sanguínea, resultando na produção de altos níveis de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β e a PGE2, que podem induzir complicações sistêmicas. (LOTUFO; PANNUTI, 2004)

Van Velzen, Abraham-Inpijn e Moorer (1984) propuseram três possíveis mecanismos pelos quais as infecções bucais poderiam causar repercussões a distância: infecção metastática devido à translocação de micro-organismos; injúria metastática devido à circulação de toxinas dos micro-organismos bucais; e inflamação metastática devido à injúria imunológica induzida por micro-organismos bucais. (LOTUFO; PANNUTI, 2004) Bobetsis, Barros e Offenbacher (2006) propuseram um modelo de mecanismo hipotético que poderia explicar a associação biológica entre doença periodontal e desfechos gestacionais adversos. Este modelo possui

duas vias principais: uma via direta, na qual bactérias periodontais e/ou seus produtos patogênicos se disseminam para a unidade fetoplacentária e iniciam uma infecção ectópica e/ou desencadeiam uma resposta inflamatória local que resulta em elevação de citocinas e mediadores inflamatórios, contribuindo para complicações gestacionais; e uma via indireta, em que os mediadores e citocinas inflamatórias, produzidos em nível gengival como resposta aos patógenos periodontais, entram na circulação sanguínea e alcançam a unidade fetoplacentária e/ou o fígado, onde estimulam uma resposta inflamatória sistêmica pela produção de reagentes de fase aguda. Esses produtos, como a proteína C reativa, acessam a circulação sanguínea e podem entrar na unidade fetoplacentária exacerbando a inflamação intrauterina.

Mais recentemente, Madianos, Bobetsis e Offenbacher (2013) relataram que os estudos descritos em humanos e em modelos animais fornecem fortes argumentos para a plausibilidade biológica da associação de causalidade entre as duas condições e, com base nos dados disponíveis na literatura, elaboraram um possível modelo biológico (Figura 1). Os autores apontaram que a via biológica mais importante que determina se um desfecho gestacional ocorrerá é o desafio/estabelecimento de uma infecção na unidade fetoplacentária por patógenos periodontais/produtos.

Figura 1 - Possíveis vias ou mecanismos biológicos associando a doença periodontal e complicações na gravidez.



Fonte: Adaptado de Madianos, Bobetsis e Offenbacher (2013).

Os níveis de PGE₂ e citocinas (como FNT- α e IL-1 β) no fluido amniótico aumentam progressivamente durante a gestação até que um limiar crítico seja atingido para induzir o trabalho de parto. Dessa forma, a parturição normal é controlada por sinalização inflamatória e esse processo representa um mecanismo desencadeador que pode ser modificado por estímulos externos incluindo infecção e estressores inflamatórios. (MADIANOS; BOBETSI; OFFENBACHER, 2013) Foram relatados níveis significativamente mais altos de PGE no líquido gengival sulcular de mães de recém-nascidos prematuros de baixo peso, bem como uma associação inversa significante entre peso ao nascer e níveis de PGE, o que poderia ser uma explicação para a associação encontrada entre doença periodontal e baixo peso. (OFFENBACHER et al., 1998) Estas moléculas produzidas no periodonto poderiam ser lançadas na circulação, atravessar a placenta e elevar os níveis de PGE e FNT no líquido amniótico. No estudo de Collins e colaboradores (1994b), foi encontrada uma associação estatisticamente significante entre níveis aumentados de PGE₂ e FNT- α e retardo do crescimento fetal e embriofetalidade, indicando que a resposta inflamatória materna diante da infecção por micro-organismo bucal seria uma ativadora potencial do mecanismo de retardo do crescimento intrauterino. Contudo, há evidências limitadas e principalmente negativas de

que a elevação de mediadores no fluido sulcular gengival, soro e fluido amniótico estariam associados a complicações na gestação em pacientes com periodontite. (SERT et al., 2011; TARANNUM; FAIZUDDIN; MADALIAH, 2011; FIORINI et al., 2012)

Investigações têm sido realizadas utilizando modelos animais e análise da composição da microbiota subgengival, com intuito de avaliar a relação entre espécies bacterianas intimamente associadas à doença periodontal e a complicações gestacionais. Modelos animais podem proporcionar evidências sugestivas de que uma espécie microbiana pode desempenhar algum papel na doença humana. (PAPAPANOU; LINDHE, 2005) Sendo assim, diversos modelos experimentais têm sido empregados para simular, de maneira simplificada e reprodutível, uma infecção periodontal em animais grávidos. Experimentos utilizando infecções subcutâneas, com periodontopatógenos, e doença periodontal experimental, em hamsters grávidas, mostraram diminuição do crescimento fetal e aumento de níveis de mediadores inflamatórios (DASANAYAKE, 1998); e estudos observaram ocorrência de desfechos gestacionais adversos, como crescimento intrauterino restrito e nascimento prematuro, após injeção de periodontopatógenos em animais grávidos. (LIN et al., 2003; HAN et al., 2004; OFFENBACHER et al., 2005; YEO et al., 2005) Os micro-organismos mais frequentemente associados aos desfechos clínicos indesejáveis incluem *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Peptostreptococcus micros*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*. (HAN et al., 2004; LIN et al., 2007; BARAK et al., 2007; LEÓN et al., 2007; YOKOYAMA et al., 2008; KATZ et al., 2009; GÜRSOY et al., 2009; DAVENPORT, 2010)

Em estudo realizado por Han e colaboradores (2004), observou-se que a inoculação intravenosa de ratos com *F. nucleatum* foi capaz de induzir desfechos gestacionais indesejáveis, indicando a sua capacidade de colonizar o útero através de uma via hematogênica; ademais, indicou a possibilidade de que outras bactérias orais poderiam colonizar a placenta e causar nascimentos prematuros. Um modelo experimental de exposição materna crônica, a *P. gingivalis* utilizando coelhos, desenvolvido por Boggess e colaboradores (2005), mostrou que a exposição em um sítio distante do trato reprodutivo resulta em disseminação sistêmica e exposição do feto e placenta, podendo ser útil para estudar os efeitos e a disseminação desse patógeno na unidade fetoplacentária.

Esforços para detectar os periodontopatógenos em biofilme dental têm incluído provas de DNA, procedimentos de cultura, medições microscópicas e reagentes imunológicos. (CHAN et al., 2010) Os avanços tecnológicos, como o mapeamento da hibridização DNA-DNA e reação em cadeia de polimerase (PCR), agora permitem a identificação de micro-

organismos específicos em inúmeras amostras de biofilme subgingival. (PAPAPANOU; LINDHE, 2005) No estudo de Contreras e colaboradores (2006), a presença de *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *E. corrodens* no biofilme subgingival foi significativamente associada à pré-eclâmpsia em grávidas. León e colaboradores (2007) detectaram uma invasão microbiana da cavidade amniótica por *P. gingivalis* de 30,8% e que a bactéria estava presente, tanto nas amostras de biofilme subgingival, como na respectiva amostra do fluido amniótico, o que pode indicar um papel desse patógeno periodontal nas gestantes com um diagnóstico de risco de parto prematuro. Lin e colaboradores (2007) relataram que os níveis pós-parto de oito patógenos periodontais foram pelo menos duas vezes maiores no grupo com nascimento pré-termo do que no grupo controle, sendo que, após o ajuste para os níveis pré-parto, foram mantidas diferenças estatisticamente significantes nos níveis de *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *P. intermedia* e *P. nigrescens* entre os grupos pré-termo e a termo.

Entretanto, existem estudos em que não são observadas tais associações (VETTORE et al., 2008; RYU et al., 2010; SOUCCAR et al., 2010). Ryu e colaboradores (2010) não observaram relação significativa entre a doença periodontal e o parto prematuro; além disso, dentre os fatores microbianos, somente *P. gingivalis* mostrou alguma diferença entre os grupos caso e controle ($P = 0.060$). No estudo de Vettore e colaboradores (2008), puérperas com nascimento pré-termo de neonato de baixo peso e aquelas que se apresentavam dentro dos padrões de normalidade não apresentaram diferenças com relação às proporções de 39 espécies bacterianas das amostras de biofilme subgingival.

Apesar de as associações propostas parecerem biologicamente plausíveis, ainda não se deve extrair qualquer conclusão definitiva se estas condições ocorrem paralelamente à infecção bucal, sem relação de causa e efeito, ou se elas são de fato causais, e se forem, sobre a magnitude de seus efeitos biológicos. Entretanto, esses estudos sublinham o fato de que a cavidade oral é parte integrante do corpo humano e que a saúde sistêmica deve abranger a saúde oral também. Esses estudos possibilitam expandir a esfera de investigação, adquirindo e produzindo novos conhecimentos. (PAPAPANOU; LINDHE, 2005) Além disso, por conta dessa possível associação entre a infecção crônica periodontal e os quadros clínicos de risco para a gestante e o feto, faz-se necessária a avaliação periodontal pelo cirurgião-dentista durante a gestação, bem como maior interação dele com os demais profissionais da área da saúde que acompanham a futura mãe.

3 OBJETIVOS

Apresentam-se, a seguir, os objetivos estabelecidos para o desenvolvimento deste estudo.

3.1 OBJETIVO GERAL

Estudar a associação entre a presença de bactérias periodontopatogênicas no biofilme subgingival de puérperas e o nascimento de bebês com peso inferior a 2500g.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever o perfil epidemiológico das puérperas, de acordo com o desfecho gestacional (peso ao nascer <2.500 gramas);
- Determinar a frequência de cinco periodontopatógenos (*Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* e *Prevotella intermedia*) nas amostras de biofilme subgingival de puérperas;
- Comparar os níveis destes periodontopatógenos entre as mães de crianças nascidas com peso inferior a 2500g e as mães de recém-nascidos com peso igual ou superior a 2500g.
- Comparar os níveis dos periodontopatógenos entre as puérperas diagnosticadas com periodontite e sem periodontite.

4 METODOLOGIA

Trata-se de evidenciar, nesta seção, os procedimentos metodológicos do estudo que levaram ao cumprimento dos objetivos.

4.1 DESENHO DO ESTUDO

O presente estudo é de natureza observacional, transversal, aninhado a um estudo do tipo caso-controle, em que o grupo teste (A) foi constituído por mães de crianças nascidas com peso inferior a 2500g e o grupo controle (B), por mães de recém-nascidos do mesmo hospital, com peso igual ou superior a 2500g. As puérperas foram também divididas considerando a presença e ausência de periodontite (grupos CP e SP, respectivamente) para uma melhor compreensão sobre as suas condições de infecção bucal. Participaram da investigação as puérperas que buscaram atendimento no Hospital Inácia Pinto dos Santos (Hospital da Mulher), localizado no Bairro Jardim Cruzeiro, na cidade de Feira de Santana-Bahia.

4.2 PROCEDIMENTO DE AMOSTRAGEM

O tamanho da amostra foi calculado com base em estudo-piloto realizado previamente por grupo de pesquisa (FIGUEIREDO, 2012), de acordo com os seguintes parâmetros: frequência da doença periodontal de 38,71% entre mães do grupo caso (<2500g) e de 22,22% para mães do grupo controle (\geq 2500g). Assim, o tamanho da amostra mínima (287) foi estimado em 72 casos e 215 controles com o emprego do programa Epi Info, admitindo-se um nível de confiança (α) de 95%, um poder do estudo (β) de 80% e três controles para cada caso. Para compor a população do estudo, foram convidadas todas as mães de recém-nascidos com baixo peso (<2500g) presentes no hospital até dois dias após o parto, bem como aquelas cujo retorno estava agendado para até uma semana depois do parto para realização da consulta de acompanhamento médico ou odontológico. No mesmo hospital e durante o mesmo período, foram selecionadas mães de recém-nascidos com peso \geq 2500g para compor o grupo controle mediante o emprego da tabela de números aleatórios.

4.3 COLETA DE DADOS

Para obtenção dos dados referentes ao peso do recém-nascido, foi consultado o livro de registro de nascimentos do hospital. Todas as participantes voluntárias de ambos os grupos-teste e controle foram convidadas a responder, mediante anamnese direcionada em horário agendado, um questionário semiestruturado, cujo conteúdo englobou dados referentes à: identificação e dados sociodemográficos, como idade, sexo, cor da pele, situação conjugal, local de residência, escolaridade e renda familiar, ocupação atual e anteriores; aspectos da história gestacional, como patologias existentes, tipo de parto, número de gestações, uso de medicamentos e peso pré-gestacional; hábitos de vida, como consumo de tabaco ou bebidas alcoólicas; aspectos relacionados à saúde bucal – atenção odontológica, tipo e frequência de higienização (APÊNDICE A).

A história médica das participantes foi revista e excluiu-se do estudo aquelas portadoras de doenças cardiovasculares, diabetes *mellitus* tipo 2, doença renal, doença da paratireoide, urolitíase, vaginose bacteriana, malformação congênita do feto, entre outros fatores que poderiam afetar o resultado da gravidez (KUMAR et al., 2013); aquelas puérperas que necessitavam de profilaxia antibiótica para os procedimentos odontológicos ou que tivessem sido submetidas a tratamento periodontal durante a gestação.

Após a entrevista, um cirurgião-dentista previamente treinado e calibrado realizou no leito o exame clínico periodontal de cada participante, direcionado para possibilitar a construção de medidas de acordo com os parâmetros clínicos. Para a realização dessa etapa, foi elaborada uma ficha clínica contendo roteiro padronizado com todos os descritores clínicos contemplados no estudo (APÊNDICE B). O examinador e entrevistador foram cegos para o estado das participantes (teste ou controle) no momento da anamnese e exame clínico periodontal.

4.3.1 Exame Periodontal

A avaliação periodontal deste estudo contemplou os descritores clínicos mencionados a seguir. Além dessa avaliação, o exame bucal incluiu registro de número de dentes presentes, com lesão cariosa, perdidos e com restaurações, bem como qualquer aspecto observado que não se encontrava dentro dos limites da normalidade.

4.3.1.1 *Profundidade de sondagem*: consiste na distância entre a margem gengival e o ponto mais apical sondável, medida com uma sonda milimetrada do tipo Williams (Trinity, São Paulo). Foi registrada em 6 diferentes sítios em cada dente, conforme descrito por Pihlstrom, Ortiz-Campos e Mchugh (1981), que consiste em quatro medidas proximais (nos ângulos méso-vestibular, méso-lingual, disto-vestibular e disto-lingual), uma na região médio-vestibular e uma na região médio-lingual. A sonda foi introduzida delicadamente no sulco gengival de cada face, paralela ao longo do eixo do dente, até encontrar uma resistência tecidual mínima à penetração, sendo então a marcação numérica, em milímetros, registrada pelo auxiliar em ficha própria. Quando a margem gengival estava localizada entre duas marcas da sonda, adotou-se o valor inteiro da marca mais próxima e quando a margem se encontrava numa posição equidistante de duas marcas foi considerada a maior.

4.3.1.2 *Índice de recessão/hiperplasia*: As medidas da altura da margem gengival em relação à junção cimento-esmalte foram registradas em seis locais para cada dente, conforme descrito anteriormente, na medida de profundidade de sondagem de sulco/bolsa e sendo utilizadas as mesmas sondas milimetradas. No caso de uma recessão gengival, o valor em milímetros foi considerado positivo. Quando a margem gengival estava localizada coronalmente à junção cimento-esmalte, ou seja, no caso de uma hiperplasia gengival, o valor em milímetros da margem gengival à junção cimento-esmalte foi considerado negativo. Essas medidas foram obtidas com o posicionamento da ponta da sonda na margem gengival e o valor, em milímetros, a partir deste ponto até a junção cimento-esmalte, foi imediatamente anotado em ficha pelo auxiliar. Com a sonda milimetrada paralela ao longo eixo do dente e as superfícies dentárias secas com jato de ar, estabeleceram-se uma sequência, como já descrito no item anterior, e os procedimentos de aproximação numérica quando a junção cimento-esmalte se localizava entre as marcas da sonda.

4.3.1.3 *Nível de inserção clínica*: A medida de inserção clínica (RAMFJORD, 1959) foi obtida pela somatória dos valores da profundidade de sondagem de sulco/bolsa e das medidas de recessão ou hiperplasia gengivais. No caso de uma recessão, a perda de inserção clínica foi a soma dos valores de profundidade de bolsa e da medida de recessão. No caso de uma hiperplasia gengival, foi a somatória do valor positivo da profundidade de bolsa com o valor negativo dado à hiperplasia, ou seja, representando, na prática, a subtração do valor da hiperplasia daquele atribuído à profundidade de sondagem. Finalmente, seis medidas de perda

de inserção clínica foram obtidas: méso-vestibular, médio-vestibular, disto-vestibular, disto-lingual, médio-lingual e méso-lingual.

4.3.1.4 *Índice de sangramento à sondagem*: Avaliou-se a condição gengival mediante o índice de sangramento (AINAMO; BAY, 1976), usando o critério da presença de sangramento após a sondagem. Seguindo-se a secagem das superfícies dentárias e a medição da profundidade de sondagem de sulco/bolsa, observou-se, passados 10 segundos, a presença ou não de sangramento após a remoção da sonda milimetrada da bolsa ou sulco. Quando observado sangramento subsequente à sondagem em determinada face, o registro foi feito na ficha. A proporção de faces sangrantes em relação ao total de faces examinadas foi calculada, determinando assim o índice de sangramento para cada indivíduo.

4.3.2 Coleta de biofilme subgengival

Amostras do biofilme subgengival foram obtidas dos sítios com maior profundidade de sondagem de cada sextante, ou seja, de seis sítios diferentes. Após a remoção da placa supragengival com gaze estéril, o biofilme subgengival foi coletado utilizando curetas do tipo Gracey estéreis (GÜRSOY et al., 2009), por meio de movimentos leves de raspagem para a remoção do biofilme acumulado. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em solução salina tamponada com fosfato, em tubos do tipo Eppendorf estéreis.

4.4 DIAGNÓSTICO DA DOENÇA PERIODONTAL E AVALIAÇÃO DO BAIXO PESO AO NASCER

Todas as participantes deste estudo tiveram diagnóstico de periodontite empregando-se o critério em que é considerado doente o indivíduo que apresentar pelo menos três dentes com, no mínimo, um sítio com profundidade de sondagem maior ou igual a 4mm, perda de inserção maior ou igual a 3mm e sangramento à sondagem, no mesmo sítio.

Deste modo, as participantes foram classificadas, de acordo com a condição periodontal, em dois grupos: **Grupo com Periodontite (CP)**: mães de recém-nascidos classificadas de acordo com os critérios descritos acima; **Grupo sem Periodontite (SP)**: mães de recém-nascidos que não se enquadraram na classificação referida.

O desfecho gestacional avaliado foi o baixo peso ao nascer, de acordo com a OMS. O baixo peso ao nascer foi considerado quando o recém-nascido apresentou peso inferior a 2500g. Coletou-se o registro do peso ao nascer no certificado de nascimento ou cartão do recém-nascido. Dessa forma, as puérperas foram classificadas de acordo com o desfecho gestacional em: **Grupo A)** Mães de recém-nascidos com peso ao nascer inferior a 2500g; **Grupo B)** Mães de recém-nascidos com peso ao nascer igual ou superior a 2500g.

4.5 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

A avaliação microbiológica foi executada numa cooperação do Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular (LABIMUNO – UFBA), Laboratório de Biologia Molecular do Hospital Universitário Professor Edgar Santos (HUPES – UFBA) e o Núcleo de Pesquisa Prática Integrada e Investigação Multidisciplinar (NUPPIIM – UEFS).

4.5.1 Extração de DNA Bacteriano das Amostras

Para a extração de DNA das amostras de biofilme subgingival, empregou-se o kit PureLink™ Genomic DNA Mini Kit, Invitrogen™. Primeiramente, foram adicionados 180µl de Digestion Buffer em cada tubo de amostra, seguidos por 20µl de Proteinase K e incubação em termobloco por 30 minutos a 55°C. Após a incubação, foram acrescentados 20µl de RNase A e realizada nova incubação por 2 minutos a temperatura ambiente. Foram adicionados 200µl de PureLink™ Genomic Lysis/Binding Buffer e 200µl de Etanol 96-100%.

A etapa seguinte consistiu na purificação: todo o conteúdo de cada tubo foi pipetado em uma coluna de sílica e centrifugado a 10.000g por 1 minuto. O filtro foi retirado cuidadosamente, descartando-se o conteúdo do tubo de coleta e, após a secagem da margem, o filtro foi colocado no mesmo tubo. Então, adicionaram-se 500µl de WB1 na coluna de sílica, sendo centrifugada a 10.000g por 1 minuto. Novamente o filtro foi retirado com cuidado, descartando-se o conteúdo do tubo de coleta e, após a secagem da margem do tubo, este foi recolocado no mesmo tubo. Acrescentaram-se 500µl de WB2 na coluna, os tubos foram centrifugados a 18.000g por 2 minutos, os filtros foram retirados e os tubos, descartados e substituídos por novos tubos de coleta. Estes foram centrifugados a 18.000 até 20.000g por 3 minutos, descartados e os seus filtros, colocados em um tubo Eppendorf.

Na etapa final (eluição), adicionou-se o Genomic Elution Buffer (30µl) em cada coluna, os tubos foram incubados por 1 minuto e centrifugados à velocidade máxima por 1 minuto.

Em seguida, adicionaram-se 25µl do mesmo tampão a cada coluna, as quais foram centrifugadas à velocidade máxima por 3 minutos e os tubos foram estocados a -80°C. O protocolo elaborado e empregado na etapa de extração encontra-se no Apêndice C. Em seguida, as amostras foram amplificadas pela técnica da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR).

4.5.2 Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)

A PCR consiste numa técnica através da qual são produzidas milhões de cópias de um ou mais genes, a partir de uma mínima quantidade de material genético de uma amostra. Esta técnica, cuja principal vantagem é a alta sensibilidade, utiliza ciclos repetidos de síntese de DNA para replicar uma sequência-alvo presente numa amostra-problema, até obter um número de cópias suficiente para ser detectado. Para isso, é necessária a presença de oligonucleotídeos complementares a ambas as cadeias de DNA da sequência, conhecidos como *primers* ou iniciadores específicos, que são curtos pedaços sintéticos de DNA. Uma reação de PCR geralmente apresenta entre 30 a 50 ciclos, sendo que cada ciclo apresenta três estágios (desnaturação, anelamento e extensão) e, após cada ciclo, a quantidade de cópias aumenta exponencialmente, resultando na produção de milhões de cópias do gene ao final da reação. (MAYER; LORENZO, 2004) Aqui serão descritas as etapas das PCRs empregadas neste estudo.

4.5.2.1 Seleção dos primers

Para a amplificação das amostras de DNA pela técnica de PCR, foram utilizados pares de *primers* específicos (GONCHAROFF et al., 1993; SAKAMOTO et al., 2001; BAUMGARTNER et al., 1999) para cinco periodontopatógenos: *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* e *Prevotella intermedia* (Quadro 1). Quando necessário, empregou-se um par de *primers* universais para detecção da sequência 16S rDNA – quando os produtos das PCRs de uma amostra resultaram em bandas fracas ou inexistentes foram utilizados esses *primers* para confirmar a presença de DNA bacteriano na amostra.

4.5.2.2 Preparação de Master Mix e condições da amplificação por PCR

A amplificação por PCR para a detecção de DNA bacteriano nas amostras de biofilme subgingival foi realizada em volume final de 25µL, utilizando-se os valores mostrados nos Quadros 2 e 3. A reação de amplificação foi realizada em um termociclador, inicialmente programado para 94 °C por 5 minutos, e terá 40 ciclos, em que: o estágio de desnaturação foi a 94 °C por 20 segundos; o anelamento, por 20 segundos com as temperaturas adequadas para cada par de *primers* (Quadro 1); a extensão foi feita a 72 °C por 30 segundos e, ao final, para a completa extensão do DNA, utilizou-se uma temperatura de 72°C por 4 minutos.

Quadro 1 - Nomenclatura, sequência, temperatura de anelamento e tamanho dos amplicons produzidos dos pares de *primers* espécie-específicos para PCR.

Micro-organismos	Sequência de Oligonucleotídeos 5' 3'	Temperatura de anelamento (°C)	Tamanho (pb)
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	AGG CAG CTT GCC ATA CTG CG ACT GTT AGC AAC TAC CGA TGT	59	404
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	CTA GGT ATT GCG AAA CAA TTT G CCT GAA ATT AAG CTG GTA ATC	56	262
<i>Treponema denticola</i>	TAA TAC CGA ATG TGC TCA TTT ACA T TCA AAG AAG CAT TCC CTC TTC TTC TTA	58	316
<i>Tannerella forsythia</i>	GCG TAT GTA ACC TGC CCG CA TGC TTC AGT GTC AGT TAT ACC T	62	641
<i>Prevotella intermedia</i>	CGT GGA CCA AAG ATT CAT CGG TGG A CCG CTT TAC TCC CCA ACA AA	60	259

Fonte: Elaboração da autora.
Legenda: pb: pares de bases

Quadro 2 – Valores utilizados para preparo do master mix das reações de PCR para *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola* e *Prevotella intermedia*.

	Concentração inicial	Concentração final	Volume de uma reação (µL)
PCR buffer sem MgCl ₂	10X	1X	2,5
BSA	1Mm	0,04 mM	1,0
dNTPs	2,5 mM	0,2 mM	2,0
MgCl ₂	50 mM	2,5 mM	1,25
<i>Primer Forward</i>	10 µM	0,3µM	0,75
<i>Primer Reverse</i>	10µM	0,3µM	0,75

Platinum Taq Polymerase (Invitrogen™)	5U/μL	0,02U/μL	0,1
DNA-Template	1	0,1	2,5
H₂O livre de RNase	-	-	14,15
Total	-	-	25μL

Fonte: Elaboração da autora.

Quadro 3 – Valores utilizados para preparo do master mix das reações de PCR para *Tannerella forsythia*.

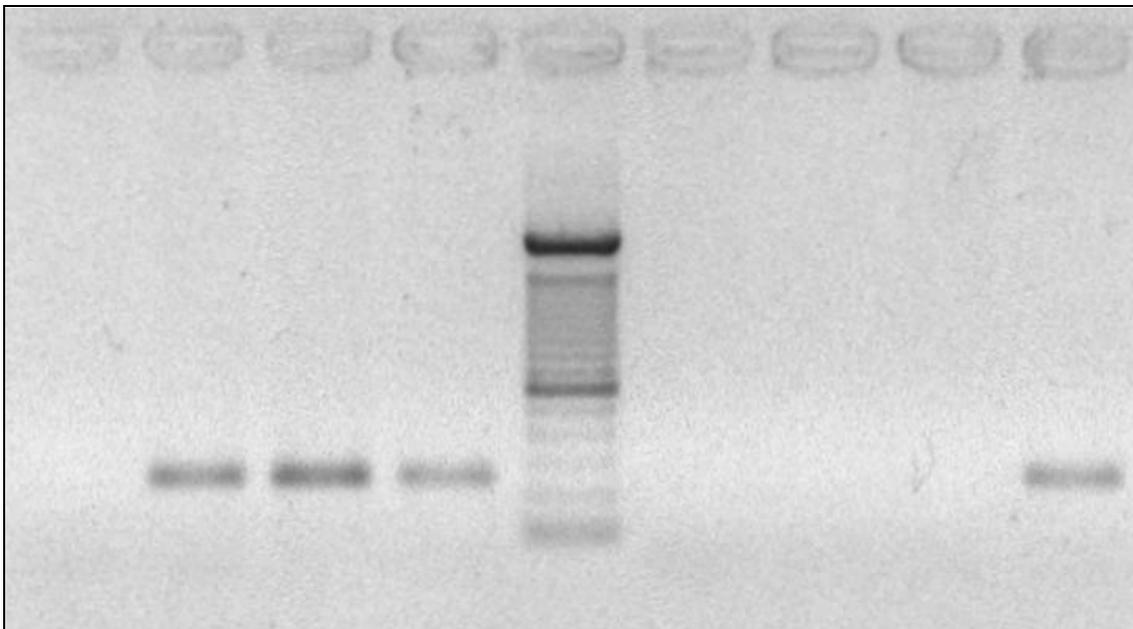
	Concentração inicial	Concentração final	Volume de uma reação (μL)
PCR buffer sem MgCl₂	10X	1X	2,5
BSA	1mM	0,04 mM	1,0
dNTPs	2,5 mM	0,2 mM	2,0
MgCl₂	50 mM	4,0 mM	2,0
Primer Forward	10 μM	0,5μM	1,25
Primer Reverse	10μM	0,5μM	1,25
Platinum Taq Polymerase (Invitrogen™)	5U/μL	0,02U/μL	0,1
DNA-Template	1	0,1	2,5
H₂O livre de RNase	-	-	12,4
Total	-	-	25μL

Fonte: Elaboração da autora.

4.5.3 Detecção dos Produtos de PCR por Eletroforese em Gel de Agarose

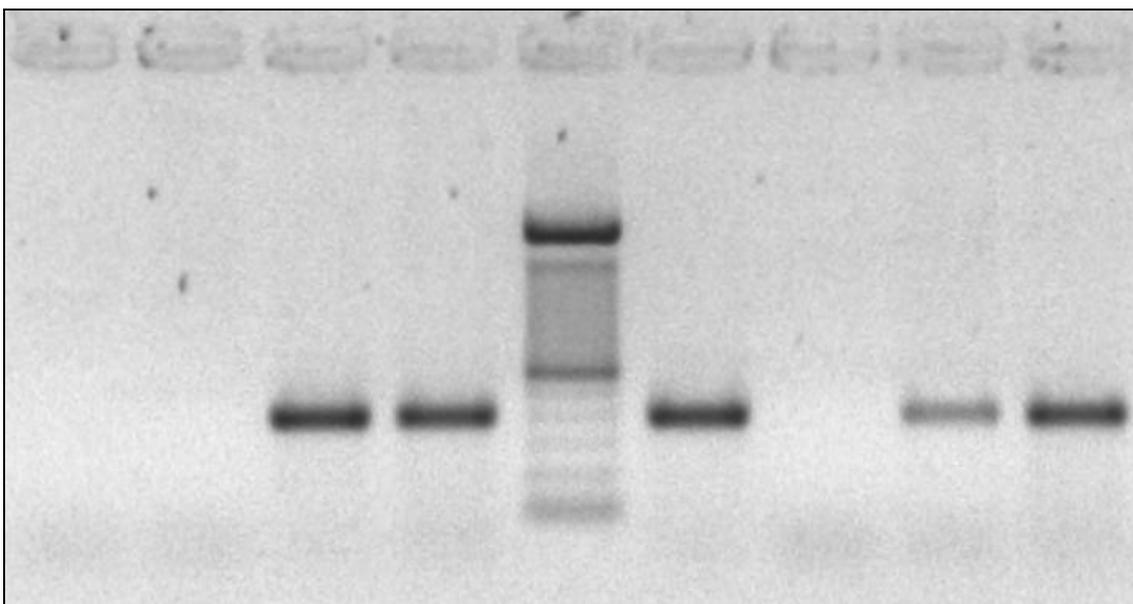
Os produtos da amplificação (10μL) foram observados e comparados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% em tampão 1X TAE, corado com SYBR® Safe DNA Gel Stain (Invitrogen™) e fotografado sob um transiluminador de luz azul (Figuras 2 a 6). Como marcador molecular, utilizou-se escada de DNA de 100 pb (Invitrogen™).

Figura 2 - Amplificação por PCR de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* utilizando *primers* específicos. Tamanho esperado dos produtos: 262 pb. Poço 5: escada de DNA de 100 pb. Poços 2, 3, 4, 9: amostras demonstrando ampliações da sequência alvo (presença de banda). Poços 1, 6, 7, 8: nenhuma amplificação (ausência de banda).



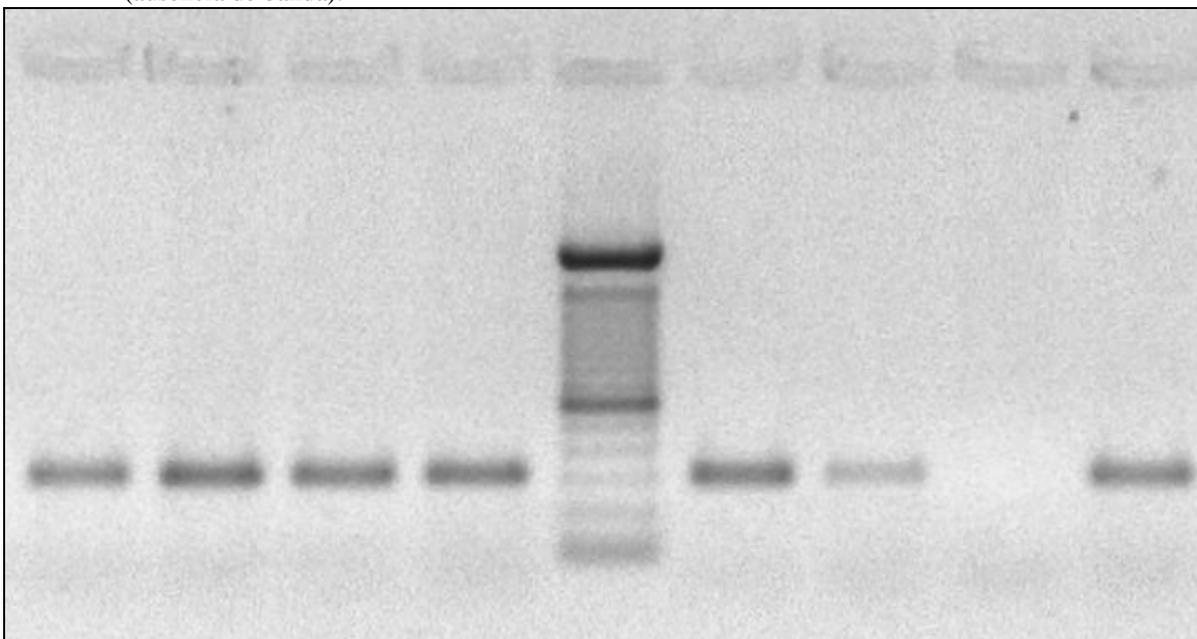
Fonte: Elaboração da autora.

Figura 3 - Amplificação por PCR de *Porphyromonas gingivalis* utilizando *primers* específicos. Tamanho esperado dos produtos: 404 pb. Poço 5: escada de DNA de 100 pb. Poços 3, 4, 6, 8, 9: amostras demonstrando ampliações da sequência alvo (presença de banda). Poços 1, 2, 7: nenhuma amplificação (ausência de banda).



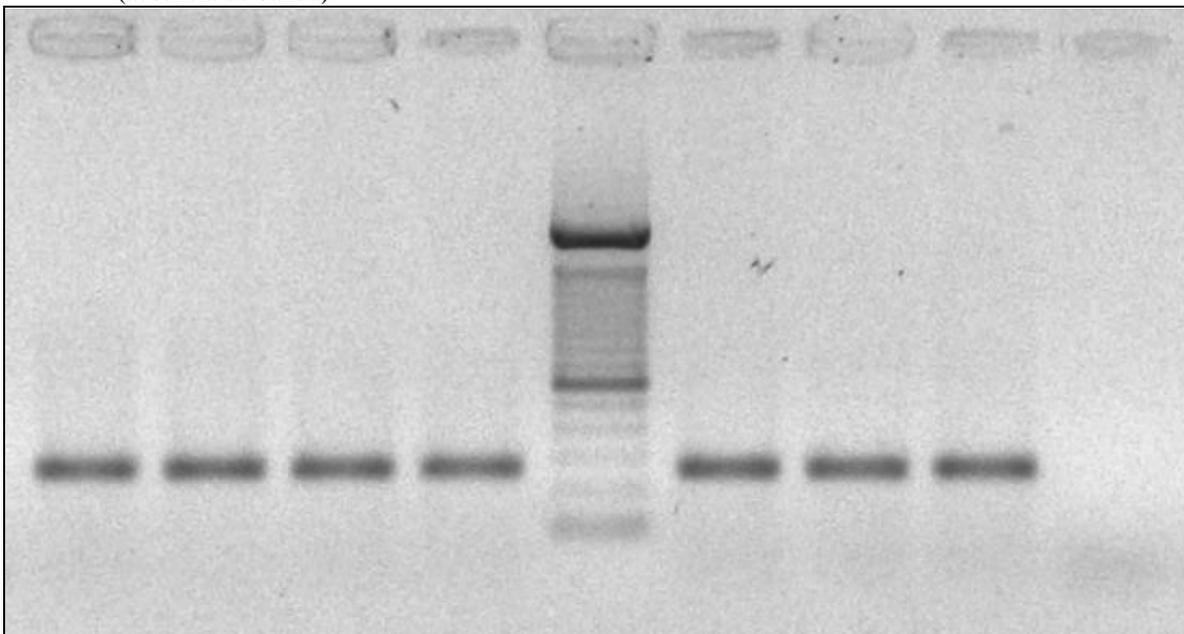
Fonte: Elaboração da autora.

Figura 4 - Amplificação por PCR de *Treponema denticola* utilizando *primers* específicos. Tamanho esperado dos produtos: 316 pb. Poço 5: escada de DNA de 100 pb. Poços 1, 2, 3, 4, 6, 7, 9: amostras demonstrando ampliações da sequência alvo (presença de banda). Poço 8: nenhuma amplificação (ausência de banda).



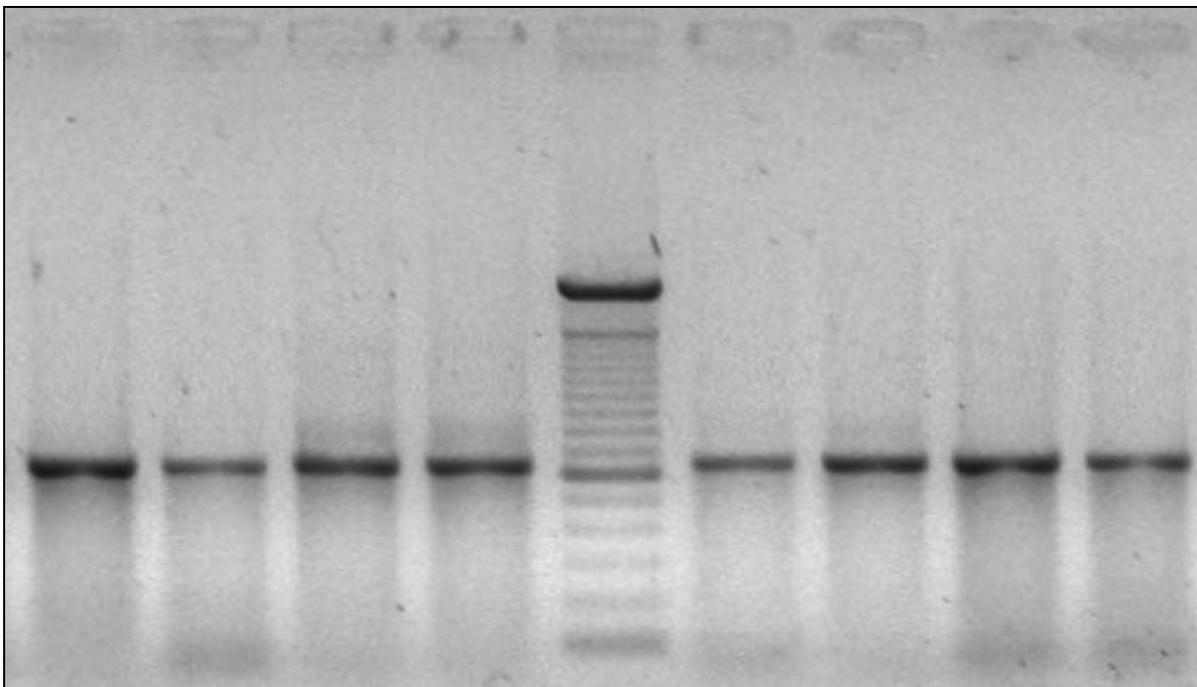
Fonte: Elaboração da autora.

Figura 5 - Amplificação por PCR de *Prevotella intermedia* utilizando *primers* específicos. Tamanho esperado dos produtos: 259 pb. Poço 5: escada de DNA de 100 pb. Poços 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8: amostras demonstrando ampliações da sequência alvo (presença de banda). Poço 9: nenhuma amplificação (ausência de banda).



Fonte: Elaboração da autora.

Figura 6 - Amplificação por PCR de *Tannerella forsythia* utilizando *primers* específicos. Tamanho esperado dos produtos: 641 pb. Poço 5: escada de DNA de 100 pb. Todas as amostras demonstraram ampliações da sequência alvo (presença de banda).



Fonte: Elaboração da autora.

4.6 DESCRIÇÃO DAS VARIÁVEIS

A seguir, apresentam-se as variáveis e covariáveis empregadas neste estudo.

4.6.1 Variável dependente: Peso ao nascer - variável dicotômica. Considerou-se a presença ou ausência do peso ao nascer <2500 gramas, de acordo com os critérios descritos anteriormente (item 4.6).

4.6.2 Variáveis independentes: Presença de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* e *Prevotella intermedia* - variáveis dicotômicas. Considerou-se a presença ou ausência das bactérias supracitadas no biofilme subgengival das puérperas.

4.6.3 Covariáveis

Apresentam-se, a seguir, as covariáveis deste estudo, em número de três.

4.6.3.1 Sociodemográficas

- Idade - idade em anos, referida na data da entrevista. Covariável dicotômica. Considerou-se idade entre: 18-35 anos ou 14-17 anos/>36 anos;
- Nível socioeconômico – indicador baseado na escolaridade materna (em anos de estudo) e renda familiar *per capita* (em salários-mínimos). Covariável dicotômica. Para obtenção do nível de escolaridade, considerou-se mais do que 4 anos de estudo ou de 0 a 4 anos de estudo. Para a renda familiar, considerou-se renda maior do que 1 salário-mínimo ou de 0 a 1 salário-mínimo;
- Tamanho da família (número de pessoas que residem no domicílio). Covariável dicotômica. Considerou-se a presença de 4 ou mais residentes no domicílio ou menos do que 4 pessoas;
- Situação conjugal - com ou sem cônjuge. Covariável dicotômica. Considerou-se a condição com cônjuge (casada ou em união estável) ou sem cônjuge (solteira, viúva ou separada).

4.6.3.2 História gestacional e condições pré-existentes

- Patologias pré-existentes: hipertensão arterial, diabetes insulínica. Covariável dicotômica. Considerou-se a presença ou ausência destas patologias.
- IMC pré-gestacional: índice de massa corporal antes da gestação. Covariável dicotômica. Considerou-se um IMC maior do que 18,5 ou igual/menor do que 18,5;
- Histórico de nascidos com baixo peso: covariável dicotômica. Considerou-se a presença ou ausência da ocorrência de nascimentos anteriores de bebês com baixo peso;
- Fumo durante a gestação: covariável dicotômica. Considerou-se a presença ou ausência desse hábito no período gestacional.

4.6.3.3 Aspectos relacionados à saúde bucal

- Periodontite: covariável dicotômica.

Considerou-se a presença ou ausência de periodontite, de acordo com os critérios descritos anteriormente (item 4.6).

- Escovação após refeições: covariável dicotômica.

Considerou-se a presença ou ausência desse hábito durante a gestação;

- Uso de fio/fita dental: covariável dicotômica.

Considerou-se a presença ou ausência desse hábito durante a gestação;

- Visita ao cirurgião-dentista durante a gravidez: covariável dicotômica.

Considerou-se a presença ou ausência de visitas ao dentista na gestação.

- Recebeu orientação do dentista sobre higiene bucal: covariável dicotômica.

Considerou-se a presença ou ausência de orientações sobre higiene bucal durante a gestação.

4.7 ANÁLISE DOS DADOS

Inicialmente, foi realizada a análise descritiva das variáveis gerais de caracterização dos grupos em estudo, obtendo-se as frequências simples e relativas para as variáveis categóricas e as medidas de tendência central e de dispersão para as variáveis contínuas, observando-se graficamente a natureza das distribuições.

Para avaliar o grau de homogeneidade ou comparabilidade entre os grupos, no que se refere tanto às suas características de interesse quanto às frequências alélicas e genotípicas, foi empregado o teste Qui-quadrado de Pearson, com nível de significância de 5%. Ao final da realização desses procedimentos, estimou-se a OR bruta para cada tipo de associação em estudo, utilizando-se o teste de Mantel-Haenszel. Os dados foram processados no programa SPSS versão 19.

4.8 ASPECTOS ÉTICOS

Para a sua realização, este trabalho foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Estadual de Feira de Santana e aprovado, conforme o registro sob protocolo N^o 152/2008, CAAE 0151.0.059.000-08 (ANEXO A). Todas as puérperas foram esclarecidas quanto aos objetivos e etapas da investigação, participando de forma espontânea e voluntária, com posterior assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE D). O exame periodontal realizado na cavidade bucal das

participantes serve para avaliar a presença e a gravidade da doença periodontal, não representando risco à saúde da participante. Os resultados dos exames registrados nos cartões das gestantes e prontuários médicos foram avaliados, bem como o peso ao nascer, para observar se existe relação com a condição bucal. Os resultados desta pesquisa servirão para cirurgiões-dentistas e outros profissionais de saúde compreender melhor o papel das doenças periodontais como um possível fator de risco para a ocorrência do baixo peso ao nascer. Os dados obtidos foram confidenciais e de responsabilidade dos profissionais envolvidos na pesquisa. Além disso, quando detectada alguma necessidade de atendimento odontológico, os pacientes foram encaminhados para o Curso de Odontologia da UEFS para que fossem realizados os procedimentos devidos.

5 RESULTADOS

Foram avaliadas 303 puérperas no estudo, classificadas de acordo com o desfecho peso ao nascer do recém-nascido. Desta forma, 79 (26,1%) mulheres formaram o grupo de mães de recém-nascidos com peso < 2500g (Grupo A) e 224 (73,9%), o grupo de mães de recém-nascidos com peso ≥ 2500g (Grupo B). A média de idade das participantes do grupo A foi de 23 anos (\pm 7,0 anos), com limite mínimo de 13 anos e máximo de 57 anos. Já a média de idade das participantes do grupo B foi de 24,6 anos (\pm 6,1 anos), com limite mínimo e máximo de 13 e 52 anos, respectivamente.

A avaliação das características gerais das puérperas demonstrou que ambos os grupos são homogêneos sob os aspectos da renda familiar, escolaridade materna, densidade domiciliar e situação conjugal. Entretanto, a idade das participantes foi estatisticamente diferente entre os grupos, como pode se observar na Tabela 1, com 84,37% das puérperas do grupo B com idades de 18 a 35 anos, contra 62,02% das puérperas do grupo A, nessa faixa etária (p=0.000).

No que se refere aos aspectos relacionados à saúde da gestante, os grupos apresentaram homogeneidade nas covariáveis fumo durante a gestação, diabetes insulínica independente e hipertensão (Tabela 1). Entretanto, entre as mulheres que tiveram bebês com peso inferior a 2500g, 14,29% apresentaram IMC inferior a 18,5, enquanto que o percentual naquelas que tiveram bebês com peso igual ou superior a 2500g foi de 3,18% (p=0,000). Adicionalmente, as mães do grupo A tiveram maior frequência de histórico de gestações anteriores com o nascimento de bebês com baixo peso, quando comparadas com as do grupo B (26,20 vs 9,28; p=0,004).

Tabela 1 - Aspectos sociodemográficos dos grupos de mães de recém-nascidos com peso < 2500g (GRUPO A) e de mães de recém-nascidos com peso ≥ 2500g (GRUPO B). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2013 (n=303).

Características	GRUPO A	GRUPO B	P*#
Idade (em anos)			
18-35 anos	49 (62,02%)	189 (84,37%)	0,000
14-17 anos e > 36 anos	30 (37,98%)	35 (15,63%)	
Nível de escolaridade materna (em anos de estudo)⁵			
> 4 anos	66 (83,54%)	181 (82,64%)	0,856

0-4 anos	13 (16,46%)	38 (17,36%)	
Renda familiar (em salário mínimo)³			
>1 salário mínimo	25 (32,05%)	68 (30,64%)	
0-1 salário mínimo	53 (67,95%)	154 (69,36%)	0,815
Densidade domiciliar			
≥ 4 pessoas	25 (31,64%)	63 (28,13%)	
< 4 pessoas	54 (68,36%)	161 (71,87%)	0,553
Situação conjugal³			
Casada/união estável	64 (82,05%)	180 (81,08%)	0,850
Solteira/viúva/divorciada	14 (17,95%)	42 (18,92%)	
Fumou durante a gestação/²¹			
Não	71 (93,42%)	199 (96,60%)	0,240
Sim	5 (6,58%)	7 (3,40%)	
IMC pré-gestacional/⁶			
>18,5	66 (85,71%)	213 (96,82%)	0,000
≤18,5	11 (14,29%)	7 (3,18%)	
Hipertensão arterial/³			
Não	62 (78,48%)	183 (82,80%)	0,394
Sim	17 (21,52%)	38 (17,20%)	
Diabetes insulínica dependente (Tipo 1)³			
Não	76 (96,20%)	210 (95,02%)	
Sim	3 (3,80%)	11 (4,98%)	0,670
Histórico de nascidos com baixo peso/^{**}			
Não	31 (73,80%)	137 (90,72%)	0,004

Sim 11 (26,20%) 14 (9,28%)

Fonte: Elaboração da autora.

Legenda: * Valor de p: nível de significância $\leq 0,05$; /^x – Número de informações perdidas; ** – Covariável não aplicável em 110 casos; # – Teste Qui-quadrado de Pearson.

Avaliando as condições de saúde bucal, pôde-se observar que as mulheres do grupo A tiveram maior frequência de periodontite (33,34%) em relação às mulheres do grupo B (16,22%). Entretanto, os dois grupos não apresentaram diferenças quanto aos aspectos comportamentais relacionados à saúde bucal, como escovação após as refeições, uso de fio dental, visita ao cirurgião-dentista durante a gravidez e orientação desse profissional sobre saúde bucal (Tabela 2).

Tabela 2 - Aspectos relacionados à saúde bucal dos grupos de mães de recém-nascidos com peso <2500g (GRUPO A) e de mães de recém-nascidos com peso ≥ 2500 g (GRUPO B). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2013 (n=303).

Características	GRUPO A	GRUPO B	P*
Periodontite/³			
Não	52 (66,66%)	186 (83,78%)	0,001
Sim	26 (33,34%)	36 (16,22%)	
Escovação após refeições/¹			
Sim	78 (98,73%)	213 (95,51%)	0,189
Não	1 (1,27%)	10 (4,49%)	
Uso de fio dental/³			
Sim	28 (35,89%)	76 (34,24%)	0,791
Não	50 (64,11%)	146 (65,76%)	
Visita ao cirurgião-dentista durante a gravidez/⁶			
Sim	21 (26,92%)	69 (31,51%)	
Não	57 (73,08%)	150 (68,49%)	0,449
Recebeu orientação do dentista sobre higiene bucal /²⁹			

Sim	13 (17,10%)	53 (26,77%)	
Não	63 (82,90%)	145 (73,23%)	0,094

Fonte: Elaboração da autora.

Legenda: * Valor de p: nível de significância $\leq 0,05$; /^X – Número de informações perdidas.

As amostras de biofilme subgingival foram testadas, utilizando PCR e exemplos das detecções dos periodontopatógenos *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia* e *Tannerella forsythia* foram demonstrados nas Figuras 2 a 6. Foi observada uma alta frequência de detecção positiva dos periodontopatógenos no biofilme subgingival, tanto no grupo de puérperas que tiveram bebês com peso inferior a 2500g, quanto no grupo de puérperas cujos bebês tiveram peso igual ou superior a 2500g. Como se observa na Tabela 3, a presença de *T. forsythia* foi bastante elevada, com uma frequência de 98,73% para o grupo A e 100% para o grupo B.

Os dados observados não demonstraram a existência de associação entre a presença dos periodontopatógenos estudados no biofilme subgingival da mãe e o nascimento de bebês com peso inferior a 2500g, mesmo quando testada a ocorrência destes patógenos em coinfeção, ou seja, a presença de dois ou mais patógenos na mesma puérpera. Essa ausência de associação se manteve mesmo após o ajuste para as covariáveis idade materna e IMC pré-gestacional.

Tabela 3 - Frequências dos cinco periodontopatógenos nas amostras de biofilme subgingival, detectados através de PCR, entre os grupos de mães de recém-nascidos com peso < 2500g (Grupo A) e de mães de recém-nascidos com peso ≥ 2500 g (Grupo B). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2013 (n=303).

Periodontopatógenos	GRUPO A	GRUPO B	P*	OR (IC)**
<i>Aggregatibacter Actinomycetemcomitans</i>				
Sim	51 (64,55%)	138 (61,60%)	0,642	0,88
Não	28 (35,45%)	86 (38,40%)		(0,517-1,503)
<i>Porphyromonas gingivalis</i>				
Sim	50 (63,29%)	137 (61,16%)	0,738	0,91
Não	29 (36,71%)	87 (38,84%)		(0,537-1,553)

<i>Treponema denticola</i>				
Sim	70 (88,60%)	193 (86,16%)	0,581	0,80
Não	9 (11,40%)	31 (13,84%)		(0,363-1,765)
<i>Tannerella forsythia</i>				
Sim	78 (98,73%)	224 (100%)	0,092	-
Não	1 (1,27%)	0		
<i>Prevotella intermedia</i>				
Sim	63 (79,74%)	168 (75%)	0,394	0,76
Não	16 (20,26%)	56 (25%)		(0,407-1,426)
Coinfecção				
2 espécies detectadas	11 (13,92%)	41 (18,3%)	0,375	1,39
Mais de 2 espécies detectadas	68 (86,08%)	183 (81,7%)		(0,673-2,849)

Fonte: Elaboração da autora.

Legenda: * Valor de p: nível de significância $\leq 0,05$; ** OR (IC): *Odds Ratio* (Intervalo de Confiança).

Para uma melhor compreensão sobre as condições de infecção bucal das gestantes, foi efetuada uma divisão das mulheres quanto à presença e ausência de periodontite (grupos CP e SP, respectivamente), e observada a frequência dos patógenos periodontais (Tabela 4). A presença de *P. gingivalis* e *P. intermedia* foi detectada com maior frequência entre as mulheres com periodontite (74,19% e 88,7%, respectivamente), quando comparadas com aquelas sem o diagnóstico da doença (58,4% e 72,68%, respectivamente). A presença de mais de dois patógenos também foi mais frequente nas puérperas com periodontite (91,93% vs 80,26; $p=0,03$). Foi possível também observar uma alta prevalência de *T. forsythia* nos dois grupos estudados.

Tabela 4 - Frequências dos cinco periodontopatógenos nas amostras de biofilme subgingival, detectados através de PCR, entre os grupos de puérperas classificadas sem periodontite (Grupo SP) e com periodontite (Grupo CP). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2013 (n=300).

Periodontopatógenos	GRUPO SP	GRUPO CP	P*#
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ³			
Sim	145 (60,92%)	43 (69,35%)	0,222
Não	93 (39,08%)	19 (30,65%)	
<i>Porphyromonas gingivalis</i> ³			
Sim	139 (58,40%)	46 (74,19%)	0,023
Não	99 (41,60%)	16 (25,81%)	
<i>Treponema denticola</i> ³			
Sim	203 (85,29%)	57 (91,93%)	0,171
Não	35 (14,71%)	5 (8,07%)	
<i>Tannerella forsythia</i> ³			
Sim	238 (100%)	61 (98,38%)	0,050
Não	0	1 (1,62%)	
<i>Prevotella intermedia</i> ³			
Sim	173 (72,68%)	55 (88,70%)	0,009
Não	65 (27,32%)	7 (11,30%)	
Coinfecção ³			
2 espécies detectadas	47 (19,74%)	5 (8,07%)	
Mais de 2 espécies detectadas	191 (80,26%)	57 (91,93%)	0,030

Fonte: Elaboração da autora.

Legenda: * Valor de p: nível de significância $\leq 0,05$; ³ – Número de informações perdidas; # – Teste Qui-quadrado de Pearson.

6 DISCUSSÃO DOS DADOS

Os achados principais do estudo não demonstraram associação entre os fatores de exposição estudados, a saber: presença dos periodontopatógenos - *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* e *Prevotella intermedia* - e o desfecho peso ao nascer inferior a 2500g. Esses resultados são suportados por outros estudos (MADIANOS et al., 2001; JARJOURA et al., 2005; NOACK et al., 2005; BUDUNELI et al., 2005; VETTORE et al., 2008; AFRICA; KAYITENKORE; BAYINGANA, 2010; MESA et al., 2012), inclusive por estudo recente em que as amostras foram analisadas utilizando método mais sensível - PCR em tempo real ou qPCR. (NOVAK et al., 2008) Outros estudos, no entanto, observaram esta associação. (OFFENBACHER et al., 1998; MITCHELL-LEWIS et al., 2001; HASEGAWA et al., 2003; DÖRTBUDAK et al., 2005; LIN et al., 2007; LEÓN et al., 2007) As diferenças entre os estudos poderiam ser explicadas, em parte, por variações no tamanho da amostra, tendo em vista que a maioria desses estudos que observaram a associação foi feita com um número de participantes bastante reduzido. Além disso, os critérios clínicos utilizados para definir doença periodontal e o número de amostras e de espécies bacterianas avaliadas também poderiam explicar essas divergências.

No presente estudo, foram examinadas 303 puérperas, o que fornece um poder de 80% para análise do estudo. Esta quantidade de mulheres examinadas é superior à da maioria dos estudos encontrados na literatura, representando um avanço nas investigações microbiológicas relacionadas aos desfechos indesejáveis da gestação. (MITCHELL-LEWIS et al., 2001; DÖRTBUDAK et al., 2005; BUDUNELI et al., 2005; NOACK et al., 2005; VETTORE et al., 2008; SOUCCAR et al., 2010; AFRICA; KAYITENKORE; BAYINGANA, 2010) Além disso, muitos estudos apresentam a limitação do número de amostras de biofilme avaliadas, geralmente de duas a quatro por participante, o que pode subestimar a infecção periodontal presente. (OFFENBACHER et al., 1998; NOACK et al., 2005; BUDUNELI et al., 2005) Neste estudo, foram coletadas seis amostras de biofilme subgengival de cada voluntária, provenientes dos sítios com a condição periodontal mais comprometida em cada sextante.

A avaliação das características gerais das puérperas demonstrou homogeneidade na população estudada para diversos aspectos que poderiam atuar como fatores de risco para complicações na gravidez. (TRENTIN et al., 2007; MORAES et al., 2012) Entretanto, observou-se que a idade materna foi estatisticamente diferente entre os grupos, com 84,37% das puérperas do grupo B, com idades de 18 a 35 anos, contra 62,02% das puérperas do grupo A. Trinta mulheres (37,98%) do grupo A encontravam-se em faixas etárias de 14-17 anos e >

36 anos, o que representa um risco para a ocorrência de desfechos gestacionais adversos. (BUDUNELI et al., 2005)

No que se refere aos aspectos relacionados à saúde da gestante e histórico gestacional, a maioria das mulheres do grupo A apresentou IMC inferior a 18,5 (14,29% vs 3,18% no grupo B) e teve uma maior frequência de histórico de gestações anteriores com o nascimento de bebês com baixo peso (26,20% vs 9,28%). Esses achados podem estar relacionados a fatores de risco materno que não foram contemplados no estudo, mas que poderiam influenciar na ocorrência do nascimento de bebês com baixo peso, como condições socioeconômicas desfavoráveis, má nutrição, suscetibilidade genética, entre outros. (CASTILLO-SALGADO; LOYOLA; ROCA, 2001; KOTHIWALE; PANWAR, 2011; MORAES et al., 2012)

Outro dado importante que pôde ser detectado foi a alta prevalência dos periodontopatógenos estudados, tanto no grupo de puérperas que tiveram bebês com peso inferior a 2500g, quanto no grupo daquelas que tiveram bebês com peso igual ou superior a 2500g. Para exemplificar, todas as mulheres do grupo B receberam diagnóstico positivo quanto à presença de *T. forsythia* e no grupo A, apenas uma puérpera não foi positiva para este patógeno. A alta prevalência de *P. intermedia* em ambos os grupos também é um dado relevante, haja vista a sua relação com as alterações hormonais ocorridas durante a gestação. (DI PLACIDO et al., 1998; LORENZO; MAYER, 2004; GÜRSOY et al., 2009; CARRILLO-DE-ALBORNOZ et al., 2010; MACHADO et al., 2012) Os dados encontrados concordam com os estudos de Buduneli e colaboradores (2005), Noack e colaboradores (2005), Vettore e colaboradores (2008) e Novak e colaboradores (2008), os quais não encontraram diferenças estatisticamente significantes dos níveis de micro-organismos entre mulheres que tiveram parto prematuro ou bebês com baixo peso ao nascer e aquelas que não tiveram esses desfechos.

A alta prevalência dos patógenos poderia ser explicada pela existência do que Dumitrescu e Ohara (2010) chamaram de “estado portador”. Neste, os patógenos poderiam ser transportados em baixas quantidades nas cavidades bucais livres de doenças periodontais destrutivas, o que tornaria mais difícil a avaliação do seu papel na doença. Além disso, sabe-se que na gravidez o desequilíbrio hormonal favorece o crescimento de patógenos periodontais. Outros estudos também observaram altos níveis de diversos patógenos em gestantes (MACHADO et al., 2012) e modificações qualitativas do biofilme subgengival do

estado grávida para o pós-parto - três meses após o parto (CARRILLO-DE-ALBORNOZ et al., 2010), o que corrobora os achados deste estudo.

Outro aspecto que deve ser apontado é o momento da coleta do biofilme subgingival, feita em até dois dias após o parto. Tanto o período que antecede o parto, como o pós-parto certamente representam momentos de muito estresse e desgaste físico e emocional para as mulheres. Estudos têm sugerido o papel do estresse como fator de risco para o desenvolvimento da doença periodontal (GENCO et al., 1999; MARQUES et al., 2001; ZARDO et al., 2011), sendo inclusive a modificação do comportamento do paciente um dos mecanismos da influência do estresse e dos fatores psicossociais nas condições periodontais. Indivíduos com altos níveis de estresse tendem a piorar seus hábitos, de modo a influenciar negativamente na saúde periodontal, tais como: negligência da higiene bucal, aumento do consumo de cigarros e ingestão de bebidas alcoólicas, descontrole do diabetes, mudança na dieta, o que resulta em desequilíbrio das funções do sistema imune. (GENCO et al., 1999) Sendo assim, a mudança no autocuidado com a saúde bucal pode ter contribuído para a alta frequência de detecção dos patógenos em ambos os grupos. Para tentar avaliar essa influência, as mulheres poderiam ter sido questionadas quanto à percepção da existência ou não de qualquer tipo de alteração de hábitos de higiene no período pré e pós-parto.

As bactérias periodontais são geralmente mais encontradas em combinação nas bolsas periodontais do que sozinhas, sendo a doença causada por uma combinação de duas ou mais espécies microbianas, o que torna ainda mais complexo o seu estudo. (DUMITRESCU; OHARA, 2010). Em razão das características de cooperação e interação entre os diversos patógenos (YONEDA et al., 2005; TAMAI; DENG; KIYOURA, 2009), foi necessário também avaliar a ocorrência de coinfeção nas mulheres estudadas. Análises prévias demonstraram que a dicotomização apenas levando em consideração a presença ou ausência de coinfeção não foi suficientemente específica para a observação desta covariável nem para a associação com a periodontite, doença da qual os patógenos estudados representam o fator etiológico primário. Diante disso, decidiu-se pela categorização em: presença de até dois patógenos e presença de três ou mais patógenos. Esta categorização possibilitou a demonstração de uma associação positiva entre a presença de três ou mais patógenos e a ocorrência de periodontite. Bayingana (2005) detectou os três membros do complexo vermelho em 16,6% de 66 gestantes avaliadas. Nestas gestantes, a combinação TF/PG esteve presente em 18%, seguida de PG/TD (6%) e TF/TD (4%). Entretanto, não foi possível observar associação com a variável dependente do estudo, peso ao nascer inferior a 2500g.

Estes achados reforçam a ideia de que apenas a presença dos periodontopatógenos como fator de exposição não é suficiente para determinar o desfecho estudado.

Tendo em mente as possíveis vias envolvidas no mecanismo de associação entre doença periodontal e desfechos gestacionais adversos, propostas por Bobetsis, Barros e Offenbacher (2006), os achados do presente estudo sugerem que a via indireta seria a mais provável. Uma vez que ambos os grupos não apresentaram diferenças com relação à detecção dos patógenos, sugere-se que não a presença do patógeno, mas sim o padrão de resposta imunoinflamatória da gestante àqueles patógenos poderia atuar como um fator determinante para a ocorrência do baixo peso ao nascer. Segundo Peruzzo e colaboradores (2008), apesar da consistente etiologia bacteriana, as bactérias, por si só, não são capazes de provocar avançada destruição tecidual em todos os indivíduos, o que sugere que há diferenças na resposta individual e na capacidade de adaptação a certa quantidade de biofilme.

Com relação à condição periodontal, foi possível observar que as puérperas com diagnóstico positivo de periodontite tiveram 2,6 vezes mais chance de desenvolver o desfecho baixo peso ao nascer (dado não mostrado em tabela). Essa medida epidemiológica de associação não levou em consideração outras covariáveis do estudo, mas demonstra a importância da investigação sobre a relação entre periodontite e nascimento de bebês com baixo peso. No estudo de Gomes-Filho e colaboradores (2007), em que foram empregados quatro diferentes critérios para a definição de periodontite, os autores demonstraram a existência de uma associação estatisticamente significativa entre doença periodontal e nascimento prematuro e/ou baixo peso ao nascer. No entanto, apontaram que a magnitude da associação e a frequência de DP podem ser influenciadas pelas diferentes medidas, uma vez que quanto mais rigoroso o critério de definição de DP, menor a frequência da doença.

No critério proposto por Gomes-Filho e colaboradores (2005), é considerado doente o indivíduo que apresentar pelo menos quatro dentes com, no mínimo, um sítio com profundidade de sondagem maior ou igual a 4mm, perda de inserção maior ou igual a 3mm e sangramento à sondagem, no mesmo sítio. Para a realização do diagnóstico no presente estudo, tentou-se tornar o critério mais sensível, selecionando três dentes ao invés de quatro, como proposto no referido estudo. Esta abordagem foi realizada na tentativa de detectar a doença numa população cujas características incluem idades médias de 23 anos no grupo A e 24,6 anos no grupo B, e melhoria no acesso aos programas de saúde bucal (BRASIL. Ministério da Saúde, 2010; XAVIER, 2013; BARRETO NETO, 2013), diminuindo, conseqüentemente, a prevalência da doença periodontal. (FIGUEIREDO, 2012)

Avaliando-se a frequência de detecção dos periodontopatógenos nos grupos com periodontite (CP) e sem periodontite (SP), observou-se que a presença de *P. gingivalis* e *P. intermedia* foi detectada com maior frequência entre as mulheres com periodontite (74,19% e 88,7%, respectivamente). Esse achado corrobora outros estudos na literatura. (TAKEUCHI et al., 2001; MAYANAGI et al., 2004; KUBONIWA et al., 2004; CARRILLO-DE-ALBORNOZ et al., 2010)

Apesar dos avanços obtidos com esta investigação, torna-se também necessária a discussão a respeito de algumas limitações observadas no presente estudo. Por conta do seu caráter transversal, o desenho metodológico empregado representa um recorte de um dado momento e não permite que seja avaliada uma relação de causalidade. De acordo com Sanz e colaboradores (2013), quando avaliadas dessa forma, as medidas clínicas de doença periodontal não permitem a determinação do impacto das mudanças na gestação e a duração de exposições, ambas relacionadas ao biofilme bacteriano e a estados inflamatórios materno e fetal; assim, são desejáveis pelo menos duas avaliações, realizadas no início/precedendo a gravidez e novamente perto do parto.

Tendo em vista que não apenas a existência ou não de coinfeção, mas a interação específica entre determinados patógenos, tem demonstrado associação significativa com a periodontite (JERVØE-STORM et al., 2005; TANNER; IZARD 2006; BAYINGANA, 2005), o presente estudo poderia ter realizado uma análise do papel dessas interações específicas na periodontite e, principalmente, no nascimento de bebês com baixo peso.

A proposta deste estudo de realizar avaliação da composição microbiana do biofilme subgingival representa um avanço importante, principalmente pelo emprego de método molecular para detecção de diferentes micro-organismos associados às doenças periodontais. Contudo, em razão da técnica de PCR utilizada ter sido qualitativa, as mulheres receberam diagnóstico positivo ou negativo quanto à presença dos patógenos em um *pool* de biofilme obtido de seis sítios diferentes. Embora esta técnica seja proposta como um novo padrão-ouro para a detecção de patógenos (KLEIN; GONÇALVES, 2003) e que muitos autores venham empregando-a nas suas investigações (TAKEUCHI et al., 2001; NOACK et al., 2005; GÜRISOY et al., 2009; ADRIAENS et al., 2009; AFRICA; KAYITENKORE; BAYINGANA, 2010), ela tem a desvantagem de fornecer somente dados qualitativos ou semiquantitativos. Alguns autores apontam que a detecção microbiana só pode produzir

resultados significativos se a carga bacteriana for quantificada. (ASHIMOTO et al., 1996; PAPAPANOU et al., 2000)

Desta forma, a quantificação dessas bactérias no presente estudo por meio de PCR em tempo real (qPCR) poderia elucidar o papel da carga bacteriana na disseminação sistêmica da infecção e da inflamação. Entretanto, essa necessidade é questionável, uma vez que em estudos como o de Novak e colaboradores (2008), mesmo com a utilização dessa avaliação, nenhuma espécie bacteriana alcançou significância estatística após contabilidade para comparações múltiplas; e os níveis iniciais de patógenos selecionados ou mudanças nessas bactérias resultantes da terapia não foram associados com nascimento prematuro. Não obstante, pretende-se fazer uma avaliação quantitativa na amostra utilizada no estudo, com objetivo de se conhecer as características peculiares dessa população em particular.

Em razão da complexidade da etiologia da doença periodontal, a concentração das pesquisas no papel de determinadas espécies ou de grupos seletos de bactérias pode resultar que muitos potenciais agentes patogênicos passem despercebidos. (AFRICA; KAYITENKORE; BAYINGANA, 2010) Recentemente, têm-se destacado a importância do emprego de técnicas de sequenciamento metagenômico, que permitem a triagem da composição genética e potencial funcional de uma comunidade microbiana e proporciona uma visão abrangente desta comunidade associada à saúde periodontal e à periodontite crônica. (WANG et al., 2013) Dessa forma, mais estudos são necessários para explorar a heterogeneidade das comunidades microbianas periodontais nos indivíduos. Além disso, Madianos, Bobetsis e Offenbacher (2013) apontaram que cada espécie pode ter várias cepas com fatores de virulência de diferentes potenciais e a capacidade de cada uma delas para translocar, invadir e colonizar os tecidos fetais e evadir a resposta imune do hospedeiro determina seu potencial para contribuir com desfechos gestacionais adversos.

7 CONCLUSÃO

De acordo com o método empregado neste estudo, conclui-se que, na amostra estudada, a presença das bactérias *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* e *Prevotella intermedia* em puérperas não leva à ocorrência de nascimentos de bebês com peso inferior a 2500g, mesmo sendo altamente prevalentes na população estudada. A realização deste estudo possibilitou a apresentação de mais subsídios que podem contribuir para a elucidação da possível associação entre a infecção periodontal e a ocorrência de nascimento de bebês com baixo peso.

REFERÊNCIAS

ADRIAENS, L. M. et al. Does pregnancy have an impact on the subgingival microbiota?. **Journal of Periodontology**, Indianápolis, v. 80, n. 1, p. 72-81, jan. 2009.

AFRICA, C. W. J.; KAYITENKORE, J.; BAYINGANA, C. Examination of maternal gingival crevicular fluid for the presence of selected periodontopathogens implicated in the pre-term delivery of low birthweight infants. **Virulence**, v. 1, n. 4, p. 254-259, Jul./Aug. 2010.

AGUEDA, A. et al. Periodontal disease as a risk factor for adverse pregnancy outcomes: a prospective cohort study. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 35, n.1 , p. 16–22, 2008.

AINAMO, J.; BAY, I. Periodontal indexes for and in practice. **Tandlaegebladet**, Copenhagen, v. 80, n. 5, p. 149-52, 1976.

ALMEIDA, R. F. et al. Associação entre doença periodontal e patologias sistêmicas. **Revista Portuguesa de Clínica Geral**, Lisboa, v. 22, n. 3, p. 379-90, 2006.

ASHIMOTO A. et al. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. **Oral Microbiology and Immunology**, Copenhagen, v. 11, n. 4, p. 266-73, 1996.

AVILA-CAMPOS, M. J. PCR detection of four periodontopathogens from subgingival clinical samples. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 81-84, 2003.

BARAK, S. et al. Evidence of Periopathogenic Microorganisms in Placentas of Women With Preeclampsia. **Journal of Periodontology**, Indianápolis, v. 78, n. 4, p. 670-676, 2007.

BARRETO NETO, L. O. **Nível glicêmico e doença periodontal materna**. 2013. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.

BASSANI, D. G.; OLINTO, M. T.; KREIGER, N. Periodontal disease and perinatal outcomes: a case-control study. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 34, n. 1, p. 31–39, 2007.

BAUMGARTNER, J. C. et al. Association of black-pigmented bacteria with endodontic infections. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 25, n.6, p. 413-415, 1999.

BAYINGANA, C. **The prevalence of members of the “Red Complex” in pregnant women as revealed by pcr and bana hydrolysis**. 2005. 94 p. Thesis - University of the Western Cape, Bellville.

BITTAR, R. E.; ZUGAIB, M. Determinismo do Parto. In: NEME, B. **Obstetrícia básica**. 3 ed. São Paulo: SARVIER, 2005.

BOBETSIS, Y. A.; BARROS, S. P.; OFFENBACHER, S. Exploring the relationship between periodontal disease and pregnancy complications. **Journal of the American Dental Association**, Chicago, v. 137, suppl. 2, p. 7-13, 2006.

BOGGESS, K. A. et al. Chronic maternal and fetal *Porphyromonas gingivalis* exposure during pregnancy in rabbits. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 192, n. 2, p.554-557, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. DATASUS. **Proporção de nascidos vivos com baixo peso ao nascer**. Brasília: 2010a. Disponível em:

<<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?idb2011/g16.def>> Acesso em: 16 fev. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. DATASUS. **Proporção da população que refere nunca ter realizado consulta odontológica**. Brasília: 2010b. Disponível em:

<<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/dh.exe?idb2011/f2102.def>> Acesso em: 23 out. 2013.

BRUNETTI, M. C. et al. A infecção periodontal associada ao parto pré-termo e baixo peso ao nascer. In: BRUNETTI, M. C. **Periodontia médica: uma abordagem integrada**. São Paulo: Senac, 2004. p. 319-342.

BRUNETTI, M. C.; MORAES, R. G. B.; MORAIS, T. M. N. Periodontia médica – uma mudança de paradigma na Odontologia. In: BRUNETTI, M. C.; FERNANDES, M. I.; MORAES, R. G. B. **Fundamentos da periodontia: teoria e prática**. São Paulo: Artes Médicas, 2007.

BUDUNELI, N. et al. Periodontal infections and pre-term low birth weight: a case-control study. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 32, n. 2, p. 174–181, 2005.

CARRILLO-DE-ALBORNOZ, A. et al. Gingival changes during pregnancy: II. Influence of hormonal variations on the subgingival biofilm. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 37, n. 3, p. 230–240, 2010.

CASTILLO-SALGADO, C.; LOYOLA, E.; ROCA, A. Inequalities in infant mortality in the American regions: basic elements for analysis. **Epidemiological Bulletin**, Washington, v. 22, n. 2, p. 4-7, 2001.

CHAMBRONE L. et al. Evidence grade associating periodontitis to preterm birth and/or low birth weight: I. A systematic review of prospective cohort studies. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 38, n. 9, p. 795–808, 2011.

CHAN, H. et al. Periodontal Disease Activity Measured by the Benzoyl-DL-Arginine-Naphthylamide Test Is Associated With Preterm Births. **Journal of Periodontology**, Indianápolis, v. 81, n. 7, 2010.

COLLINS, J. G. et al. Effects of *E. coli* and *P. gingivalis* lipopolysaccharides on pregnancy outcome in the golden hamster. **Infection and Immunity**, Washington, v. 62, n.10, p. 4652–5, 1994a

COLLINS, J. G. et al. Effects of a *Porphyromonas gingivalis* infection on inflammatory mediator response and pregnancy outcome in hamsters. **Infection and Immunity**, Washington, v. 62, n.10 p. 4356-61, 1994b

CONTRERAS A. et al. Periodontitis is associated with preeclampsia in pregnant women. **Journal of Periodontology**, Indianápolis, v. 77, n. 2, p. 182-188, 2006.

CORRÊA, M. D. Crescimento intrauterino restrito. In: CORRÊA, M. D.; MELO, V. H.; AGUIAR, R. A. L. P.; CORRÊA JÚNIOR, M. D. **Noções práticas de obstetrícia**. 14. ed. Belo Horizonte: Coopmed, 2011.

CRUZ, S. S. et al. Doença periodontal materna como fator associado ao baixo peso ao nascer. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 39, n. 5, p. 782-787, 2005.

DARVEAU, R. P.; TANNER, N.; PAGE, R. C. The microbial challenge in Periodontitis. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 14, n.1, p. 12-32, 1997.

DASANAYAKE, A. P. Poor Periodontal health of the pregnant woman as a risk factor for low birth weight. **Annals of Periodontology**, Chicago, v. 3, n.1, p.206-212, 1998.

DAVENPORT, E.S. Preterm low birthweight and the role of oral bactéria. **Journal of Oral Microbiology**, v. 2, n. 2, 2010.

DAVENPORT, E. S. et al. The East London Study of Maternal Chronic Periodontal Disease and Preterm Low Birth Weight Infants: Study Design and Prevalence Data. **Annals of Periodontology**, Chicago, v. 3, n.1, p. 213-221, 1998.

DEMIAN, A. A.; CORRÊA JÚNIOR, M. D. Fisiologia fetal. In: CORRÊA, M. D.; MELO, V. H.; AGUIAR, R. A. L. P.; CORRÊA JÚNIOR, M. D. **Noções práticas de obstetrícia**. 14. ed. Belo Horizonte: Coopmed, 2011.

DI PLACIDO, G. et al. Gingival hyperplasia in pregnancy. II. Etiopathogenic factors and mechanisms. **Minerva Stomatologica**, Torino, v. 47, n.5, p. 223-230, 1998.

DÖRTBUDAK, O. et al. Periodontitis, a marker of risk in pregnancy for preterm birth. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 32, n. 1 p. 45–52, 2005.

DUMITRESCU, A. L.; OHARA, M. Periodontal Microbiology. In: **ETIOLOGY And Pathogenesis Of Periodontal Disease**, 2010, p. 39-76. Disponível em:

<<http://pdfownersguide.com/pe/periodontal-microbiology/>>. Acesso em: 23 out. 2013.

ERIKSEN, E. F. et al. Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells. **Science**, Washington, v. 241, n. 4861, p. 84-86, 1988.

FARRELL, S.; IDE, M.; WILSON, R. F. The Relationship between maternal periodontitis, adverse pregnancy outcome and miscarriage in never smokers. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 33, n.2, p. 115–120, 2006.

FERNANDES, M. I.; OPPERMANN, R. V.; RÖSING, C. K. Manejo periodontal da paciente mulher. In: BRUNETTI, M. C. **Periodontia médica: uma abordagem integrada**. São Paulo: Senac São Paulo, 2004. p. 275-296.

FERREIRA, C. R. C.; TANURE, L. M.; FERREIRA, D. C. Adaptação materna à gravidez. In: CORRÊA, M. D.; MELO, V. H.; AGUIAR, R. A. L. P.; JÚNIOR, M. D. C. **Noções práticas de obstetrícia**. 14. ed. Belo Horizonte: Coopmed, 2011.

FIGUEIREDO, L. M. G. **Doença periodontal materna e baixo peso ao nascer: avaliação imunogenética – estudo piloto**. 2012. 67 p. Dissertação (Mestrado em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas) - Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

FIORINI, T. et al. Relationship between cytokine levels in serum and gingival crevicular fluid (GCF) in pregnant women. **Cytokine**, San Diego, v. 58, n. 1, p. 34–39, 2012.

GAZOLLA, C.M. et al. Evaluation of the Incidence of Preterm Low Birth Weight in Patients Undergoing Periodontal Therapy. **Journal of Periodontology**, Indianápolis, v. 78, n. 5, p. 842-848, 2007.

GENCO, R. J. et al. Relationship of stress, distress, and inadequate coping behaviors to periodontal disease. **Journal of Periodontology**, Indianápolis, v. 70, n. 7, p. 711-23, 1999.

GOLDENBERG, R. L. et al. Epidemiology and causes of preterm birth. **Lancet**, London, v. 371, n.9606, p. 75–84, 2008.

GOMES-FILHO, I. S. et al. Critérios para o diagnóstico clínico da doença periodontal. **Jornal Brasileiro de Clínica Odontológica Integrada e Saúde Bucal Coletiva**, v. 9, n. 49, p. 88–89, 2005.

GOMES-FILHO, I. S. et al. Comparação de critérios que determinam o diagnóstico clínico da doença periodontal. **Revista Odonto Ciência**, Porto Alegre, v. 21, n. 51, p. 77-81, 2006.

GOMES-FILHO, I. S. et al. Exposure measurement in the association between periodontal disease and prematurity/low birth weight. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 34, n.11, p. 957-63, nov. 2007.

GOMES-FILHO, I. S. et al. Avaliação prospectiva da periodontite materna e baixo peso ao nascer. **Revista Periodontia**, v. 19, n. 4, p. 121-128, 2009.

GONCHAROFF, P. et al. Identification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: Polymerase chain reaction amplification of IktAspecific sequences. **Oral Microbiology and Immunology**, Copenhagen, v. 8, n.2 p. 105-110, 1993.

GROSSI, G.; GENCO, E. E.; MACHTEI, A. W. Assessment of risk for periodontal disease. II. Risk indicators for alveolar bone loss. **Journal of Periodontology**, Indianápolis, v. 6, n. 1, p.23-29, 1995.

GUARIENTO, A.; DELASCIO, D. **Patologia do parto, puerpério e perinatal**. São Paulo: Sarvier, 1987.

GÜNCÜ, G.N.; TÖZÜM, T. F.; ÇAGLAYAN, F. Effects of endogenous sex hormones on the periodontium – Review of literature. **Australian Dental Journal**, Sydney, v. 50, n. 3, p. 138-145, 2005.

GÜRSOY, M. et al. Clinical changes in periodontium during pregnancy and post-partum. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 35, n.7, p. 576–583, 2008.

GÜRSOY, M. et al. Does the frequency of *Prevotella intermedia* increase during pregnancy? **Oral Microbiology and Immunology**, Copenhagen, v. 24, p. 299–303, 2009.

HAN, Y. W. et al. *Fusobacterium nucleatum* Induces Premature and Term Stillbirths in Pregnant Mice: Implication of Oral Bacteria in Preterm Birth. **Infection and Immunity**, Washington, v. 72, n. 4, 2004.

HASEGAWA, K. et al. Associations between systemic status, periodontal status, serum cytokine levels, and delivery outcomes in pregnant women with a diagnosis of threatened premature labor. **Journal of Periodontology**, Indianápolis, v. 74, n. 12, p. 1764–1770, 2003.

HILL, G. B. Preterm Birth: Associations With Genital and Possibly Oral Microflora. **Annals of Periodontology**, Chicago, v. 3, p. 222-232, 1998.

HILLIER, S. L. et al. Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth weight infant. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 333, n. 26, p. 1737-42, 1995.

HUCK, O.; TENENBAUM, H.; DAVIDEAU, J. L. Relationship between periodontal diseases and preterm birth: recent epidemiological and biological data. **Journal of Pregnancy**, 2011.

HUNT, J. S. et al. HLA-G and immune tolerance in pregnancy. **The FASEB Journal**, Bethesda, v. 19, n.7, p.681-93, 2005.

IDE, M.; PAPAPANOU, P. N. Epidemiology of association between maternal periodontal disease and adverse pregnancy outcomes – systematic review. **Journal of Periodontology**, Indianápolis, v. 84, suppl. 4, p. 181-194, 2013.

JARJOURA, K. et al. Markers of periodontal infection and preterm birth. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 192, n. 2, p. 513–519, 2005.

JEFFCOAT, M. K. et al. Periodontal infection and preterm birth: results of a prospective study. **Journal of the American Dental Association**, Chicago, v. 132, n.7, p. 875-80, 2001.

JERVØE-STORM, P. M. et al. Comparison of culture and real-time PCR for detection and quantification of five putative periodontopathogenic bacteria in subgingival plaque samples. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 32, n.7, p. 778–83, 2005.

JIN, L. J. et al. Global oral health inequalities: task group-periodontal disease. **Advances in Dental Research**, Washington, v. 23, n. 2, p. 221-6, 2011.

KATZ, J. et al. Localization of *P. gingivalis* in Preterm Delivery Placenta. **Journal of Dental Research**, Washington, v. 88, n. 6, 2009.

KLEIN, I. M.; GONÇALVES, B. R. Detection of *Tannerella forsythensis* (*Bacteroides forsythus*) and *Porphyromonas gingivalis* by polymerase chain reaction in subjects with different periodontal status. **Journal of Periodontology**, Indianápolis, v. 74, n. 6, p. 798-802, 2003.

KORNMAN, K. S. et al. The subgingival microbial flora during pregnancy. **Journal of Periodontal Research**, Copenhagen, v. 15, n. 2, p. 111-122, 1980.

KOTHIWALE, S.; PANWAR, V. Poor periodontal health of pregnant women as a risk factor for preterm and low birth weight. **Indian Journal of Dentistry**, v.2, n. 4. 2011.

KUBONIWA, M., et al. Quantitative detection of periodontal pathogens using realtime polymerase chain reaction with TaqMan probes. **Oral Microbiology and Immunology**, Copenhagen, v. 19, n.3, p.168–176, 2004.

KUMAR, A. et al. Association of maternal periodontal health with adverse pregnancy outcome. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, Tokyo, v. 39, n. 1, p.40–45, 2013.

LANG, N. P.; MOMBELLI, A.; ATTSTRÖM, R. Placa e cálculo dentais. In: LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. **Tratado de periodontia clínica e implantologia oral**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 1013 p.

LEÓN, R. et al. Detection of *Porphyromonas gingivalis* in the amniotic fluid in pregnant women with a diagnosis of threatened premature labor. **Journal of Periodontology**, Indianapolis, v. 78, n. 7, p. 1249–55, 2007.

LIN, D. et al. *Porphyromonas gingivalis* infection during pregnancy increases maternal tumor necrosis factor alpha, suppresses maternal interleukin-10, and enhances fetal growth restriction and resorption in mice. **Infection and Immunity**, Washington, v. 71, n.9, p. 5156–5162, 2003.

LIN, D. et al. Persistently High Levels of Periodontal Pathogens Associated With Preterm Pregnancy Outcome. **Journal of Periodontology**, Indianapolis, v. 78, n.5, p. 833-841, 2007.

LÓPEZ, N. J.; SMITH, P. C.; GUTIERREZ, J. Higher risk of preterm birth and low birth weight in women with periodontal disease. **Journal of Dental Research**, Washington, v. 81, n.1, p. 58-63, 2002.

LORENZO, J. L.; MAYER, M. P. A. Microbiologia das doenças periodontais. In: LORENZO, J. L. **Microbiologia para o estudante de Odontologia**. São Paulo: Atheneu, 2004. p. 127-150.

LOTUFO, R. F. M.; PANNUTI, C. M. Efeitos diretos dos patógenos bucais nas condições periodontal e sistêmica. In: BRUNETTI, M. C. **Periodontia médica – uma abordagem integrada**. São Paulo: Senac, 2004, p. 43-57.

LOURO, P. M. et al. Doença periodontal na gravidez e baixo peso ao nascer. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 77, n.1, p. 23-28, 2001.

LUNARDELLI, A. N.; PERES, M. A. Is there an association between periodontal disease, prematurity and low birth weight? A population-based study. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 32, n.9, p.938–946, 2005.

MACHADO, F. C. et al. Detection and enumeration of periodontopathogenic bacteria in subgingival biofilm of pregnant women. **Brazilian Oral Research**, São Paulo, v. 26, n. 5, p. 443-9, set./out., 2012.

MADIANOS, P. N. et al. Maternal periodontitis and prematurity. Part II. Maternal infection and fetal exposure. **Annals of Periodontology**, Chicago, v. 6, n. 1 p. 175–182, 2001.

MADIANOS, P. N.; BOBETSIS, Y. A.; OFFENBACHER S. Adverse pregnancy outcomes (APOs) and periodontal disease: pathogenic mechanisms. **Journal of Periodontology**, Indianápolis, v. 84, suppl. 4 p. 170-180, 2013.

MARQUES, A. H. et al. Estresse, depressão, alterações imunológicas e doença periodontal. **Revista de Psiquiatria Clínica**, São Paulo, v. 28, n. 5, p. 266-273, 2001.

MARTINS, M. D.; MARTINS, M. A. T. Etiopatogênese da doença periodontal. In: BRUNETTI, M. C.; FERNANDES, M. I.; MORAES, R. G. B. **Fundamentos da periodontia: teoria e prática**. São Paulo: Artes Médicas, 2007.

MAYANAGI, G. et al. Detection frequency of periodontitis-associated bacteria by polymerase chain reaction in subgingival and supragingival plaque of periodontitis and healthy subjects. **Oral Microbiology and Immunology**, Copenhagen, v. 19, n. 6, p. 379–385, 2004;

MESA, F. et al. Are periodontal bacterial profiles and placental inflammatory infiltrate in pregnancy related to birth outcomes? **Journal of Periodontology**, Indianapolis, v. 84, n.9, p. 1-14, 2012.

MICHALOWICZ, B. S. et al. Treatment of periodontal disease and the risk of preterm birth. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 355, n. 18, p. 1885-94, 2006.

MILANEZ, H. M. B. P. M. Infecção do Trato Urinário. In: NEME, B. **Obstetrícia básica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2005.

MILLER, W. D. The human mouth as a focus of infection. **Dental Cosmos**, Philadelphia, v. 33, n. 9, p. 689-695, 1891. Disponível em:
<<http://www-personal.umich.edu/~pfa/denthist/articles/Miller1891.html>>

MITCHELL-LEWIS, D. et al. Periodontal infections and pre-term birth: early findings from a cohort of young minority women in New York. **European Journal of Oral Sciences**, Copenhagen, v. 109, n. 1, p. 34–39, 2001.

MOIMAZ, S. A. S. et al. Condição periodontal durante a gestação em um grupo de mulheres brasileiras. **Ciência Odontológica Brasileira**, São José dos Campos, v. 9, n. 4, p. 59-66, 2006.

MOORE, S.; RANDHAWA, M.; IDE, M. A case-control study to investigate an association between adverse pregnancy outcome and periodontal disease. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v.32, n.1, p. 1-5, 2005.

MORAES, A. B. et al. Risk factors for low birth weight in Rio Grande do Sul State, Brazil: classical and multilevel analysis. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 12, p. 2293-2305, 2012.

MOREU, G.; TÉLLEZ, L.; GONZÁLEZ-JARANAY, M. Relationship between maternal periodontal disease and low-birth-weight pre-term infants. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 32, n.6, p. 622–627, 2005.

MURAMATSU, Y.; TAKAESU, Y. Oral health status related to subgingival bacterial flora and sex hormones in saliva during pregnancy. **Bulletin of Tokyo Dental College**, Tokyo, v. 35, n. 3, p. 139–151, 1994.

NEME, B. **Obstetricia básica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 2000.

NEME, B. Propedêutica obstétrica. In: NEME, B. **Obstetricia básica**. 3 ed. São Paulo: Sarvier, 2005.

NEWMAN, H. N. Focal Infection. **Journal of Dental Research**, Washington, v. 75, n.12, p. 1912-1919, 1996.

NOACK, B. et al. Periodontal status and preterm low birth weight: a case control study. **Journal of Periodontal Research**, Copenhagen, v. 40, n.4, p.339–345, 2005.

NOVAK, M. J. et al. Periodontal bacterial profiles in pregnant women: response to treatment and associations with birth outcomes in the obstetrics and periodontal therapy (OPT) study. **Journal of Periodontology**, Indianápolis, v. 79, n. 10, p. 1870-1879, 2008.

OFFENBACHER, S. et al. Periodontal Infection as a Possible Risk Factor for Preterm Low Birth Weight. **Journal of Periodontology**, Indianápolis, v. 67, suppl. 10 p. 1103-1113, 1996.

[OFFENBACHER, S.](#) et al. Potential pathogenic mechanism of periodontitis associated pregnancy complications. [Annals of Periodontology](#), Chicago, v. 3, n. 1, p.233-250, 1998.

OFFENBACHER, S. et al. Effects of maternal *Campylobacter rectus* infection on murine placenta, fetal and neonatal survival, and brain development. **Journal of Periodontology**, Indianápolis, v. 76, suppl. 11, p. 2133–2143, 2005.

OTOMO-CORGEL, J.; PUCHER, J. J.; RETHMAN, M. P.; REYNOLDS, M. A. State of the science: chronic periodontitis and systemic health. **Journal of Evidence-Based Dental Practice**, Saint Louis, v. 12, suppl. 1, p. 20-28, 2012.

PAPAPANOU, P. N. et al. “Checkerboard” assessments of periodontal microbiota and serum antibody responses: a case-control study. **Journal of Periodontology**, Indianapolis, v, 71, n. 6, p. 885-97, 2000.

PAPAPANOU, P. N.; LINDHE, J. Epidemiologia das doenças periodontais. In: LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. **Tratado de periodontia clínica e implantologia oral**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 1013 p.

PASSANEZI, E.; BRUNETTI, M. C.; SANT’ANA, A. C. Interacción entre la enfermedad periodontal y el embarazo. **Revista Periodontia**, cidade, v. 17, n. 2, p. 32-38, 2007.

PERUZZO, D. C. et al. Chronic stress may modulate periodontal disease: a study in rats. **Journal of Periodontology**, Indianapolis, v. 79, n. 4, p. 697-704, abr. 2008.

PETERSEN, P. E. et al. The global burden of oral diseases and risks to oral health. **Bulletin of the World Health Organization**, Genève, v. 83, n. 9, p. 661-669, 2005.

PIHLSTROM, B.; ORTIZ-CAMPOS, C.; MCHUGH, R. A randomized four-year study of periodontal therapy. **Journal of Periodontology**, Indianápolis, v. 52, n. 5, p.227-242, 1981.

PRETORIUS, C.; JAGATT, A.; LAMONT, R. F. The relationship between periodontal disease, bacterial vaginosis, and preterm birth. **Journal of Perinatal Medicine**, Berlin, v. 35, n.2, p. 93–99, 2007.

RAMFJORD, S. P. Indices for prevalence and incidence of periodontal disease. **Journal of Periodontology**, Indianapolis, v. 30, p.51-59, 1959.

REILLY, P. G.; GLAFFEY, N. M. História da Sepsia Bucal como Causa de Doenças. In: WILLIAMS, R. C.; OFFENBACHER, S. **Periodontologia 2000**. São Paulo: Santos, 2005. p.13-18.

REIS, G. F. F. Alterações fisiológicas maternas da gravidez. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, Rio de Janeiro, v. 43, n.1, p. 3- 9, 1993.

REZENDE, J. **Obstetrícia**. 7^a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.

RUDGE, M. V. C.; BORGES, V. T. M.; CALDERON, I. M. P. Adaptação do organismo materno à gravidez. In: NEME, B. **Obstetrícia básica**. 3 ed. São Paulo: SARVIER, 2005.

RYU, J. et al. Health behaviors, periodontal conditions, and periodontal pathogens in spontaneous preterm birth: a case-control study in Korea. **Journal of Periodontology**, Indianápolis, v. 81, n. 6, 2010.

SADDKI, N. et al. The association between maternal periodontitis and low birth weight infants among Malay women. **Community Dental Oral Epidemiology**, v. 36, n. 4, p. 296–304, 2008.

SAKAMOTO, M. et al. Rapid detection and quantification of five periodontopathic bacteria by real-time PCR. **Microbiology and Immunology**, Tokyo, v. 45, n. 1, p. 39-44, 2001.

SANZ M. et al. Periodontitis and adverse pregnancy outcomes: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. **Journal of Periodontology**, Indianapolis, v. 84,suppl. 4 , p. 164-169, 2013.

SARAFANA, S. et al. Aspectos da imunologia da gravidez. **Acta Médica Portuguesa**, Lisboa, v. 20, p. 355-358, 2007.

SERT, T. et al. Serum placental growth factor, vascular endothelial growth factor, soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 and -2 levels in periodontal disease, and APOS. **Journal of Periodontology**, Indianapolis, v. 82, n. 12, p. 1735–1748, 2011.

SEYMOUR, G. J. et al. Relationship between periodontal infections and systemic disease. **Clinical Microbiology and Infection**, Oxford, v. 13, n. 4, p. 3–10, 2007.

SLOTS, J. Casual or causal relationship between periodontal infection and non-oral disease? **Journal of Dental Research**, Washington, v.77, n.10, p. 1764-65, 1998.

SOCRANSKY, S. S. et al. Microbial complexes in subgingival plaque. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 25, n.2 , p.134-144, 1998.

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. Microbiologia da Doença Periodontal. In: LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. **Tratado de periodontia clínica e implantologia oral**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 1013 p.

SOUCCAR, N. M. et al. *Porphyromonas gingivalis* in dental plaque and serum C-reactive protein levels in pregnancy. **Journal of Infection in Developing Countries**, Sassari, v. 4, n. 6, p. 362-366, 2010.

SOUZA, E.; CAMANO, L.; BRUNETTI, M. C. Aspectos obstétricos da prematuridade. In: BRUNETTI, M. C. **Periodontia médica – uma abordagem integrada**. São Paulo: Senac, 2004. p. 299-315.

TAKEUCHI, Y. et al. *Treponema socranskii*, *Treponema denticola*, and *Porphyromonas gingivalis* are associated with severity of periodontal tissue destruction. **Journal of Periodontology**, Indianapolis, v. 72, n. 10, p. 1354-1363, 2001.

TAKEUCHI, N. et al. Relationship between periodontal inflammation and fetal growth in pregnant women: a cross-sectional study. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, Munchen, dez. 2012.

TAMAI, R.; DENG, X.; KIYOURA, Y. *Porphyromonas gingivalis* with either *Tannerella forsythia* or *Treponema denticola* induces synergistic IL-6 production by murine macrophage-like J774.1 cells. **Anaerobe**, London, v. 15, n.3, p. 87–90, 2009.

TANNER, A. C.; IZARD, J. *Tannerella forsythia*, a periodontal pathogen entering the genomic era. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 42, n.1, p. 88–113, 2006.

TARANNUM, F.; FAIZUDDIN, M.; MADIAIAH, H. Gingival crevicular fluid prostaglandin E2 level as a predictor of preterm low birth weight: a pilot investigation. **Journal of Oral Science**, Tokyo, v. 53, n. 3, p. 293–300, 2011.

THOMSOM, P. Effects of extended systemic and topical folate supplementation on gingivitis on pregnancy. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 9, n. 3, p. 275-80, 1982.

TRENTIN, M. S. et al. Doença periodontal em gestantes e fatores de risco para o parto prematuro. **Revista da Faculdade de Odontologia (UPF)**, Passo Fundo, v. 12, n. 1, p. 47-51, 2007.

UNICEF. **Low birthweight: country, regional and global estimates**. New York, 2004.

VAN DYKE, T. E.; VAN WINKELHOFF, A. J. Infection and inflammatory mechanisms. **Journal of Periodontology**, Indianapolis, v. 40, suppl. 14, p. 1-7, 2013.

VAN VELZEN, S. K. T; ABRAHAM-INPIJN, L.; MOORER, W. R. Plaque and systemic disease: a reappraisal of the focal infection concept. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v.11, n. 4, p.209–220, 1984.

VETTORE, M. V. et al. The relationship between periodontal disease and preterm low birthweight: clinical and microbiological results. **Journal of Periodontal Research**, Copenhagen, v. 43, n. 6, p. 615–626, 2008.

VIEIRA, C.; FALCÃO, D. Halitose – diretrizes para o diagnóstico e plano de tratamento. In: BRUNETTI, M. C.; FERNANDES, M. I.; MORAES, R. G. B. **Fundamentos da periodontia – teoria e prática**. São Paulo: Artes Médicas, 2007.

VOGT, M. et al. Periodontal disease and some adverse perinatal outcomes in a cohort of low risk pregnant women. **Reproductive Health**, London, v. 7, n. 29, p. 1-7, 2010.

WANDERA, M. et al. Determinants of periodontal health in pregnant women and association with infants' anthropometric status: a prospective cohort study from Eastern Uganda. **BMC Pregnancy and Childbirth**, London, v. 12, n.90, set 2012.

WANG, J. Metagenomic sequencing reveals microbiota and its functional potential associated with periodontal disease. **Scientific Reports**, v. 3, n. 1843, p. 1-10, 2013. Disponível em: <www.nature.com/scientificreports>. Acesso em: 23 out. 2013.

WEIDLICH, P. Biofilme e cálculo dental. In: BRUNETTI, M. C.; FERNANDES, M. I.; MORAES, R. G. B. **Fundamentos da periodontia – teoria e prática**. São Paulo: Artes Médicas, 2007.

WILLIAMS, R. C; PAQUETTE, D. Periodontite como fator de risco para doença sistêmica. In: LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. **Tratado de periodontia clínica e implantologia oral**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 1013 p.

XAVIER, A. L. **Avaliação do processo de implantação da linha de cuidado materno infantil na atenção primária à saúde dos municípios contratualizados com a Fundação Estatal Saúde da Família FESF SUS.** 2013. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva) - Universidade Estadual de Feira de Santana.

XIE, S. Expression of estrogen and progesterone receptors in the gingival tissues of female patients with moderate and advanced periodontitis. **Shanghai Journal of Stomatology**, Shanghai, v. 12, n. 5, p. 366-9, 2003.

YEO, A. et al. *Campylobacter rectus* mediates growth restriction in pregnant mice. **Journal of Periodontology**, Indianapolis, v. 76, n. 4, p. 551–557, 2005.

YOKOYAMA, M. et al. Relationship between *Campylobacter rectus* and periodontal status during pregnancy. **Oral Microbiology and Immunology**, Copenhagen, v. 23, n. 1, p.55–59, 2008.

YONEDA, M. et al. Stimulation of growth of *Porphyromonas gingivalis* by cell extracts from *Tannerella forsythia*. **Journal of Periodontal Research**, Copenhagen, v. 40, n.2, p. 105-109, 2005.

ZARDO, L. N. et al. Doença periodontal x estresse: revisão de literatura. **Revista Dental Press de Periodontia e Implantologia**, Maringá, v. 5, n. 2, p. 48-56, abr./jun. 2011.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Questionário

Data: ___/___/___

Nº: _____

Identificação do recém-nascido

Nome: _____

Data Nasc.: ___/___/___ Sexo: _____

Cor da pele (autorreferida): Branco Negro Amarelo Pardo

Vida intrauterina:

Peso: _____

Idade: _____

Identificação da mãe

Nome: _____

Data Nasc.: ___/___/___ Idade: _____

Cor da Pele (autorreferida): Branco Negro Amarelo Pardo

Bairro: _____ Cidade: _____

CEP: _____ Estado: _____ Telefone: _____

RG: _____

Escolaridade (anos de estudo): _____

Prof/Ocupação (p. gestacional): _____

Prof/Ocupação (anterior): _____

Renda Familiar (em salários mínimos): _____

Situação Conjugal: _____ Nº de filhos: _____

Nº de pessoas que residem no domicílio: _____

História gestacional

Infecção urinária: Sim () Não ()

Hipertensão: Sim () Não ()

Diabetes insulínica: Sim () Não ()

Cardiopatía: Sim () Não ()

Doença pulmonar: Sim () Não ()

Outras patologias: _____

Uso de medicamento? _____ Antibiótico: _____ Supl.

Vitamínicos: _____ Motivo: _____

Período: _____ Frequência: regular eventual

Realização do pré-natal: Sim Não Quantas consultas? _____

Peso (pré-gestacional): _____ Altura: _____

Parto:

() Normal () Cesárea () Normal com fórceps () Cesárea com fórceps

Número de gestações: _____

Tabaco:

Você fumou? Sim Não

Você fuma cigarros? Sim Não

Outros: _____

Quanto tempo durante a gestação? _____

Frequência: [] 0 – raramente; 1- 1 dia/sem.; 2- 2 a 3dias/sem.; 3 - todo dia ou quase todo dia

Obs.: _____

Bebidas Alcoólicas:

Sim Não

Quanto tempo durante a gestação? _____

Frequência [] 0- raramente; 1- 1 dia/sem.; 2- 2 a 3dias/sem.; 3 - todo dia ou quase todo dia

Obs.: _____

Uso de Drogas:

Sim Não

Quanto tempo durante a gestação? _____

Frequência: [] 0 – raramente; 1- 1 dia/sem.; 2- 2 a 3dias/sem.; 3 - todo dia ou quase todo dia

Obs.: _____

Higiene Bucal (período gestacional)

Escovação após as refeições: Sim Não

Frequência: nunca eventualmente frequentemente

Uso do fio dental: Sim Não

Frequência: nunca eventualmente frequentemente

Atenção Odontológica:

Visita ao cirurgião-dentista: Sim Não N° de consultas _____

Recebeu algum tipo de orientação? Sim Não

Qual? _____

APÊNDICE B – Ficha de coleta de dados clínicos

FICHA DE COLETA DE DADOS

Nº 0=F; 1=M

Data de coleta

Nome:

Diagnóstico da doença:

Data de nascim

Idade A M

Idade aprox em anos

DENTE	IR-H		Profundidade de Sondagem					Índice de Sangramento					NIC		QMC		IP					
	V	L	disto-v	médio-v	mesio-v	disto-l	médio-l	mesio-l	disto-v	médio-v	mesio-v	disto-l	médio-l	mesio-l	v	L	V	L	V	L	M	D
18																						
17																						
16																						
15																						
14																						
13																						
12																						
11																						
21																						
22																						
23																						
24																						
25																						
26																						
27																						
28																						
38																						
37																						
36																						
35																						
34																						
33																						
32																						
31																						
41																						
42																						
43																						
44																						
45																						
46																						
47																						
48																						

Nomenclatura dentária segundo o sistema FDI.

Nota: A aproximação da idade segue o seguinte critério: até 6 meses aproxima para a idade anterior; acima de 6 meses aproxima para a idade seguinte.

IM: índice de mobilidade: 1=grau 1; 2=grau 2; 3=grau 3

NIC: nível de inserção clínica nas faces vestibular e lingual (mm)

IR-H: índice de recessão ou hiperplasia (mm)

QMC: quantidade de mucosa ceratinizada nas faces vestibular e lingual (mm)

Profundidade de sondagem nas faces vestibular e lingual (mm)

IP: índice de placa nas faces vestibular, lingual, mesial e distal: 0=ausente; 1=presente

Índice de sangramento nas faces vestibular e lingual: 0=ausente; 1=presente

APÊNDICE C – Protocolo para Purificação de DNA de pellets das bactérias Gram-negativas

(PureLink™ Genomic DNA Mini Kit - Invitrogen)

Material de uso por amostra:

- 1 tubo Eppendorf 1,5ml ou 1,75ml
- 1 coluna de sílica com tubo de coleta (do kit)
- 1 tubo de coleta (do kit)
- 180µl Digestion Buffer (do kit)
- 200µl de Etanol 100%
- 20µl Proteinase K (do kit)
- 20µl Rnase A (do kit)
- 200µl Genomic Lysis/Binding Buffer (do kit)
- 500µl WB1 (do kit)
- 500µl WB2 (do kit)
- 60µl Genomic Elution Buffer (do kit)
- Tubos com tamanho adequado para aliquotar os tampões Digestion Buffer, WB1, WB2 e Etanol
- Luvas sem Talco
- Papel toalha

Máquinas necessárias:

- Vortex horizontal normal para tubos tipo Eppendorf
- Centrífuga sem refrigeração de 18.000 até 20.000g (g=rcf)
- Termobloco com 55° C para tubos de 2ml
- Pipeta de 20µl até 200µl e ponteiras com filtro
- Pipeta de 100µl até 1.000µl e ponteiras com filtro

I) Preparação dos tampões de lavagem

- a) Colocar a quantidade indicada de Etanol 96-100% nos frascos de WB1 e WB2 (caso ainda não estejam prontos) e marcar os frascos;
- b) Aliquotar a quantidade suficiente dos tampões Digestion Buffer, WB1, WB2 e Etanol 96-100% nos tubos adequados;
- c) Controlar as outras soluções: avaliar se existe quantidade suficiente de Genomic Lysis/Binding Buffer, Genomic Digestion Buffer, Genomic Elution Buffer, RNase A e Proteinase K; observar se há precipitações no Genomic Lysis/Binding Buffer.

II) Preparação dos tubos usados: preparar para cada amostra 01 tubo Eppendorf e 01 coluna de sílica identificados com o número de série;

III) Preparação das máquinas: preparar um termobloco a 55°C;

IV) Lise das células

- a. Centrifugar brevemente os tubos de amostras para baixar o conteúdo
- b. Adicionar 180µl do Digestion Buffer em cada tubo de amostra (com pellet)
- c. Pipetar algumas vezes para ressolubilizar o pellet
- d. Adicionar 20µl de Proteinase K ao tubo
- e. Vortexiar bem
- f. Centrifugar rapidamente para baixar o líquido
- g. Incubar por 30 minutos à temperatura de 55°C (banho-maria)
- h. Adicionar 20µl de RNase A
- i. Vortexiar bem
- j. Centrifugar brevemente
- k. Incubar por 2 minutos
- l. Adicionar 200µl de PureLink™ genomic Lysis/Binding Buffer
- m. Vortexiar bem
- n. Centrifugar rapidamente
- o. Adicionar 200µl de Etanol 96-100%
- p. Vortexiar por 5 segundos
- q. Centrifugar brevemente

V) Purificação

- a. Pipetar todo o conteúdo (620µl) em uma coluna de sílica
- b. Centrifugar a 10.000 g por 1 minuto
- c. Tirar o filtro com cuidado, descartar o conteúdo do tubo de coleta, secar a margem do tubo num papel toalha e colocar o filtro novamente
- d. Adicionar 500µl de WB1 na coluna de sílica
- e. Centrifugar a 10.000 g por 1 minuto
- f. Tirar o filtro com cuidado, descartar o conteúdo do tubo de coleta, secar a margem do tubo num papel toalha e colocar o filtro novamente
- g. Adicionar 500µl de WB2 na coluna
- h. Centrifugar a 18.000 g por 2 minutos
- i. Tirar o filtro, descartar o tubo de coleta e substituir pelo novo
- j. Centrifugar a 18.000 até 20.000 g por 3 minutos
- k. Descartar o tubo de coleta e colocar o filtro em tubo Eppendorf
- l. Adicionar 30µl de Genomic Elution Buffer a cada coluna
- m. Incubar por 1 minuto
- n. Centrifugar à velocidade máxima por 1 minuto
- o. Adicionar 25µl de Genomic Elution Buffer a cada coluna
- p. Centrifugar à velocidade máxima por 3 minutos
- q. Estocar os tubos num Freezer a -80°C (para estoque a longo prazo)

VI) Controle da Qualidade do DNA extraído

Ex: DNA is isolated from 1 ml overnight bacterial culture using the protocol described in this manual. The kit must produce the following results:

- $A_{260}/A_{280} \geq 1.70$
- Agarose gel electrophoresis of the purified DNA must produce a single band above 12 kb
- Average DNA yield for 1 ml overnight bacterial culture must be $>4 \mu\text{g}$

APÊNDICE D – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
Autorizada pelo Decreto Federal n.º 77. 498, de 27/04/76
Reconhecida pela Portaria Ministerial n. 874/86 de 19/12/86

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa. Antes de decidir, é importante que você entenda o porquê da realização desta pesquisa e o que ela envolve. Por favor, dedique um tempo para ler cuidadosamente as informações seguintes e, se preferir, discuta com seus familiares, amigos ou com seu médico. Se você desejar, pode levar este material para casa para pensar melhor. Pergunte-nos, se houver qualquer coisa que não esteja clara ou se precisar de mais informações.

Este trabalho de pesquisa será desenvolvido em mulheres atendidas em um Consultório Odontológico portátil na própria maternidade. As participantes serão mães de recém-nascidos, portadoras ou não de doença de gengiva. Tanto mulheres recém-paridas com filho de baixo peso ao nascer/ prematuridade ou não serão convidadas a participar do estudo. Cada participante deste trabalho permitirá que sejam feitas perguntas a respeito dos seus hábitos que poderão ajudar no conhecimento do grupo estudado, além de exames clínicos de rotina para avaliar a saúde da boca. As perguntas serão feitas por meio de um questionário e os exames bucais serão feitos pela pesquisadora participante. Os exames na boca servem para avaliar a presença e a gravidade da doença da gengiva, com o uso de um espelho bucal e um instrumento metálico esterilizado, em volta de todos os dentes. Esses exames não apresentam risco à saúde da participante, mas podem causar um leve desconforto e podem necessitar de certo tempo com a boca aberta.

Serão realizados: preenchimentos de questionários com perguntas sobre sua saúde e seus hábitos de higiene da boca e exames para diagnóstico da doença periodontal, realizado por dentistas (utilizando-se instrumentos apropriados para avaliar a gengiva). Serão

coletadas amostras de biofilme (bactéria da boca) e de sangue do braço (exame de sangue) por uma pessoa treinada para isso.

O tratamento da gengiva (limpeza dos dentes) será fornecido independente do participante aceitar ou não participar desta pesquisa, realizado no próprio consultório portátil. Os resultados dos exames registrados nos cartões das gestantes e prontuários médicos serão também avaliados, bem como o peso e idade gestacional ao nascer para observar se existe a relação com a condição bucal. Os resultados desta pesquisa servirão para dentistas e outros profissionais de saúde compreender melhor a participação da doença de gengiva como um possível fator de risco nos fenômenos de prematuridade e/ou baixo peso ao nascimento. Os dados obtidos serão confidenciais e de responsabilidade dos profissionais que trabalharão na pesquisa, sendo guardados por um período de 5 anos. Quando os resultados forem publicados, as participantes não serão identificadas. Caso não seja a vontade da voluntária ou seu responsável em participar do estudo, terá liberdade de recusar ou abandonar a participação, sem qualquer prejuízo para ela. Portanto, atenção: sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Em caso de dúvida quanto aos seus direitos, escreva para o Comitê de Ética em Pesquisas da UEFS, no endereço Av. Universitária, s/n-Km03 da BR116 Campus Universitário CEP:44031-460 Feira de Santana-BA-Brasil. Os pesquisadores responsáveis por essa pesquisa também estão disponíveis para maiores esclarecimentos pelo telefone e endereço abaixo. Duas vias serão assinadas e uma via será retida pelo participante da pesquisa.

Local, ____/____/____

Nome da voluntária

Assinatura da voluntária ou responsável

Pesquisador responsável: Soraya Castro Trindade

Endereço: Km03, BR116, Campus Universitário. Feira de Santana-Ba – (75) 3161-8112

ATENÇÃO: a sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Em caso de denúncia pelo não cumprimento do que foi acordado, escreva para o Comitê de Ética em Pesquisa da UEFS.

ANEXO

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-UEFS)



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA / CEP-UEFS**

Av. Universitária, S/N – Módulo I – 44.031-460 – Feira de Santana-BA
Fone: (75) 224-8124 Fax: (75) 224-8019 E-mail: cep@uefs.br

Feira de Santana, 06 de maio de 2009
O f. CEP-UEFS nº 048/2009

Senhor(a) Pesquisador(a): Simone Seixas da Cruz

Tenho muita satisfação em informar-lhe que o atendimento às pendências referentes ao seu Projeto de Pesquisa intitulado “**Relação entre Doença Periodontal em Gestantes e Nascidos prematuras e/ou baixo peso**”, registrado neste CEP sob **Protocolo N.º 152/2008 (CAAE 0151.0.059.000-08)**, satisfaz às exigências da *Res. 196/96*. Assim, seu projeto foi **Aprovado** podendo ser iniciada a coleta de dados com os sujeitos da pesquisa conforme orienta o *Cap. IX.2, alínea a – Res. 196/96*.

Na oportunidade informo que qualquer modificação feita no projeto, após aprovação pelo CEP, deverá ser imediatamente comunicada ao Comitê, conforme orienta a *Res. 196/96, Cap. IX.2, alínea b*.

Relembro que conforme instrui a *Res. 196/96, Cap. IX.2, alínea c*, Vossa Senhoria deverá enviar a este CEP relatórios anuais de atividades pertinentes ao referido projeto e um relatório final tão logo a pesquisa seja concluída.

Em nome dos membros do CEP-UEFS, desejo-lhe pleno sucesso no desenvolvimento dos trabalhos e, em tempo oportuno, um ano (06/05/2010) este CEP aguardará o recebimento do seu relatório.

Atenciosamente,

Maria Ângela Alves do Nascimento
Coordenadora do CEP-UEFS.