



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



ILMD INSTITUTO LEÔNIDAS
& MARIA DEANE
Fiocruz Amazônia

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO LEÔNIDAS E MARIA DEANE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CONDIÇÕES DE VIDA E SITUAÇÕES
DE SAÚDE NA AMAZÔNIA - PPGVIDA
MESTRADO ACADÊMICO/SAÚDE COLETIVA

MARIA DAS GRAÇAS SILVA SARMENTO

AVALIAÇÃO DA SAÚDE BUCAL DE PACIENTES PORTADORES DE DIABETES
MELLITUS TIPO II ATENDIDOS NA UBS DR. JOSÉ FIGLIOULO – DISTRITO
NORTE – MANAUS/AM

MANAUS

2019



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ILMD INSTITUTO LEÔNIDAS
& MARIA DEANE
Fiocruz Amazônia

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO LEÔNIDAS E MARIA DEANE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CONDIÇÕES DE VIDA E SITUAÇÕES
DE SAÚDE NA AMAZÔNIA – PPGVIDA
MESTRADO ACADÊMICO/SAÚDE COLETIVA

MARIA DAS GRAÇAS SILVA SARMENTO

AVALIAÇÃO DA SAÚDE BUCAL DE PACIENTES PORTADORES DE DIABETES
MELLITUS TIPO II ATENDIDOS NA UBS DR. JOSÉ FIGLIOULO – DISTRITO
NORTE – MANAUS/AM

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Condições de Vida e Situações de Saúde na Amazônia, como requisito obrigatório para a obtenção do título de Mestre em Saúde Pública, área de concentração: Determinantes Socioculturais, Ambientais e Biológicos do Processo Saúde-Doença-Cuidado na Amazônia.

Orientador: Prof. Dr. James Lee Crainey

MANAUS

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

Seção Biblioteca Dr. Antônio Levino da Silva Neto - ILMD

S246a

Sarmiento, Maria das Graças Silva.

Avaliação da saúde bucal de pacientes portadores de *Diabetes Mellitus* tipo II atendidos na UBS Dr. José Figliuolo – Distrito Norte – Manaus/AM. / Maria das Graças Silva Sarmiento. – Manaus: Instituto Leônidas e Maria Deane, 2019.

110f.

Dissertação (Mestrado em Condições de Vida e Situações de Saúde na Amazônia) – Instituto Leônidas e Maria Deane, 2019.

Orientador: Prof. Dr. James Lee Crainey.

1. Saúde bucal 2. Diabetes mellitus I. Título

CDU 616.379:616.314(811.3) (043.3)

CDD 362.1976098113

22. ed.

Elaborado por Ycaro Verçosa dos Santos – CRB-11/ 287

MARIA DAS GRAÇAS SILVA SARMENTO

**AVALIAÇÃO DA SAÚDE BUCAL DE PACIENTES PORTADORES DE
DIABETES MELLITUS TIPO II ATENDIDOS NA UBS DR. JOSÉ
FIGLIOULO – DISTRITO NORTE – MANAUS/AM**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Condições de Vida e Situações de Saúde na Amazônia, como requisito parcial e obrigatório para a obtenção do título de Mestre em Saúde Pública, área de concentração Determinantes Socioculturais, Ambientais e Biológicos do Processo Saúde-Doença-Cuidado na Amazônia.

Aprovada em: 26/02/2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. James Lee Crainey - Orientador

Instituto Leônidas e Maria Deane – ILMD/FIOCRUZ

Prof.(a) Dr.(a) Alessandra Ferreira Dales Nava – Membro Interno

Instituto Leônidas e Maria Deane – ILMD/FIOCRUZ

Prof.(a) Dr.(a) Evangeline Maria Cardoso – Membro Externo

Universidade do Estado do Amazonas – UEA

Prof. Dr. Jose Joaquim Carvajal Cortés

Instituto Leônidas e Maria Deane – ILMD/FIOCRUZ

Prof.(a) Dr.(a) Ormezinda Celeste Cristo Fernandes

Instituto Leônidas e Maria Deane – ILMD/FIOCRUZ

Dedicatória

Acima de tudo, dedico esta obra a Deus, Senhor de Tudo e de Todos, Senhor da Vida, Pai Supremo que proporcionou que eu chegasse ao fim desta jornada segundo seus desígnios, me lapidando como ser humano em todos os aspectos por ele desejado.

À minha pequena família – David (in memoriam), Nely, Hilda, Maria Isabel, Bia, Cláudio, Luciana, Talita, pequeno Benjamin, David Jr, Tadjá, Jaida, Marly que apoiou, torceu, e amparou em tudo o que eu necessitava para o término deste trabalho.

Aos meus colegas de trabalho e estudo, que com palavras de ânimo incentivaram e me deram força diante de todas as dificuldades.

Agradecimentos

Agradeço novamente a Deus, a todo instante, por vários milagres que realizou em minha vida, me mostrando ensinamentos profundos e o melhor caminho que devo trilhar.

Agradeço novamente a minha família, me incentivando para que eu atingisse meus objetivos.

Aos meus colegas do Tribunal de Justiça – AM, que sempre apoiaram meus sonhos de desenvolvimento acadêmico: Desembargador Flávio Pascarelli, Ana Cyra Saunders, Maria de Nazaré, Ana Marcilei Ribeiro, Ivaneide Benayon, Cristóvão Barros, Enfermeira Lucineia Moura, Sidney Uchoa, e entre tantos que não caberiam nesta página...

Aos meus colegas da SEMSA, que me apoiaram e me ajudaram a desenvolver toda pesquisa na instituição, em especial a Enfermeira Célia Miranda, Solange, Cris, Eva, Kramer, Rubens, Dalva, Mônica e tantos outros que como parágrafo anterior não caberiam nesta página

Aos meus colegas da Fiocruz, que nunca deixaram o desânimo me dominar, em especial Jessica, Hamyla, Daniel, Laura, Uziel, Yago (esse foi fundamental na fase laboratorial! Meus sinceros agradecimentos!!!!), Tulio, Lorena, Antônio, na estatística, Ýcaro (na biblioteca), as meninas do SECA, e me perdoem outros que também não caberiam nesta página

Ao meu orientador Prof. Dr. James Lee, que delineou e foi além de professor um grande amigo, preocupado para que tudo desse certo e chegasse a termo este trabalho

“Essentially, we must look toward the smallest and most ignored among us to understand our future on this planet”.

“Devemos olhar o mais pequeno e ignorado para entender nosso futuro neste planeta”.

Jack A. Gilbert

Christopher L. Dupont

RESUMO

O Diabetes Mellitus é uma doença internacional com crescente impacto na saúde pública mensurado vários indicadores. A detecção precoce da doença pode ajudar no seu tratamento eficaz. No Brasil, no entanto, o tratamento do Diabetes geralmente começa somente depois que um paciente se apresenta em uma clínica de saúde com sintomas severos e em estágio avançado. Novas ferramentas não invasivas de diagnóstico precoce da patologia têm o potencial de ajudar a diminuir as consequências econômicas e sociais no sistema público de saúde brasileiro. Recentemente, foi demonstrado que a flora bacteriana dos pacientes com diabetes é diferente dos pacientes normais e, portanto, que a detecção de bactérias orais poderia formar a base de ferramentas diagnósticas precoces não invasivas para o diabetes. Neste estudo, caracterizamos cuidadosamente as condições socioeconômicas e de saúde bucal de um grupo de pacientes diabéticos e não diabéticos comparáveis que frequentam a UBS Dr. José Figliuolo em Manaus (Brasil) e foi investigado as amostras de saliva coletadas desses pacientes armazenando-as em cartões FTA Whatman que podem ser usados para detectar bactérias orais. Consistente com estudos anteriores de saúde bucal, foram encontradas diferenças significativas entre nossos grupos de estudo diabético e controle quando comparamos: CPOD (Dentes Cariados, Perdidos e Obturados, $p = 0,005$), PSR (Registro Periodontal Simplificado, $p = 0,025$), periodontite ($0,01$) e CA (Circunferência Abdominal, $p = 0,001$). Utilizando um ensaio PCR – Reação em Cadeia Polimerase - bacteriano 16S (muito semelhante a um anteriormente usado para uma ligação entre diabetes e bactérias orais) amplificamos com sucesso o DNAr 16S de 46 (92%) das amostras de saliva do nosso grupo de estudo e usamos RFLP – Polimorfismos de Tamanhos de Fragmentos de Restrição - para confirmar os polimorfismos de sequência no nosso grupo de estudo. Os resultados confirmam que os pacientes diabéticos atendidos na clínica de saúde José Figliuolo, em Manaus, têm condições socioeconômicas e de saúde bucal semelhantes aos pacientes com diabetes no Brasil e em outros lugares. Os resultados também mostram que os cartões FTA Whatmann podem ser usados para coletar e armazenar DNA (Ácido Desoxirribonucleico) para análise de DNA bacteriano oral e, que possuem o potencial de serem usados como uma ferramenta de diagnóstico de diabetes mellitus baseado em biomarcadores bacterianos.

Palavras-Chave: Odontologia, Diabetes Mellitus Tipo II, Saúde Pública

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a growing international disease burden. Early detection of the disease can assist with its effective treatment. In Brazil, however, diabetes treatment often begins only after a patient presents at a health clinic with severe late-stage symptoms. New early-diagnosing non-invasive tools have the potential to help relieve the disease burden that diabetes places on the Brazilian public health system. Recently, it has been shown that the bacterial flora of diabetes patients is different from normal patients and thus that oral bacteria detection could form the basis of non-invasive early diagnostic tools for diabetes. In this study, we have carefully characterised the socioeconomic and oral health conditions of a group of diabetic and comparable non-diabetic patients that attend the Dr. José Figlioulo health clinic in Manaus (Brazil) and investigated if saliva samples collected from these patients and stored on whatman FTA cards might be used to detect oral bacteria. Consistent with previous oral health studies, significant differences between our diabetic and control study groups were found when we compared: DMFT ($p = 0.005$), PSR ($p = 0.025$), periodontitis (0.01) and CA ($p = 0.001$). Using a bacterial 16S PCR assay (very similar to one previously used to a link between diabetes and oral bacteria) we successfully amplified 16S rDNA from 46 (92%) of the our study group's saliva samples and using RFLP analysis confirmed sequence polymorphisms among our study group. Our results confirm that diabetes patients attending the José Figlioulo health clinic in Manaus have similar socioeconomic and oral health conditions to diabetes patients in Brazil and elsewhere. Our results also show that whatman FTA cards can be used to collect and store DNA for oral bacterial DNA analysis and thus that these cards have the potential to be used in an oral-bacteria-based diabetes mellitus diagnostic tool.

Keywords: Dentistry, Diabetes Mellitus Type II, Public Health

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Fig. 1 - Estimativa da quantidade de pessoas diabéticas no mundo na faixa-tempo (2017-2045). Fonte: IDF Diabetes Atlas, 8th ed.	19
Fig. 2 - Reação de glicose-oxidase, utilizada na dosagem de glicose no sangue. Uma segunda enzima, uma peroxidase, catalisa a reação de H ₂ O ₂ com um componente incolor para produzir um produto colorido, o qual é medido por espectrofotometria	23
Fig. 3 - Mapa de distribuição das unidades de saúde localizadas no Distrito de Saúde Norte da cidade de Manaus. Fonte: SEMSA	44
Fig. 4 – Unidade Básica de Saúde Dr. José Figlioulo, localizada na região norte da cidade de Manaus	45
Fig. 5 - Foto do local atrás da UBS Dr. José Figlioulo	47
Fig. 6 - Busca ativa de pacientes realizada o grupo Hiperdia da Unidade Básica de Saúde Dr. José Figlioulo	50
Fig. 7 - Procedimento de inspeção oral e coleta de material em pacientes da UBS Dr. José Figlioulo, localizada na região norte da cidade de Manaus	53
Fig. 8 - Armazenagem do material coletado de pacientes da UBS Dr. José Figlioulo, localizada na região norte da cidade de Manaus	53
Fig. 9 - Procedimentos de coleta dos materiais de estudo, realizados em pacientes da Unidade Básica de Saúde Dr. José Figlioulo, na cidade de Manaus	54
Fig. 10 - Ficha clínica de Periodontal Screening Recording e sonda 261 da Organização Mundial de Saúde utilizados no estudo. Fonte: Santos, et.al (1998), Oliveira, et.al, 2015	57
Fig. 11 - Extração do DNA das amostras coletadas	59
Fig. 12 - Termociclador e programação para amplificação por PCR	61
Fig. 13 - Processo de Eletroforese para verificação da amplificação	62
Fig. 14 - Digestão de Enzimas (RFLP)	63
Fig. 15 - Glicemia pós-prandial em portadores ou não de Diabetes Mellitus II	64
Fig. 16 - Gráfico de Dispersão entre Índice CPOD e Glicemia Pós Prandial	72
Fig. 17 - Gráfico de dispersão entre Índice CPOD e Circunferência Abdominal	73
Fig. 18: Gráfico de Dispersão entre Índice CPOD e IMC	73
Fig. 19 - Gráfico de Dispersão entre Índice CPOD e Escolaridade	73
Fig. 20 - Gráfico de Dispersão entre Índice CPOD e Renda Familiar	74
Fig. 21 - Gráfico de Dispersão entre Índice Gengival (IG) e Escolaridade	74
Fig. 22 - Gráfico de Dispersão entre Índice Gengival (IG) e Glicemia Pós-prandial	75

Fig. 23 - Gráfico de Dispersão entre Índice Gengival (IG) e IMC	75
Fig. 24 - Gráfico de Dispersão entre Índice Gengival (IG) e Renda Familiar	75
Fig. 25 - Gráfico de Dispersão entre Índice Gengival (IG) e Circunferência Abdominal	76
Fig. 26 - Gráfico de Dispersão entre PSR e IMC	76
Fig. 27 - Gráfico de Dispersão entre PSR e Circunferência Abdominal	77
Fig. 28 - Gráfico de Dispersão entre PSR e Escolaridade	77
Fig. 29 - Gráfico de Dispersão entre PSR e Glicemia pós-prandial	77
Fig. 30 - Gráfico de Dispersão entre PSR e Renda Familiar	78
Fig. 31 - Gráfico de Dispersão entre Índice CPOD e Índice Gengival	78
Fig. 32 – Eletroforese da placa PCR feita com Biblioteca 1. Amostras de saliva do Grupo Diabético (A1, A2, A3, A4, A5, A6,A7, A8, A9, A10, A11, A12, B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11, B12, C1) Amostras Controle, (C2, C3, H2, H3), Amostras de saliva do Grupo Não Diabético (F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8, F9, F10, F11, F12, G1, G2, G3, G4, G5, G6, G7, G8, G9, G10, G11, G12, H1), Amostras de sítios específicos de elementos dentários de pacientes diabéticos (D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8, D9, D10, D11, D12) e Amostras de sítios específicos de elementos dentários de pacientes saudáveis (E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9)	78
Fig. 33 - Eletroforese das 11 amostras não amplificadas com primer da Biblioteca 2. Apenas as alíquotas A11(1), A11(2), B5(1), B5(2), B7(1), B7(2), D6(1), D6(2), D6(4), E7(3), E7(4) foram amplificadas	80
Fig. 34 – Eletroforese das Amostras após Técnica de RFLP (Polimorfismos de Tamanhos de Fragmentos de Restrição)	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação da Diabetes (BAYNES e DOMINICKAZ, 2012)	20
Tabela 2 - Suspeita de Diabetes Mellitus	22
Tabela 3 - Valores para o diagnóstico de DM tipo II e seus estágios pré-clínicos	24
Tabela 4 - Microbiota Residente Oral	28
Tabela 5 - Dados socioeconômicos da amostra estudada	65
Tabela 6 - Dados de Peso, CA e IMC entre os grupos diabéticos e controle	66
Tabela 7 - Atividade Física e Visita ao Médico	67
Tabela 8 - Uso de insulina em diabéticos	67
Tabela 9 - Fatores associados a Diabetes Mellitus	68
Tabela 10 - Alimentos mais consumidos citados pelos usuários	69
Tabela 11 - Avaliação das condições bucais entre os grupos	70
Tabela 12 - – Dados acerca de hábitos sobre saúde oral	71
Tabela 13 - Marca de Pasta de Dentes mais utilizada	72
Tabela 14 – Tamanho de Bandas encontradas em cada grupo	82

ABREVIATURAS E SIGLAS

ADA	Associação Dental Americana
AAP	Academia Americana de Perioontologia
AGE	Produtos Finais de Glicação Avançada
APS	Atenção Primária à Saúde
AQP-2	Aquaporina - 2
BMI	Banco Monetário Internacional
CEP – UEA	Comitê Ética do Pesquisa – Universidade do Estado do Amazonas
CgA	Cromogranina A
CA	Circunferência Abdominal
CPITN	Índice de Necessidade de Tratamento Periodontal Comunitário
CPOD	Dentes Cariados, Perdidos e Obturados
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ESF	Estratégia da Saúde da Família
GLUT4	Transportador de Glicose tipo IV
HBV	Vírus da Hepatite B
HgB	Hemoglobina
HbA1C	Hemoglobina Glicada
IFD ou FDI	Federação Internacional de Diabetes
IG	Índice Gengival
IL-1	Interleucina 1

IL-1 β	Interleucina-1 β
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de Massa Corpórea
MCP-1	Proteína quimiotática de monócito-1
mRNA	RNA mensageiro
MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial da Saúde
ORI	Índice de Classificação Oral
OTU	Unidade Taxonômica Operacional
PCR	Reação em Cadeia Polimerase
PGE	Prostaglandina
PSF	Programa de Saúde da Família
PSR	Periodontal Screening and Recording ou Registro Periodontal Simplificado
RAS	Redes de Atenção à Saúde
RFLP	Polimorfismos de Tamanhos de Fragmentos de Restrição
RYGB	Roux-e-em-Y Gastric Bypass
RPD	Ribossomal Database Project
SUS	Sistema Único de Saúde
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
SISREG	Sistema de Regulação do SUS
SWD	Água Autoclavada e Destilada
TCLE	Termo Consentimento Livre e Esclarecido
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral - α

TTG	Teste de Tolerância a Glicose
UBS	Unidade Básica de Saúde
VIGITEL	Vigilância de Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO	18
1.1 Diabetes	18
1.2 Panorama	18
1.3 Histórico	19
1.4 Classificação	20
1.5 A Fisiopatologia da Diabetes tipo 2.....	20
1.6 O diagnóstico da Diabetes tipo 2	21
1.7 Microbiota Oral.....	25
1.8 A Diabetes Mellitus e a Saúde Oral	34
1.9 Diabetes Mellitus e a Atenção Primária	40
1.10 UBS Dr. José Figliuolo – A APS no Viver melhor	42
2.0 OBJETIVOS	49
2.1 Objetivo Geral	49
2.2 Objetivos Específicos	49
3.0 METODOLOGIA	50
3.1 População do Estudo.....	50
3.2 Local da Pesquisa.....	50
3.3 Critério de Inclusão e Exclusão	51
3.3.1 Grupo de pacientes saudáveis	51
3.3.2 Grupo de pacientes diabéticos.....	51
3.4 Avaliação risco/benefício – aspectos éticos.....	51
3.5 Procedimentos clínicos e de coleta de material biológico	52
3.5.1 Calibração do examinador e Validação do questionário.....	54
3.5.2 Preenchimento dos Índices Orais	54
3.5.2.1 Índice CPOD	54
3.5.2.2. IG.....	55
3.5.2.3 PSR.....	56
3.6 Fase Laboratorial	58
3.6.1 Grupo de pacientes saudáveis	58
3.6.2 Grupo de pacientes diabéticos.....	58
3.6.3 Extração de DNA	58
3.6.4 Diluição da Library (Biblioteca) #1 e #2 (com Golay Barcode) para 10pmol/ml ...	59
3.6.4.1 Biblioteca #1	59

3.6.4.2 Biblioteca #2	59
3.6.5 Diluição do Primer Forward.....	59
3.6.6 PCR (Reação em Cadeia Polimerase)	60
3.6.7 Verificação da amplificação por eletroforese.....	61
3.6.8 Digestão por Enzimas (RFLP) com o Kit Hind III Biolabs 20.000 U/ml.....	63
3.6.9 Eletroforese das amostras após RFLP	63
3.7 Análise dos Dados	63
4.0 RESULTADOS	64
4.1 Resultados da Fase Descritiva	64
4.2 Resultados da Fase laboratorial	78
5.0 DISCUSSÃO	83
6.0 CONCLUSÃO	89
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90
ANEXOS	99

1.0 INTRODUÇÃO

1.1 Diabetes

Diabetes é um distúrbio metabólico relacionado à falta de secreção de insulina ou a sua não efetividade no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios. Se não devidamente controlada o portador sofre degeneração física através dos problemas renais, circulatórios e metabólicos até a morte (OMS, 2016; IFD, 2017). O pâncreas por vários motivos como falha na secreção das células β , tumores malignos, inflamação do órgão dentre outras causas deixa de excretar o hormônio; ou o próprio organismo deixa de estar sensível a esta substância, resultando na resistência insulínica, seja dado a algum erro na produção de receptores que se acoplam à insulina ou na transdução do sinal para as enzimas responsáveis pela captação da glicose, provocando um aumento dos níveis de açúcar na corrente sanguínea e todo um descontrole metabólico. (ALVES, 2006; NELSON e COX, 2014; BAYNES e DOMINICZACK, 2012)

Caso não haja uma melhora na mudança do comportamento da sociedade, envolvendo novos hábitos alimentares, modo de vida ou modelo de produção, os países arcarão com um alto custo para o tratamento desses pacientes, desde absenteísmo no sistema de trabalho e custos com auxílios a medicamentos e recursos humanos no atendimento à saúde destes (BRASIL, 2001, FRANÇA, et al. 2014, SEMSA, 2018).

1.2 Panorama

Em 2016, Margaret Chan, diretora geral da OMS (Organização Mundial de Saúde), lança o primeiro relatório global sobre diabetes usando as seguintes palavras em seu prefácio: “Temos uma enorme tarefa em mãos”, sinalizando a preocupação dos líderes mundiais com relação a esta patologia que além de mutiladora e mortal, prejudica em nível global a economia de todos os países (WHO, 2016).

No relatório do ano de 2014, 422 milhões de pessoas viviam com diabetes, e em 2012, 1,5 milhões de pessoas morreram decorrentes desta patologia. Pela OMS a diabetes custa à economia global o valor de 827 bilhões de dólares ao ano. Zacharias, et al. (2016) relata que o custo do tratamento ambulatorial dos pacientes com Diabetes Mellitus no SUS (Sistema Único de Saúde), no Brasil, são da ordem de US\$ 2.108,00 por paciente por mês, sendo que US\$1.335,00 com custos diretos. A FID (Federação Internacional de Diabetes) na oitava edição de seu atlas em 2017 relatou ratificando dados da OMS que 425 milhões de pessoas na faixa

etária entre 20 a 79 anos têm esta patologia (Fig.1). A previsão utilizando esta faixa etária é que se chegue a 629 milhões de pessoas em todo o mundo no ano de 2045(IDF, 2017).

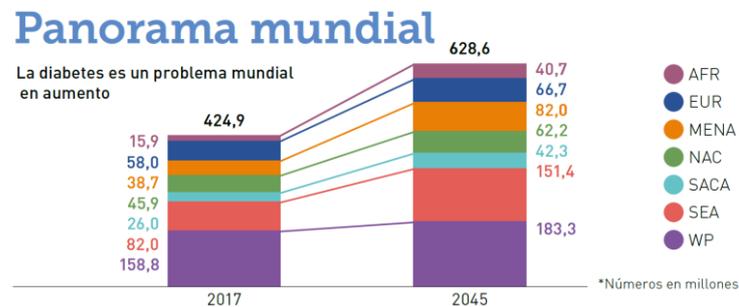


Fig. 1: Estimativa da quantidade de pessoas diabéticas no mundo na faixa-tempo (2017-2045).
Fonte: IDF Diabetes Atlas, 8th ed.

No Brasil, no ano de 2015 houve uma predominância de 14,3 milhões de pessoas diabéticas e estima-se que esta população chegará a 23,2 milhões de pessoas em 2030 (IDF, 2017; YAMASHITA, et al. 2013; ASSIS, et al. 2012). O perfil dos pacientes acometidos com diabetes estudado por Artilheiro et al. (2014) ao analisar as internações desses pacientes no SUS, baseou-se no município de Joinville/SC/Brasil e afirma que 5,2% das mortes é devido a essa patologia afetando de sobremodo os grupos vulneráveis, em especial, pessoas de baixa renda e idosas. No retrato delineado pelo o autor os pacientes encontram-se na faixa etária de 30 a 59 anos, sexo masculino, casados ou acompanhados, baixa escolaridade e classe econômica intermediária (B ou C). No Brasil, em um conjunto de 27 cidades estudadas pelo VIGITEL (Vigilância de Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico) no ano de 2017, a frequência de diagnóstico de diabetes em ambos os sexos foi de 7%, com tal porcentagem diminuindo com o aumento da escolaridade (BRASIL, 2017). A prevalência foi 3,9% para a cidade de Manaus, 7,9% para o sexo masculino e 6,1% para o sexo feminino.

1.3 Histórico

Não é de hoje que esta patologia afeta a humanidade. O nome Diabetes foi denominado pelo médico romano Arateus devido a tríade clássica de sintomas (poliúria, polidipsia e polifagia) e o complemento Mellitus derivado do nome mel por causa do sabor doce da urina dos pacientes. Na Antiguidade um documento médico egípcio de 1550 AC já relatava esses sintomas, mas só em 1850 o fisiologista Claude Bernard demonstrou que a hiperglicemia era uma característica da doença. A causa só foi esclarecida com Von Mering e Minkowski em 1889 em experimento de retirada do pâncreas em cães. No início do século XX descobriu-se a função endócrina da ilhota de Langerhans e em 1921 Banting e Best relacionaram a insulina (inicialmente denominada de isletina) com a redução da glicemia em cães pancreatetomizados.

Em 1922 Frederik Banting ganha o prêmio Nobel de medicina pela instituição da insulina terapêutica (ALVES, 2006).

1.4 Classificação

A Diabetes é classificada de forma geral em 4 tipos: Diabetes tipo I (Diabetes dependente de insulina), Diabetes tipo II (Diabetes independente de insulina), Diabetes Gestacional e Diabetes não específico. A Diabetes tipo I é causado pela autodestruição das células β , com forte componente genético e acomete em geral pacientes juvenis. A Diabetes tipo II ocorre em geral em pessoas com mais de 40 anos e está fortemente associado à obesidade e resistência insulínica. A Diabetes Gestacional é diagnosticada pela primeira vez durante a gravidez podendo ou não permanecer após o parto e a Diabetes não específica ocorre por outros vários fatores: defeitos genéticos na produção da insulina, infecções, doenças no pâncreas, indução por drogas ou outros produtos químicos (Tabela 1). (YAMASHITA et al. 2013; BAYNES e DOMINICZAK, 2012)

Tabela 1 - Classificação da Diabetes (BAYNES e DOMINICKAZ, 2012)

Síndrome	Comentários
Tipo 1	Destruição Autoimune das células β
Tipo 2	Resistencia insulínica e falhas nas células β
Outros tipos	Defeitos Genéticos de células β (ex.: mutações do gene glucoquinase). Rara síndrome de resistência insulínica Doenças do pâncreas exócrino. Doenças endócrinas (acromegalia, síndrome de Cushing). Drogas e diabetes induzida-química, infecções (ex.: caxumba) Raras síndromes com presença de anticorpos antireceptor. Diabetes acompanhando outros distúrbios genéticas (ex.: síndrome de Down)
Diabetes Gestacional	Algum grau de intolerância à glicose diagnosticada na gravidez

* Diabetes tipo 1 foi a mais antiga literatura descrita como diabetes insulino-dependente (IDDM) e tipo 2 como diabetes nãoinsulino-dependente (NIDDM) ou diabetes início da maturidade. Aproximadamente 90% de todos os pacientes diabéticos tem diabetes tipo 2.

1.5 A Fisiopatologia da Diabetes tipo 2

A captação de glicose pelos miócitos e adipócitos é mediada pelo transportador de glicose GLUT4 (Transportador de glicose tipo IV). Entre as refeições, alguns GLUT4 estão presentes na membrana plasmática, porém, a maioria encontra-se sequestrada das membranas

em pequenas vesículas intracelulares. A insulina, liberada pelo pâncreas (células β das ilhas de Langherhans), em resposta a alta concentração de glicose sanguínea, desencadeia o movimento dessas vesículas intracelulares à membrana plasmática, onde elas se fundem, expondo assim os transportadores na superfície externa da célula. Com mais moléculas de GLUT4 em ação, a taxa de captação de glicose aumenta em 15 vezes ou mais. Quando os níveis de glicose sanguínea retornam ao normal, a liberação de insulina torna-se lenta, a maioria das moléculas de GLUT4 é removida da membrana plasmática e armazenada em vesícula. (NELSON e COX, 2014)

Quando há um erro seja na captação de glicose nos receptores dos tecidos que possuem os transportadores para glicose, seja na produção de insulina pelo o pâncreas ou defeitos genéticos na produção de hormônios ou enzimas relacionadas a esse processo é perceptível a tríade clássica que caracteriza a patologia: polidipsia, poliúria e polifagia (ALVES, 2006). A poliúria é explicada pelo baixo nível de vasopressina (hormônio antidiurético) que regula a retenção de água pela mobilização de moléculas AQP-2 (Aquaporina - 2) armazenadas em membranas de vesículas dentro das células epiteliais que revestem o ducto coletor renal. Quando as vesículas se fundem à membrana plasmática das células epiteliais a permeabilidade à água aumenta muito e mais água é reabsorvida do ducto coletor e retorna ao sangue. Menos vasopressina, menos AQP-2 e menos retenção de água. O resultado é volumes copiosos de urina muito diluída. (NELSON e COX, 2014)

O pH do plasma sanguíneo gira em torno de 7,35 a 7,45 e muitas enzimas tem máxima atividade neste intervalo de pH. Pacientes que não fazem tratamento para diabetes interrompe a captação de glicose para dentro dos tecidos e nessas condições, os níveis de malonil-CoA caem, a inibição da carnitina-aciltransferase I é aliviada, e os ácidos graxos entram na mitocôndria para ser degradado a acetil-CoA. O acúmulo desse substrato forma corpos cetônicos além da capacidade de oxidação dos tecidos extra-hepáticos. O aumento dos níveis sanguíneos de acetoacetato e D-b-hidroxiacetato diminui o pH do sangue, causando a condição conhecida como acidose, tornando o pH do plasma sanguíneo menor do que 7,35. Por causa da acidose alguns sintomas podem ser relatados: dor de cabeça, vômitos, diarreia, estupor, convulsões e coma. (NELSON e COX, 2014; BAYNES e DOMINICZACK, 2012)

1.6 O diagnóstico da Diabetes tipo 2

O diagnóstico da Diabetes Mellitus II é relativamente simples, e se houver esforços para sua prevenção, o desenvolvimento da patologia pode não acontecer ou ser retardada (BRASIL, 2001). Através de consultas periódicas com a equipe de saúde e exames laboratoriais para

verificação da glicemia circulante (Glicemia em Jejum, Hemoglobina Glicada, ou Teste de Tolerância a Glicose) é possível um diagnóstico precoce com tratamento imediato, evitando as morbidades resultantes da doença (SBD, 2017; BRASIL, 2017; DUNCAN, 2013).

A diabetes tipo II é uma patologia silenciosa, e quando os sintomas aparecem não deixa de ser comum uma complicação tardia já instalada como problemas endoteliais, proteinúria, retinopatia, neuropatia periférica, doença arteriosclerótica ou então infecções de repetição. Duncan (2013) caracterizou alguns sinais e sintomas, conforme Tabela 2 abaixo, que podem levantar suspeita de que o indivíduo possa estar desenvolvendo a diabetes mellitus iniciando a fase denominada pré-diabetes, termo hoje elaborado para alertar sobre a necessidade de mudança de hábitos e estilo de vida no intuito de paralisar o seu desenvolvimento (BRASIL, 2013).

Tabela 2- Suspeita de Diabetes Mellitus

Sinais e Sintomas Clássicos:

- Poliúria
- Polidipsia
- Perda inexplicada de peso
- Polifagia

Sintomas, menos específicos:

- Fadiga, fraqueza e letargia
- Visão turva (ou melhora temporária da visão para perto)
- Prurido vulgar ou cutâneo, balanopostite

Complicações crônicas/doenças intercorrentes:

- Proteinúria
 - Neuropatia diabética (câimbras, parestesias e/ou dor nos membros inferiores, mononeuropatia de nervo craniano)
 - Retinopatia diabética
 - Catarata
 - Doença arteriosclerótica (infarto agudo do miocárdio, acidente vascular encefálico, doença vascular periférica)
 - Infecções de repetição
-

Fonte: DUNCAN, B. B. et al. 2013.

Por muitos anos foi realizado a reação de Fehling como teste diagnóstico padrão para diabetes, mas atualmente nas dosagens modernas é necessário apenas uma gota de sangue adicionada a uma fita de teste contendo a enzima glicose-oxidase. Um fotômetro simples mede a cor produzida quando a H_2O_2 (peróxido de hidrogênio) da oxidação da glicose reage com um corante, mostrando a concentração de glicose no sangue (Figura 2).

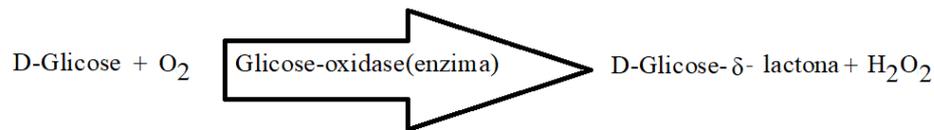


Fig. 2: Reação de glicose-oxidase, utilizada na dosagem de glicose no sangue. Uma segunda enzima, uma peroxidase, catalisa a reação de H_2O_2 com um componente incolor para produzir um produto colorido, o qual é medido por espectrofotometria.

A concentração de glicose média pode ser estimada pelo seu efeito na hemoglobina, a proteína carreadora de oxigênio dos eritrócitos. Uma reação não enzimática ocorre entre a glicose e os grupos amino primários da hemoglobina. A velocidade deste processo é proporcional à concentração de glicose, por isso esta reação pode ser usada como base para a estimativa do nível médio de glicose sanguínea ao longo de semanas. A quantidade de hemoglobina glicada (HbG) circulante em qualquer momento reflete a concentração de glicose sanguínea média durante o “período de vida” do eritrócito (cerca de 120 dias). Valores normais são 5% da hemoglobina total. A reação de glicação da hemoglobina forma após uma série de rearranjos, oxidações, desidratações da porção de carboidratos, uma mistura de AGEs (produtos finais de glicação avançada). Estes produtos podem deixar o eritrócito e formar ligações cruzadas covalentes entre as proteínas, interferindo com a função normal delas. Esse acúmulo em pessoas com diabetes é o que pode causar problemas aos rins, à retina e ao sistema cardiovascular.

Seguindo os passos preconizados pelo o MS (Ministério da Saúde), os pacientes precisam apresentar certos sinais e sintomas clássicos: poliúria, polidipsia, polifagia e perda inexplicada de peso (os quatro P’s). Mas a determinação da hiperglicemia norteia o verdadeiro diagnóstico e é executado por quatro tipos de exames: glicemia casual, glicemia de jejum, teste de tolerância à glicose com sobrecarga de 75 g em duas horas (TTG) e, em alguns casos, hemoglobina glicada (HbA1c). Abaixo na Tabela 3 há as diretrizes conforme a SBD (Sociedade Brasileira de Diabetes) dos critérios laboratoriais para o diagnóstico da diabetes (BRASIL, 2013).

Tabela 3 – Valores para o diagnóstico de DM tipo II e seus estágios pré-clínicos

	Glicose em jejum (mg/dL) ¹	Glicose 2 horas após sobrecarga com 75 g de glicose (mg/dL) – TTG – 75g	Glicose ao acaso ou Glicemia casual	HbA1c (%)	Observações
Normoglicemia	< 100	< 140	-	< 5,7	OMS emprega valor de corte de 110 mg/dL para normalidade da glicose em jejum ²
Pré-diabetes ou risco aumentado para DM	≥ 100 e < 126 ³	≥ 140 e < 200 ⁴	-	≥ 5,7 e < 6,5	Positividade de qualquer dos parâmetros confirma diagnóstico de pré-diabetes
Diabetes Estabelecido (Diabetes Mellitus)	≥ 126	≥ 200	≥ 200 com sintomas inequívocos de hiperglicemia	≥ 6,5	Positividade de qualquer dos parâmetros confirma diagnóstico de DM. Método de HbA1c deve ser o padronizado. Na ausência de sintomas de hiperglicemia, é necessário confirmar o diagnóstico pela repetição de testes.

Fonte: SBD (2017); BRASIL (2013).

1 Jejum de no mínimo 8 horas

2 OMS – Organização Mundial de Saúde

3 Categoria denominada glicemia em jejum alterada

4 Intolerância Oral à Glicose

1.7 Microbiota Oral

O ecossistema oral humano é um ambiente complexo no qual microrganismos coexistem harmonicamente e equilibradamente, regulados e controlados por fatores determinados pelo hospedeiro e pela microbiota relacionada. Qualquer oscilação nos três grupos (residente, suplementar ou transitória) que compõem a microbiota oral devido às suas relações ecológicas (comensalismo, cooperação, simbiose, competição, etc.) ou ao *status quo* do indivíduo (saliva, anticorpos, dieta, higienização, uso de medicamentos, problemas sistêmicos, etc.) resultará no início de patologias orais que se instalarão a partir deste desequilíbrio. (JORGE, 2012)

Essa comunidade ecológica comensal, simbiótica e patogênica que literalmente “mora” nos espaços do nosso organismo tem sido cunhada como microbioma oral, termo designado por Joshua Lederberg (DEWHISRST, 2010). Tal comunidade é diferente até mesmo dentro da própria cavidade oral, pois cada sítio (bochecha, língua, lábios, palato e dentes) é um microecossistema dentro do ecossistema oral havendo bactérias próprias em cada local específico (ALI e TANWIR, 2012). Tal ecologia oral tem uma estabilidade variável, seja por causa de erupção ou extração dentária, devido a tratamentos restauradores ou ortodônticos, seja pela própria esfoliação das células escamosas que tais microrganismos bacterianos acompanham.

Alguns estudos indicam que a diversidade bacteriana oral pode variar de uma região geográfica para outra, apesar de não se conseguir haver uma conexão entre região geográfica e perfis microbianos. Cameron et al. (2015) obteve amostras de saliva de 40 participantes, em períodos diferentes do ano, e analisou se haveria variação da diversidade bacteriana com relação a variabilidade temporal (comparar amostras coletadas em períodos diferentes ao ano em um mesmo indivíduo). A saliva tem sido fortemente estudada visto que está presente em todas as estruturas da flora oral. O que o autor encontrou é que há uma diferença significativa de composição bacteriana salivar entre os indivíduos saudáveis (Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria, Synergistetes e Spirochaetes), todavia sem significância no período de amostragem, mostrando que o microbioma salivar humano possui estabilidade temporal.

Os microrganismos mais importantes da cavidade oral de forma geral são divididos em bactérias, fungos, vírus e Archae. Atualmente há cerca de 700 espécies ou táxons de bactérias identificadas na cavidade oral por serem cultiváveis e um grande número que ainda necessita ser identificado por serem incultiváveis. Vinte e cinco gêneros que nunca haviam sido relatados na microbiota oral humana foram detectados pelo sequenciamento molecular, e embora mais

de 100 genomas bacterianos tenham sido sequenciados, uma grande quantidade de novas espécies são desconhecidos ao ser humano (DEWHIRST, 2010; JORGE, 2012; ALI e TANWIR, 2012; XU e GUNSOLLEY, 2014; WANG, J. et al. 2013, SAKAMOTO, et al. 2003).

Além da estabilidade temporal, as composições bacterianas possuem suas associações, pois a presença de um microrganismo gera um nicho para o outro e a produção de secreções por uma espécie pode servir com nutriente para outra (SULTAN et al. 2018). O gênero *Neisseria* torna o microambiente anaeróbio, facilitando o desenvolvimento da *Haemophilus* e *Veillonella*. Esta última interage metabolicamente com o *Streptococcus* por consumir o ácido láctico produzido por este, favorecendo a persistência de *C. albicans*. *Neisseria*, *Veillonella*, *Haemophilus*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Prevotella* e *Leptotrichia* que são encontrados em locais com reduzidos níveis de nitrato contribuindo para o crescimento do *Actinomycetes*. A *Veillonella* e *Rothia* pois estes utilizam óxido nítrico exercendo efeitos antimicrobianos em micróbios que produzem ácido acético como a *Enterobacter*, *Acetobacter* e *Clostridium* sp, o que se torna um fator de risco para doenças cardiovasculares (ANBALAGAN et al. 2017).

A descrição de microrganismos bacterianos orais iniciaram-se com Anton Van Leeuwenhoek em 1863, na observação de placas dentárias no microscópio. Não há apenas 600 ou 700 táxons na cavidade oral como citado acima, estima-se que através da amplificação do gene RNA ribossomal 16S (16S rRNA) e do seu sequenciamento chegemos a 19000 filotipos de amostras bucais não-cultiváveis. Neste processo as sequencias similares são agrupadas em OTUS (Unidades Taxonômicas Operacionais) e comparadas com bancos de dados da subunidade 16, como Silva, Green Genes e RPD. Através do metagenoma, o mRNA (RNA mensageiro) pode se tornar um biomarcador de enfermidade oral, pela análise funcional dos genes; já através dos dados metatranscriptômicos é possível analisar os genes ativos. Eis as chaves para a criação de ferramentas diagnósticas e terapêuticas (SERRANO-COLL et al. 2015; GOODRICH et al. 2014).

Essas novas tecnologias de sequenciamento molecular conhecidas como Next-Generation Sequencing (NGS) é que estão revolucionando o campo da ciência demonstrando a diversidade da microbiota (flora bacteriana) humana, pois utilizando abordagens moleculares da segunda geração de sequenciadores, é sequenciado a região hipervariável de subunidades pequenas do gene ribossomal 16S rRNA identificando as bactérias (ZAURA, 2012; JIANG et al. 2014). Ling et al. (2013) utilizou o pirosequenciamento 454 para sequenciar a região hipervariável V3 de quatro áreas do corpo humano (nasofaringe, saliva, mãos e fezes) de dez estudantes, e relatou acerca da questão da flora oral:

É necessário definir a microbiota salivar do corpo humano saudável antes de determinar o papel das bactérias nas doenças. Nove Filos, incluindo Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Fusobacteria, Proteobacteria, Spirochaetes, Tenericutes, e duas divisões candidatas (SR1, TM7), foram encontrados. A grande maioria das sequências na saliva (99,2%) pertenciam a um das cinco principais Filo: Actinobacteria (4,9%), Bacteroidetes (16,8%), Firmicutes (58,6%), Fusobacteria (3,0%) e proteobactérias (15,9%) (LING et al. 2013, p. 6).

O mesmo autor discorre sobre os gêneros detectados pelas proporções OTU's (Unidades Taxonômicas Operacionais) encontradas:

Os gêneros mais frequentemente detectados na saliva (Proporções OTU > 1%) foram Streptococcus (45,5%), Prevotella (10,1%), Neisseria (7,4%), Haemophilus (5,1%), Porphyromonas (4,7%), Gemella (3,9%), Rothia (3,0%), Granulicatella (2,2%), Fusobacterium (2,1%), Actinomyces (1,8%), Veillonella (1,7%) e Aggregatibacter (1,3%) (LING et al. 2013, p. 7).

Há outros métodos para a análise de DNA microbiano eficazes, de baixo custo e fácil acesso utilizado na Odontologia e eficazes na área, porém não tão rápidos como os sequenciadores de segunda geração: PCR convencional, PCR em Tempo Real, RFLP (Polimorfismos de Tamanhos de Fragmentos de Restrição), PCR-ASO (Amplificação Alelo Oligonucleotídeos-Específica), PCR-AP (Reação em cadeia da polimerase utilizando primers arbitrários), Microarranjos de DNA (Microarrays) e Checkerboard DNA-DNA hybridization (VALARANI et.al, 2011). O RFLP é muito utilizado na Odontologia Legal identificando sujeitos através da análise dos fragmentos de corte (restrição) do DNA que diferem (são polimórficos) em tamanho (comprimento) entre os indivíduos (MATANNA et al. 2012).

O Instituto Nacional de Saúde dos EUA iniciaram em 2005 o Projeto Microbioma Humano (HMP), para desenvolver estudos sobre os vários microbiomas do corpo humano, utilizando as técnicas moleculares através do sequenciamento de alvos determinados no gene 16S RNA ribossômico das bactérias, ampliando sobremaneira a descoberta de bactérias não cultiváveis na cavidade oral, segundo sítio com maior biodiversidade bacteriana após o cólon intestinal. Há seis maiores filos que dominam a cavidade oral: Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria, Spirochaetes e Fusobacteria (ZHANG et al. 2018; SERRANO-COLL et al. 2015). Na Tabela 4, está identificado por gênero, família e espécie as bactérias orais já identificadas de acordo com Jorge (2012).

Tabela 4 – Microbiota Residente Oral

Família	Gênero	Espécie
Acholeplasmataceae	Acholeplasma	- <i>Acholeplasma laidlawii</i>
Pasteurallaceae	Actinobacillus	- <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>
Actinomycetaceae	Actinomyces	- <i>Actinomyces israelii</i> ; - <i>Actinomyces naeslundii</i> ; - <i>Actinomyces odontolyticus</i> ; - <i>Actinomyces viscosus</i> ; - <i>Actinomyces meyeri</i>
Propionebacteriaceae	Arachnia	- <i>Arachnia propionica</i>
Bacteroidaceae	Bacteroides	- <i>Bacteroides forsythus</i> ; - <i>Bacteroides heparinolyticus</i> ; - <i>Bacteroides oulorum</i> ; - <i>Bacteroides zooglyphiformans</i>
Bifidobacteriaceae	Bifidobacterium	- <i>Bifidobacterium dentium</i> ; - <i>Bifidobacterium denticolens</i> ; - <i>Bifidobacterium inopinatum</i>
Neisseriaceae	Branhamella	- <i>Branhamella catarrhalis</i>
Campylobacteraceae	Campylobacter	- <i>Campylobacter concisus</i> ; - <i>Campylobacter curvus</i> ; - <i>Campylobacter rectus</i> (<i>Wolinella rectus</i>); - <i>Campylobacter sutorum subsp. sputorum</i>
Cytophagaceae	Capnocytophaga	- <i>Capnocytophaga ochracea</i> ; - <i>Capnocytophaga granulosa</i> ; - <i>Capnocytophaga haemolytica</i> ; - <i>Capnocytophaga sputigena</i> ; - <i>Capnocytophaga gingivalis</i>
Cardiobacteriaceae	Cardiobacterium	- <i>Cardiobacterium hominis</i>
Bacteroidaceae	Centipeda	- <i>Centipeda periodontii</i>
Enterobacteraceae	Citrobacter	- <i>Citrobacter spp.</i> ; - <i>C. freundii</i> ; - <i>C. diversus</i> ; - <i>C. amalonaticus</i>

Corynebacteriaceae	Corynebacterium	- <i>Corynebacterium matruchotti</i> ; - <i>Corynebacterium xerosis</i>
Pseudomonadaceae	Chryseomonas	- <i>Chryseomonas luteola</i>
Neisseriaceae	Eikenella	- <i>Eikenella corrodens</i>
Enterobacteriaceae	Enterobacter	- <i>Enterobacter cloacae</i> ; - <i>Enterobacter aerogenes</i> ; - <i>Enterobacter sakazakii</i> ; - <i>Enterobacter agglomerans</i> ; - <i>Enterobacter gergoviae</i> ; - <i>Enterobacter intermedium</i> ; - <i>Enterobacter amnigenus 2</i> ; - <i>Enterobacter spp</i> ; - <i>Enterobacter taylorae</i>
Streptococcaceae	Enterococcus	- <i>Enterococcus faecalis</i> ; - <i>Enterococcus faecium</i>
Enterobacteriaceae	Erwinia	- <i>Erwinia spp(raro)</i>
Enterobacteriaceae	Escherichia	- <i>Escherichia coli</i>
Eubacteriaceae	Eubacterium	- <i>Eubacterium alactolyticum</i> ; - <i>Eubacterium brachy</i> ; - <i>Eubacterium nodatum</i> ; - <i>Eubacterium timidum</i> ; - <i>Eubacterium saburreum</i> ; - <i>Eubacterium ventriosum</i> ; - <i>Eubacterium yuri</i>
Fusobacteriaceae	Fusobacterium	- <i>Fusobacterium alocis</i> ; - <i>Fusobacterium necrophorum</i> ; - <i>Fusobacterium nucleatum</i> ; - <i>Fusobacterium periodonticum</i> ; - <i>Fusobacterium sulci</i>
Gemella	Streptococcaceae	- <i>Gemella haemolysans</i> ; - <i>Gemella morbillorum</i>
Pasteuralaceae	Haemophilus	- <i>Haemophilus aphrophilus</i> ; - <i>Haemophilus parahaemolyticus</i> ; - <i>Haemophilus parainfluenzae</i> ; - <i>Haemophilus paraphrophilus</i> ; - <i>Haemophilus paraphrophaemolyticus</i> ; - <i>Haemophilus segnis</i>
Helicobacteraceae	Helicobacter	- <i>Helicobacter pylori</i>

Enterobacteriaceae	Klebsiella	- <i>K. pneumoniae pneumoniae</i> ; - <i>Klebsiella pneumoniae ozaenae</i> ; - <i>Klebsiella p. rhinoscleromatis</i> ; - <i>Klebsiella oxytoca</i> ; - <i>Klebsiella terrigena</i> ; - <i>Klebsiella planticola</i> ; - <i>Klebsiella ornithinolytica</i> ; - <i>Klebsiella spp.</i>
Enterobacteriaceae	Kluyvera	- <i>Kluyvera spp.</i> ; - <i>Kluyvera ascorbata</i>
Lactobacillaceae	Lactobacillus	- <i>Lactobacillus acidophilus</i> ; - <i>Lactobacillus brevis</i> ; - <i>Lactobacillus buchneri</i> ; - <i>Lactobacillus casei</i> ; - <i>Lactobacillus celobiosus</i> ; - <i>Lactobacillus confusus</i> ; - <i>Lactobacillus crispatus</i> ; - <i>Lactobacillus fermentum</i> ; - <i>Lactobacillus gasseri</i> ; - <i>Lactobacillus oris</i> ; - <i>Lactobacillus plantarium</i> ; - <i>Lactobacillus paracasei</i> ; - <i>Lactobacillus rimae</i> ; - <i>Lactobacillus salivarius</i> ; - <i>Lactobacillus uli</i> ; - <i>Lactobacillus rhamnosus</i>
Fusobacteriaceae	Leptotrichia	- <i>Leptotrichia bucallis</i> ; - <i>Leptotrichia hofstadii</i> ; - <i>Leptotrichia shahii</i> ; - <i>Leptotrichia wadei</i>
Micrococcaceae	Micrococcus	- <i>Micrococcus spp.</i>
Streptococcaceae	Micromonas	- <i>Micromonas micros</i>
Peptococcaceae	Mitsuokella	- <i>Mitsuokella dentalis</i>
Neisseriaceae (talvez Moraxellaceae)	Moraxella (subgênero) Branhamella (subgênero)	- <i>Moraxella catarrhalis</i> ; - <i>Banhamella catarrhalis</i> (antiga <i>Neisseria catarrhalis</i>)
Mycoplasmataceae	Mycoplasma	- <i>Mycoplasma buccale</i> ; - <i>Mycoplasma faucium</i> ; - <i>Mycoplasma lipophilum</i> ; - <i>Mycoplasma orale</i> ; - <i>Mycoplasma salivarium</i>
Neisseriaceae	Neisseria	- <i>Neisseria flavescens</i> ; - <i>Neisseria mucosa</i> ; - <i>Neisseria sicca</i> ; - <i>Neisseria subflava</i>

Entrobacteriaceae	Pantoea	- <i>Pantoea agglomerans</i> ; - <i>Pantoea dispersa</i> ; - <i>Pantoea punctata</i> ; - <i>Pantoea cítrea</i> ; - <i>Pantoea térrea</i> ; - <i>Pantoea ananás</i> ; - <i>Pantoea stewartii</i>
Peptococcaceae	Peptococcus	- <i>Peptococcus niger</i>
Streptococcaceae	Peptostreptococcus	- <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ; - <i>Peptostreptococcus micros</i> ; - <i>Peptostreptococcus magnus</i>
Bacterioidaceae	Porphyromonas	- <i>Porphyromonas asaccharolytica</i> ; - <i>Porphyromonas catoniae</i> ; - <i>Porphyromonas endodontalis</i> ; - <i>Porphyromonas gingivalis</i>
Bacterioidaceae	Prevotella	- <i>Prevotella bivia</i> ; - <i>Prevotella buccae</i> ; - <i>Prevotella bucallis</i> ; - <i>Prevotella corporis</i> ; - <i>Prevotella dentalis</i> ; - <i>Prevotella denticula</i> ; - <i>Prevotella enoeca</i> ; - <i>Prevotella intermedia</i> ; - <i>Prevotella loeschi</i> ; - <i>Prevotella melaninogenica</i> ; - <i>Prevotella nigrescens</i> ; - <i>Prevotella oralis</i> ; - <i>Prevotella oris</i> ; - <i>Prevotella salivae</i> ; - <i>Prevotella shahii</i> ; - <i>Prevotella veroladis</i> ; - <i>Prevotella zoogloformans</i>
Propionibacteriaceae	Propionibacterium	- <i>Propionibacterium propionicum</i>
Pseudomonadaceae	Pseudomonas	- <i>P. aeruginosa</i> ; - <i>P. maltophilia</i> ; - <i>P. cepacia</i> ; - <i>Pseudomonas spp.</i> ; - <i>P. fluorescens</i> ; - <i>P. maltophililia</i> ; - <i>P. stutzeri</i> ; - <i>P. paucimobilis</i> ; - <i>P. pseudomallei</i>
Micrococcaceae	Rothia	- <i>Rothia denthocariosa</i> ; - <i>Rothia mucilaginoso</i>
Peptococcaceae	Selenomonas	- <i>Selenomonas artemidis</i> ; - <i>Selenomonas diana</i> ; - <i>Selenomonas flueggei</i> ; - <i>Selenomonas infelix</i> - <i>Selenomonas noxia</i> ; - <i>Selenomonas sputigena</i>
Enterobacteriaceae	Serratia	- <i>S. marcescens</i> ; - <i>S. liquefaciens</i> ; - <i>S. rudidaea</i> ; - <i>S. plymutica</i> ; - <i>S. odorífera</i>

Staphylococcaceae	Staphylococcus	<p>-<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>Aureus</i>; -<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>Anaerobius</i>; -<i>Staphylococcus hyicus</i>; -<i>Staphylococcus schleiferi</i>; -<i>Staphylococcus epidermidis</i>; -<i>Staphylococcus saccharolyticus</i></p>
Micrococcaceae	Stomatococcus	<p>-<i>Stomatococcus mucilaginosus</i></p>
Streptococcaceae	Streptococcus	<p><i>Grupo mutans</i></p> <p>-<i>Streptococcus mutans</i>; -<i>Streptococcus sobrinus</i>; -<i>Streptococcus cricetus</i>; -<i>Streptococcus rattus</i>; -<i>Streptococcus downei</i>; -<i>Streptococcus macacae</i>; -<i>Streptococcus ferus</i></p> <p><i>Grupo anginosus</i></p> <p>-<i>Streptococcus anginosus</i>; -<i>Streptococcus constellatus</i>; -<i>Streptococcus intermedius</i></p> <p><i>Grupo mitis</i></p> <p>-<i>Streptococcus mitis</i>; -<i>Streptococcus oralis</i>; -<i>Streptococcus sanguis</i>(<i>sanguinis</i>); -<i>Streptococcus gordonii</i>; -<i>Streptococcus parasanguis</i>; -<i>Streptococcus crista</i>; -<i>Streptococcus pneumoniae</i></p> <p><i>Grupo salivaris</i></p> <p>-<i>Streptococcus salivaris</i>; -<i>Streptococcus infantarius</i>; -<i>Streptococcus vestibularis</i>; -<i>Streptococcus thermophilus</i></p>

Bacteroidaceae	Tannerella	- <i>Tannerella forsythensis</i> (<i>forshytia</i>)
Spirochaetaceae	Treponema	- <i>Treponema denticola</i> ; - <i>Treponema macrodentium</i> ; - <i>Treponema scoliodontum</i> ; - <i>Treponema sockranskii</i> (<i>subsp. buccale</i> ; <i>subsp. paredis</i> ; <i>subsp. socranskii</i>); - <i>Treponema vincentii</i>
Mycoplasmataceae	Ureaplasma	- <i>Ureaplasma urealyticum</i>
Veillonellaceae	Veillonella	- <i>Veillonella atypica</i> ; - <i>Veillonella dyspar</i> ; - <i>Veillonela montpellierensis</i> ; - <i>Veillonela parvula</i>
Enterobacteriaceae	Yersinia	- <i>Y. enterocolitica</i> ; - <i>Y. intermedia</i>

Fonte: Jorge (2012).

1.8 A Diabetes Mellitus e a Saúde Oral

Na Diabetes Mellitus tipo II o aumento do nível de glicose sanguínea desequilibra a população de bactérias que vivem harmonicamente na microbiota oral, abrindo uma porta para o crescimento de bactérias patogênicas. Como este processo ocorre ainda é mal compreendido, o que se tem conhecimento é de que a Diabetes é um fator de risco para doenças periodontais visto que o sistema imunológico, a microbiota subgingival, o metabolismo do colágeno e a consequente vascularização local é comprometida. Acrescentando a este quadro mórbido, a periodontite, comum nestes pacientes, compromete o controle glicêmico por elevar o nível de citocinas pró-inflamatórias, e essa bacteremia local possibilita que bactérias atinjam a corrente sanguínea promovendo complicações cardiovasculares (SILVA, 2016; YAMISHITA et al. 2013).

Embora todo o conhecimento pareça estar completo, a relação periodontite e diabetes não está muito claro. Recentemente há uma relação bidirecional entre periodontite, controle glicêmico e doenças orais (periodontite). O tratamento de infecções periodontais em diabéticos diminui significativamente os níveis de HbA1C (Hemoglobina Glicada), e estudos mostram que a periodontite induz a bacteremia o que pode elevar as citocinas pro-inflamatórias resultando em aumento de resistência insulínica e destruição das células β pancreáticas (ALPERT, 2017). Kogawa et al. (2016), encontrou um aumento de cromogranina A (CgA) em pacientes diabéticos não controlados que apresentavam uma doença periodontal severa, condição mais grave do que o risco de cárie. A cromogranina A é um ácido glicoprotéico advindo das vesículas secretoras de células neurais e endócrinas sendo um marcador biológico da ação do nervo simpático. Esta, é conhecida por aumentar a resposta ao stress físico e psicológico, fortemente indicadora de stress e sua associação entre altos níveis de CgA e periodontite está sendo sugerida.

O periodonto, muito similar ao que ocorre na retina e glomérulo renal, é afetado pelos produtos finais de glicação avançada (AGEs), pelo aumento do stress oxidativo no tecido, e pela alteração nas funções das células endoteliais e imunes (neutrófilos, monócitos e macrófagos). A aderência neutrófila, a quimiotaxia e a fagocitose prejudicada possibilita a permanência de bactérias na bolsa periodontal e as citocinas e mediadores pró-inflamatórios (TNF- α , IL-6, fibrinogênio, Proteína C-reativa, IL-1 β) além de causar danos ao DNA gengival e destruição óssea, impactam no controle glicêmico pelo o aumento da resistência insulínica (WANG, J. et al. 2013; MEALEY, B.L. et al. 2008). Tem sido proposto que o periodonto inflamado possa atuar como uma fonte endócrina de mediadores inflamatórios, como TNF- α ,

IL-1, PGE-2 e IL-6 e de que metalonoproteinases de matriz degradam colágeno promovendo a microangiopatia no periodonto (OHLRICH, 2010). Em combinação com essas complicações sistêmicas, há frequentemente manifestações orais e complicações que incluem xerostomia e doenças mucosas (úlceras aftosa recorrente e síndrome da boca ardida).

Caso o paciente não realize uma dieta reduzida de carboidratos, a saliva desses pacientes se torna um adequado meio de crescimento para os microrganismos orais responsáveis pelas cáries, doenças periodontais e infecções fúngicas presentes nesses portadores. A necessidade desses usuários de ter uma rotina de visitas ao dentista é imperativo, tanto no início do tratamento da diabetes debelando focos infecciosos quanto durante, visto que, as medicações de controle da diabetes possuem efeitos colaterais que interferem no atendimento odontológico como a xerostomia, a hipotensão postural, o coma diabético e a hipoglicemia. (SEVERSON et al. 2014).

Para o cirurgião-dentista é de suma importância ter conhecimento de como realizar o atendimento aos pacientes portadores de diabetes, pois nestes a maior preocupação são as doenças periodontais que classicamente afeta os diabéticos. Índices periodontais são idealizados para que a nível coletivo ou mesmo individual possa se conhecer o *status quo* do paciente e instalar o tratamento adequado. Um desses índices é o RPS (Registro Periodontal Simplificado), uma modificação do CPITN (Índice de Necessidade de Tratamento Periodontal Comunitário) desenvolvido em 1992 pela Associação Dental Americana (ADA) e a Academia Americana de Periodontologia (AAP), sob o patrocínio da Procter & Gamble. O RPS tem sido amplamente difundido, por avaliar de forma rápida e simples as condições periodontais dos indivíduos, tanto para identificar a saúde periodontal como problemas periodontais, sendo um bom aliado para a identificação a nível coletivo no SUS. (OLIVEIRA et al. 2013).

Através de sinais e sintomas encontradas na cavidade oral o profissional em Odontologia no atendimento aos portadores de Diabetes Mellitus tipo II, pode instituir o tratamento necessário para auxiliar no controle da doença. Algumas patologias orais possuem relação direta com a hiperglicemia e cetoacidose diabética, como a periodontite e gengivite, havendo até mesmo quando não tratadas, um inadequado controle glicêmico no paciente, em razão de que há uma relação bidirecional de fatores pró-inflamatórios presentes na cavidade oral por causa dessas patologias e o aumento da resistência insulínica nos tecidos (OLIVEIRA et al. 2018, SANDBERG et al. 2000, ZHANG et al. 2018, LONG et al. 2017, AMARAL et al. 2006, OLHRICH et al. 2010, MEALY e ROSE, 2008, FELIPE et al. 2013, SEVERSON et al. 2014).

A diabetes está claramente associada com obesidade e doença periodontal. Shillitoe et al (2013) realizou um estudo da microflora oral e intestinal em pacientes que sofreram revascularização intestinal chamada Roux-em-Y Gastric Bypass (RYGB) para diminuição de peso corporal. O autor reportou nas suas amostras antes/pós cirurgia que os níveis glicêmicos dos sujeitos pós-cirúrgicos entraram em normalidade, dado a perda do peso, sendo a Bifidobactéria presente tanto no intestino como na boca a mais abundante. O autor conclui:

“Este estudo investigou a viabilidade de estudar a microflora oral em pacientes submetidos a cirurgia de bypass gástrico como uma nova abordagem para aumentar nossa compreensão da obesidade e suas comorbidades DM2 e doença periodontal. Os dados são consistentes com as hipóteses de que o RYGB afeta o microbioma do trato gastrointestinal e que os estudos da flora oral podem fornecer informações úteis para direcionar potenciais novos tratamentos. Estudos futuros exigirão populações maiores de pacientes, observações em todo o microbioma e investigações dos mecanismos de organismos selecionados” (SHILLITOE et al. 2012).

Na Suécia, Sandberg et al. (2000) realizou um estudo de corte transversal comparando 102 diabéticos e 102 grupo controle equiparando idade e gênero. Algumas condições clínicas foram observadas: índice gengival, índice de placa, profundidade de bolsa periodontal, nível de perda óssea, cáries iniciais ou manifestas, presença ou não de xerostomia, há quanto tempo o paciente foi diagnosticado com diabetes, como é realizado o tratamento de controle (dieta ou drogas, tratamento insulínico ou combinação de ambos). Os pacientes diabéticos desenvolvem severa periodontite possivelmente ao fato da hiperglicemia no fluido gengival; a cárie de raiz é frequente provavelmente por causa da xerostomia presente nesse grupo, no entanto não há correlação entre a duração do tempo de diagnóstico de diabetes com a prevalência e severidade da doença periodontal.

O indivíduo em estado pré-diabético possui uma forte propensão em futuramente ser um paciente portador de Diabetes Mellitus tipo II e de doenças cardiovasculares. A diabetes está associada com o aumento do risco de desenvolver periodontite, e há a clássica hipótese bidirecional positiva de que a disbiose subgengival pode se tornar um marcador de periodontite assim como um fator de risco para a desestabilização glicêmica em pacientes com diabetes controlado. Conforme Olrich, et al. (2010) os indivíduos diabéticos podem ser mais suscetíveis à periodontite crônica, como resultado da hiperglicemia que altera o microambiente

subgengival, de tal forma que as espécies bacterianas mais patogênicas se tornarão dominantes. Números aumentados dos chamados patógenos periodontais foram isolados de bolsas periodontais de pacientes diabéticos embora as diferenças específicas na microbiota de diabéticos em comparação com não-diabéticos não estejam claras.

Recentemente, há a hipótese de que a disbiose gengival pode contribuir para a gênese de diabetes entre indivíduos livres desta patologia. Consequentemente, a presença crescente de certas bactérias pode se tornar biomarcadores precoces para prever o risco futuro de patologias locais e sistêmicas. Autores acreditam que as bactérias periodontopatogênicas podem estar associadas com alta prevalência de prediabetes. O estado prediabetes é diagnosticado, de acordo com a definição da ADA, em pacientes com uma HbA1c entre 5,7% e 6,4% ou glicemia em jejum entre 100 a 125 mg/dL. Algumas bactérias subgengivais foram associadas a esse estado: *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *A. naeslundii*. Isso mostra uma forte associação entre a periodontite e pre-diabetes. Demmer et al. (2015) afirmam ter sido o primeiro estudo a investigar a associação entre a microbiota periodontal e a prevalência de prediabetes entre adultos jovens livres de diabetes.

Em estudos realizados na Tailândia, comparando indivíduos diabéticos e grupo controle, chegou-se as seguintes conclusões: 1º - Quanto mais alto os níveis de marcadores biológicos de glicose (glicemia em jejum e HbA1c) maior atividade de cárie nos pacientes diabéticos, apesar de que essa diferença não seja estatisticamente significativa; 2º - Há um elevado número de estreptococos e lactobacilos cultiváveis associados ao índice de cárie, com o número de *Lactobacillus* muito mais alto, correlacionando positivamente os níveis de glicose em jejum e HbA1c com os níveis de estreptococos e lactobacilos (KAMPOO et al. 2014).

Outro estudo na Índia comparou amostras de saliva e de sangue em pacientes diabéticos após o uso *Neem stick* (*Azadiracta indica*) realizando uma sequência metagenômica com Ion Torrent PGM com os níveis de uma proteína quimiotática de monócito (MCP-1). Na análise microbiana dos sujeitos com diabetes tipo II antes do uso do *Neem* foi encontrado: *Streptococcus* (95,8%, predominante na saliva destes pacientes), *Neisseria* (87,5%), *Veillonella* (72,2%), *Haemophilus* (87,5%), *Vibrio* (62,4%), *Rothia* (64%), *Actinomycetes* (25%), *Fusobacterium* (21%), *Pasteurellaceae* (0,8%) e *Pigmentiphaga* (12,5%). *Eikenella* (0,74%), *Gamella* e *Leptotrichia* (20%) também foi encontrado. Após o uso do *Neem stick* a carga bacteriana oral reduziu consideravelmente, e a detecção de altos níveis de MCP-1 foi relacionado a altos níveis de glicemia. A resistência insulínica foi induzida pelo constante baixo grau de inflamação presente (ANBALAGAN et al. 2017).

Através da análise de sequenciamento do 16S rRNA, Ogawa et al. (2017) caracterizou a microbiota existente em saliva não estimulada de 3 pacientes com diabetes tipo 2 e 12 sem evidências com diabetes (estado pré-diabetes) e 9 como grupo controle. No grupo com Diabetes Mellitus *Actinomyces* e *Selenomonas* foi significativamente abundante enquanto a taxa de *Alloprevotella* mostrou-se mais baixa no grupo não diabético. A disbiose oral não está clara na associação com a microbiota intestinal, apesar da forte ligação entre placa dentária, doença periodontal e desordens sistêmicas como diabetes.

Rajakumari e Kumari (2016) analisou da prevalência a flora bacteriana oral aeróbica de 200 swabs bucais de indivíduos diabéticos em Pondicherry/Índia utilizando placas de ágar de sangue e testes bioquímicos convencionais com apenas uma bactéria isolada caracterizada filogeneticamente usando o sequenciamento do 16S rRNA e chegou à conclusão de que os organismos Gram positivos são os mais predominantes na cavidade oral de indivíduos diabéticos. Os resultados foram: *Staphylococcus aureus* (49,5%), *Streptococcus pyogenes* (1,44%), *Streptococcus sp.* (19,85%), *Micrococcus sp.* (3,61%), *Lactobacillus sp.* (3,24%), *Escherichia coli* (0,72%), *Enterobacter sp.* (2,16%), *Klebsiella sp.* (1,44%), *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* (0,36%), *Proteus sp.* (1,44%), *Citrobacter sp.* (3,24%), *Serratia sp.* (3,97%), *Salmonella typhi* (1,08%), *Pseudomonas aeruginosa* (1,44%) e 6,49% bactérias isoladas não identificadas.

Long et al. (2017) comparou 98 portadores de diabetes tipo II, 99 pacientes não diabéticos obesos e 97 não diabéticos com peso normal (controle) através do sequenciamento do gene 16S rRNA. Quanto mais alta a taxa de abundância do filo Actinobacteria (grupo de bactéria gram positiva) na cavidade oral, menor é o risco do paciente ser portador de diabetes (Em especial o *Actinomyces*, representante deste filo). A família Gemellaceae do filo Firmicutes mostrou-se muito abundante e presente em todos os pacientes com diabetes e apenas um gênero o *Gemella* foi associada com o aumento do risco de diabetes.

Nabee et al. (2017) acompanhou 150 pacientes moradores de Maurícia/África divididos em 3 grupos: diabéticos, cardíacos e controle. Os autores avaliaram a saliva dos indivíduos através de incubação bacteriana e mensuraram a saúde bucal através do CPOD (índice de dentes perdidos, cariados e obturados) e ORI (índice de classificação oral). A carga microbiana de *Streptococcus mutans* nos diabéticos diagnosticados em longa data foi maior do que no grupo controle e os pacientes cardíacos possuíam essa mesma espécie bacteriana, porém em dobro quando comparado com o grupo dos diabéticos. O pH salivar mais baixo correlacionado com um CPOD mais alto corrobora esses estudos. Isso conforme os autores são devido a uma

alteração da composição salivar e de seu fluxo o que proporciona uma modificação nas proporções de espécies bacterianas orais na ecologia microbiana bucal, o que faz com que haja esse aumento de bactérias cariogênicas encontradas nos pacientes diabéticos e cardíacos.

Zhou et al. (2013) estudando através do pirosequenciamento 454 do 16S rDNA a correlação das bactérias entre pacientes diabéticos ou não e com ou sem periodontite, reconheceu que a tendência da flora saudável é de reduzir-se nos pacientes diabéticos sem periodontite predispondo-os a desenvolverem essa patologia, e que o excesso de glicose nos fluidos gengivais favorece o crescimento de certas bactérias como a *C. sputigena*, notória fermentadora de glicose e abundante na flora oral dos diabéticos. Ainda identificou certas bactérias desconhecidas associadas a periodontite em suas amostras.

A cavidade oral possui uma complexa diversidade microbiana, e depende da manutenção do equilíbrio e da homeostasia dessa comunidade o desenvolvimento ou não de determinadas doenças orais ou sistêmicas. Há um papel importante desses microorganismos em doenças sistêmicas como diabetes, endocardite bacteriana, inflamação do intestino, problemas na gravidez, pneumonia, câncer pancreático e câncer do colón. Xiao et al. (2016) utilizando o pirosequenciamento 454 FLX para amplificação da região hipervariável V1-V3 do 16S rDNA, identificou uma bactéria (*Cardiobacterium*) participante da microflora oral e nasofaríngea que integra o grupo HACEK (*Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella* e *Kingella*) que facilmente provoca a endocardite bacteriana. Raramente há estudos que relacionem as bactérias orais e doenças sistêmicas.

Sakamoto et al. (2003) utilizou a análise do polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição terminal para caracterizar juntamente com um sequenciador de DNA automático a flora bacteriana de 18 pacientes saudáveis e 18 pacientes com periodontite na amostra de saliva utilizando tal técnica na área 16S rDNA bacteriana amplificada por PCR. Com esta técnica os autores encontraram uma diversidade inesperada em pacientes com periodontite, validando este método molecular para o estudo de bactérias orais para qualquer situação. Essa é uma técnica rápida para avaliar a diversidade de perfis bacterianos complexos comparando a estrutura e a diversidade de populações de ecossistemas diversos, útil para um diagnóstico rápido (LIU et al. 1997).

O estudo com diabéticos não se restringe apenas a parte bacteriana. É conhecido que a micologia dos pacientes diabéticos é rica na quantidade de *Candida Albicans*, e é possível com a técnica de RFLP identificar e diferenciar as espécies de *Candida* nesses pacientes.

Mohammadi et al. (2016) realizou um estudo neste sentido ao comparar as espécies de *Candida* presentes em pacientes diabéticos e não diabéticos, o que confirmou através deste método a maior frequência deste fungo em portadores de Diabetes Mellitus.

1.9 Diabetes Mellitus e a Atenção Primária

A Atenção Primária a Saúde (APS) define-se como um conjunto de intervenções que age sobre os determinantes e condicionantes de saúde da população, cujas ações de promoção, proteção e reabilitação da saúde baseia-se nos princípios do Sistema Único de Saúde (SUS): universalidade, equidade e integralidade. Se propõe a ser a primeira porta de entrada aos serviços conforme norma operacional básica do SUS de 1996 (NOB/96) através da ESF (Estratégia Saúde da Família), orientado a APS, sendo um eixo de coordenação do cuidado e de ordenação das Redes de Atenção à Saúde (RAS), tendo como base de funcionamento as Unidades Básicas de Saúde pelas quais o usuário acessa o sistema, havendo hoje uma cobertura populacional nacional de 58% (LIMA et al. 2008; MOROSONI et al. 2018).

Quando falamos de Atenção Primária a Saúde (APS), no Brasil, o primeiro impacto que chega às nossas mentes é de postos de saúde repletos de usuários, falta de medicamentos, falta de infraestrutura e de recursos humanos necessários para atender a demanda adstrita na territorialidade destes pontos de atendimento. Infelizmente após, 30 anos de implantação do SUS (Sistema Único de Saúde), ainda convivemos com essa realidade em nosso país. O termo APS, desenvolvido marcadamente por Barbara Starfield em seus estudos, tem como conceito principal o acesso aos cuidados primários, a longitudinalidade do cuidado, igualmente visto como continuidade de cuidados, centrado no atendimento à família no intuito de atender toda a comunidade (LAVRAS, 2011).

Ao chegar em nosso país, o termo internacionalmente conhecido como Atenção Primária a Saúde (APS) tornou-se sinônimo de Atenção Básica a Saúde apesar das discussões conceituais no campo teórico. Muitos sanitaristas não acatam esta visão, visto que a palavra “básico” se torna semelhante a “cesta básica de serviços”, utilizado pelos os órgãos financeiros internacionais, principalmente o BMI (Banco Monetário Internacional) e repudiado pelo Movimento Sanitarista Brasileiro. Limitar o acesso a poucos serviços que em nada alcançam as necessidades reais de cada país, e principalmente num país como o nosso extremamente diversificado em seus problemas de saúde, seria e é um contrassenso (OLIVEIRA e PEREIRA 2013).

Deve-se ter em mente que Atenção Primária a Saúde, não pode ser associada a uma saúde destinada aos pobres ou para a população carente. Mas sim um ordenamento ou reordenamento do sistema de saúde para que a APS seja vista com um dos níveis de atenção à saúde da população, ou melhor denominando como o primeiro nível que tenha o potencial de ter ampla cobertura populacional e proporcione resolutividade na maioria dos problemas de saúde que assolam um país. Deve ser um sistema que possa gerenciar os serviços de saúde em redes de atenção de saúde utilizando as tecnologias mais avançadas de forma racional realizando um tratamento continuado do indivíduo até a sua resolutividade, cujo cuidado deva ser monitorado pela equipe de saúde, cuidado este que extrapola os muros das clínicas de saúde (LAVRAS, 2011; SANTOS et al. 2017).

Sabemos que o SUS desenvolveu nesses anos a Atenção Básica à Saúde como porta principal de entrada ao sistema fortalecendo seus princípios e diretrizes, centralizando boa parte do seu acesso pelo Programa Saúde da Família (PSF) criado em 1994 e denominado Estratégia da Saúde da Família (ESF) em 2004 para atingir uma cobertura populacional de 80%. Pelas Unidades Básicas de Saúde e suas ESFs acopladas, a acessibilidade dos usuários se torna possível às tecnologias de baixa densidade e às atividades ambulatoriais não especializadas, fomentando proteção, prevenção e promoção a saúde, mesmo coexistindo com o modelo assistencial biomédico ainda presente (FERTONANI et al. 2015).

O Ministério da Saúde (MS), em 2001, propôs um Plano de Reorganização da Atenção à Hipertensão Arterial e Sistêmica e ao Diabetes Mellitus, reconhecendo a importância da APS como um meio de ofertar o cuidado necessário a essa população iniciando um Sistema de Cadastramento e Acompanhamento de Hipertensos e Diabéticos (SISPERDIA/HIPERDIA), monitorando o tratamento e estabelecendo com isto vínculos entre a equipe de saúde e os pacientes cadastrados, realizando a educação do usuário incorporando a realidade deste neste processo (SOUZA e GARNELO, 2008; BRASIL, 2001). Este plano realiza estratégias como reuniões mensais com ações educativas, incentivo a prática de atividades físicas, consultas médicas agendadas e entrega/controle de medicamentos. Cabe a cada município possuir uma programação local aos usuários cadastrados (SILVA et al. 2015).

Assis et al. (2012) ao refletir sobre o cuidado que o HIPERDIA proporcionava aos pacientes, observou que há uma insuficiente articulação interinstitucional, necessitando de fortalecimentos nas metodologias dirigidas a atividades de educação em saúde de programas de educação permanente, investimento na capacitação dos profissionais atuantes, tendo que o acompanhamento não seja restrito apenas do diagnóstico médico, mas haja perspectivas

complementares que satisfaçam outras demandas desses usuários (enfermagem, nutricionista, odontologia, fisioterapia, entre outros). Dentro da equipe de saúde, o cirurgião-dentista é um dos profissionais na Atenção Básica que pode detectar precocemente o portador de diabetes e encaminhá-lo para o tratamento necessário (CARNUT, 2017). Só desta forma poderá haver uma melhoria nos indicadores de saúde através da melhoria dos serviços ofertados não deixando de atrelar os fatores sociais, econômicos e ambientais dos pacientes, aproximando-se da realidade destes na localidade em que residem (ATAÍDE e DAMASCENO 2006).

Assim o termo integralidade, se torna relevante para esses pacientes. Silva et al. (2010) discutiu a complexidade de realizar atendimentos nestes usuários conclamando a necessária integração entre os profissionais de saúde ao analisar 300 indivíduos para avaliação clínica e entrevista, assim como de gestores de unidades de saúde. Apesar de estarem em acompanhamento médico apenas 3,4% eram atendidos por outros profissionais de saúde. Costa et al. (2011) torna bem claro que para que os pacientes tenham um estímulo de vida saudável, *“a extrapolação da saúde para além da prática clínica englobando condições de vida gerada por relações sociais é um importante elemento para se entender o processo saúde-doença”*. Deve-se haver uma equipe multiprofissional que possa orientar os indivíduos na prática de hábitos de vida saudáveis e realize um efetivo controle do tratamento medicamentoso para a efetiva melhora do controle glicêmico (ZACHARIAS et al. 2016).

As estratégias de humanização são convocadas para diminuir a tecnicidade, promovendo a valorização do subjetivo humano, o que deve ser priorizado pelos os profissionais de saúde. Porém para que isto realmente aconteça a valorização dos profissionais é mais do que necessária para que efeitos negativos não ocorram nesta relação profissional/usuário e a articulação cuidado, integralidade e atributos da APS não se abale (CARNUT, 2017). Há a tendência de os serviços de saúde serem focalizados e seletivos responsivos a determinada queixa, com tecnologias ainda atrasadas e discriminatórias, agravado com a defasagem entre os custos estimados para um serviço de qualidade e o valor repassado pelo o SUS, o que termina inegavelmente afetando no cuidado ao usuário (ASSIS et al. 2003; MARINHO et al. 2011).

1.10 UBS Dr. José Figliuolo – A APS no Viver melhor

Manaus é uma cidade em constante crescimento. Por ser um local de intensa imigração e emigração, necessita ampliar seus serviços de saúde para abranger áreas em expansão. Uma dessas áreas é o bairro Lagoa Azul criado em 2010 com uma área de 2.961 quilômetros quadrados e uma população de 8.395 habitantes (SEMSA, 2018). Situado na região norte da

cidade (Figura 3), possui um dos conjuntos formados pelo o programa Minha Casa Minha Vida, advindo do governo federal, o Viver Melhor, que compõe boa parte desse bairro residencial. Inaugurado pela a presidente da república na época Dilma Roussef em 14/02/14 foi voltado para habitantes que preenchessem os seguintes critérios: 1 - morar em Manaus há 3 anos; 2 - famílias chefiadas por mulheres ou pessoas que morassem em área de risco, espaço cedido/de aluguel; 3- renda de 1 a 3 salários mínimos se funcionário público; o Residencial Viver Melhor foi denominado um dos maiores conjuntos habitacionais do Programa (DOM, 2018; PORTAL DO HOLANDA, 2018; SANTOS, 2018; SEVERIANO e SOUZA 2018).

A região norte da cidade de Manaus está em franco desenvolvimento, e em especial o bairro Lago azul. O conjunto residencial Viver Melhor I foi uma das primeiras moradias inauguradas, no qual a Unidade Básica de Saúde Dr. José Figliuolo é na atualidade o posto de saúde que atende à demanda adstrita (FALCÃO, 2018; SANTOS, 2018; SEVERIANO e SOUZA, 2018). Avaliar a qualidade de vida dos pacientes atendidos através das condições de saúde bucal e relacionar o impacto desta na saúde dos diabéticos é algo de suma importância nesta região, o que torna relevante este estudo (OLIVEIRA et al. 2018), por fornecer através do conhecimento dos determinantes sociais encontrados subsídios para melhorar as ações e programas voltados a estes usuários ou planejar/implementar intervenções direcionadas que possam prevenir o desenvolvimento ou um controle mais adequado da patologia através do tratamento odontológico. (SERVENSON, 2014; FRANÇA et al. 2014; FELIPE et al. 2013; SILVA et al. 2010; LIMA et al. 2008).

Em 23/09/2014, a prefeitura de Manaus, cujo prefeito da época era Artur Virgílio Neto, inaugurou a UBS Dr. José Figliuolo (Figura 4) construída e equipada pelo o estado e doada ao município para aumentar a cobertura da Atenção Primária da Rede Municipal de Saúde com capacidade de atender 18 mil pessoas/mês oferecendo serviços conforme notícia da época: “*A nova unidade de saúde oferece os serviços de distribuição de medicamentos, aferição da pressão arterial, atendimento odontológico, atividades de promoção e prevenção à saúde, consultas, Bolsa Família e Leite do Meu Filho. Também são realizados os atendimentos para o controle da glicemia, coleta de exames laboratoriais básicos, entre outros serviços, como curativo, imunização e nebulização*” (FALCÃO, 2018).

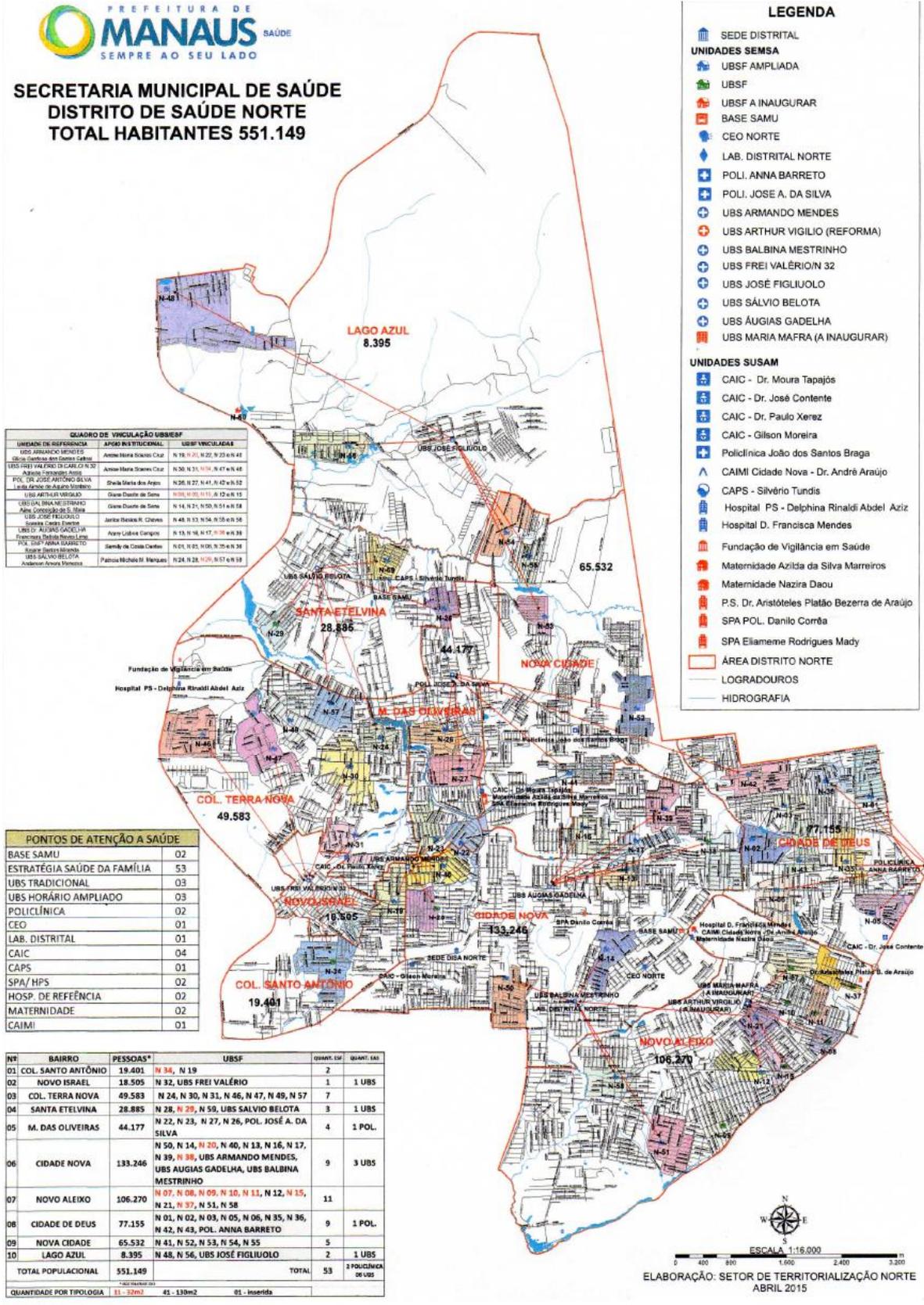


Fig. 3: Mapa de distribuição das unidades de saúde localizadas no Distrito de Saúde Norte da cidade de Manaus. Fonte: SEMSA

Analisando os atributos essenciais desse contexto, quando essa UBS foi inaugurada os dados da época diziam que na região havia em torno de 90 mil pessoas necessitadas de serviços de saúde. Como é um único posto de saúde existente nesta área em crescimento com uma população de origem cultural diversificada, os primeiros cuidados e o início dos serviços essenciais tiveram que se adequar a uma realidade ainda desconhecida. Com o programa mais médicos, profissionais estrangeiros provenientes da América do Sul principalmente, foram fixados no local e desenvolveram as ações de saúde complementando o atendimento com os profissionais locais já existentes (SANTOS et al. 2017; FALCÃO, 2018).

A UBS Dr. José Figliuolo (Figura 4) possui no seu quadro em torno de 52 profissionais que o compõem: médico, enfermeiro, dentista, técnicos de enfermagem, auxiliar de saúde bucal, assistente administrativo, agente comunitário, microscopista, auxiliar técnico em patologia clínica, fisioterapeuta, assistente social, técnico em administração, farmacêutico, digitador e faxineiro. É uma Unidade denominada tipo IV por poder comportar 4 equipes de atenção básica, sendo também uma unidade auxiliar de ensino e pesquisa. Realiza atendimento de demanda espontânea e ambulatorial, na atenção básica, e vinculado a ela há o funcionamento de Equipes de Saúde da Família que possuem infraestrutura própria (UBSfs – Unidades Básicas de Saúde da Família) chamadas também de “casinhas” gerenciadas pela a própria UBS (CNES, 2018).



Fig. 4: Unidade Básica de Saúde Dr. José Figliuolo, localizada na região norte da cidade de Manaus

Como é a único centro de saúde do bairro Lagoa Azul, a UBS Dr. José Figliuolo mesmo funcionando com toda a sua capacidade laborativa, não comporta a alta demanda que todos os dias está à sua porta. Os serviços oferecidos pelo o centro de saúde não atinge a necessidade da

população coberta, sinalizando que a ampliação da unidade já é necessária tanto em infraestrutura como em quantidades de profissionais atuantes, para que não haja diminuição da qualidade no atendimento destes usuários (FALCÃO, 2018; CNES, 2018).

No Brasil a Saúde Pública é diferenciada de outros países, até mesmo dos latino-americanos, por evitar essa visão de pacote mínimo de serviços de saúde e tornar os princípios de APS importados da Declaração de Alma-Ata como princípio norteador do nosso Sistema Único de Saúde. A visão flexneriana, técnico-assistencial é presente na corrente médica em todo o mundo e a perspectiva interdisciplinar e multiprofissional com responsabilização é inusitado para alguns profissionais não formados no país ou pelo os que são formados e não vivenciaram saúde pública ou não se especializaram nesta área (FERTONI et al. 2015).

Princípios de longitudinalidade, o primeiro contato, a visão integral do indivíduo e a coordenação desses serviços na referência e contra referência numa relação a longo prazo com o usuário, não é de todo assimilado por todas as pessoas envolvidas nos serviços básicos de saúde. A falta da visão do autocuidado pelo o próprio usuário, e a compreensão deste sobre sua acessibilidade ao sistema consiste em um dos pontos que merecem ser trabalhados. Outro ponto a ser ressaltado é a continuidade dos programas de saúde presentes nos postos de saúde que sofrem interrupção muito devido à falta de adesão dos usuários a esses programas como tabagismo, HIPERDIA, academia da saúde entre outros, muito em parte do desconhecimento que o usuário possui da existência destes (LAVRAS, 2011; OLIVEIRA e PEREIRA 2013; CARNUT, 2017).

Quando falamos de integralidade, diante dos pressupostos da Declaração de Alma-Ata (1978), este termo está inserido como princípio e diretriz do SUS. Todavia, muitos percalços nesta caminhada são encontrados, a falta de uma comunicação da gerencia de recursos com a gerencia de serviços, a dificuldade de se ter um sistema eficiente para acompanhamento do usuário do nível básico até o especializado pelo o profissional de saúde, a dificuldade de acesso a tecnologias mais duras, ou mesmo a dificuldade da equipe de saúde em ter acesso a de recursos tecnológicos para que se faça um adequado acompanhamento a longo prazo ou marcação de exames apropriados que o usuário necessite (CARNUT, 2017).

Carnut (2017) descreve: *“a burocratização e a verticalização, o baixo investimento na qualificação e educação dos trabalhadores, os parques dispositivos de fomento à cogestão, os desrespeitos constantes aos direitos dos usuários do SUS e a desvalorização da saúde são causas que geram diversos efeitos negativos na produção do cuidado em larga escala”*. Essa

visão é presente em um sistema de saúde que tenha que abarcar um contingente populacional crescente, e cujo recursos nunca são suficiente para acompanhar esse crescimento.

A coordenação entra com papel fundamental para realizar essa ponte de comunicação entre os profissionais e a comunidade. Um trabalho que identifique a competência cultural da região através das equipes da saúde da família que realizem um rastreio e ampla cobertura situacional da região se torna relevante, para que se possa atingir os atributos derivados que a APS propõe: cuidado centrado na família (orientação familiar, orientação comunitária (através dos conselhos locais da comunidade) e competência cultural, analisando a diversidade cultural de uma população com origens tão diversas (LAVRAS, 2011; OLIVEIRA e PEREIRA, 2013; SANTOS et al. 2017; CARNUT, 2017).

Após quase 5 anos de formação desse conjunto, os determinantes sociais se modificaram e um dos problemas que assolam quase todas as cidades brasileiras e não deixou de lado também nesse conjunto foram as invasões de terras pelos sem teto e o problema dos entorpecentes. Na entrega do residencial, todos os apartamentos e casas tiveram o devido saneamento básico, escolas e áreas verdes devidamente cuidadas, ruas asfaltadas, área comercial delimitada, enfim, todos os itens que compõem um bairro planejado. Porém dado ao déficit habitacional as áreas verdes foram invadidas por pessoas sem moradia, e conseqüentemente habitações precárias foram sendo criadas sem todos os devidos pontos necessários para uma vida digna (Figura 5). Somado a isto, o início do tráfico de drogas no local e divisão da região por traficantes modificou as condições de vida dos habitantes da região e problemas sociais se intensificaram (SANTOS, 2018; SEVERIANO e SOUZA, 2018).



Fig. 5 - Foto do local atrás da UBS Dr. José Figliuolo

Dentro dessa nova realidade a equipe de saúde atende a todos e convive com os problemas provenientes desse contexto, e se torna autor e co-autor deste retrato social e através de seus programas e ações de promoção, prevenção e proteção à saúde utilizando os conselhos locais como ponte para que a equipe de saúde aja na intersetorialidade pretendendo que os direitos de acesso a saúde atinjam a todos. A descontinuidade de recursos é um dos problemas enfrentado pelas Unidades Básicas de Saúde, principalmente quando há mudanças na gestão municipal, pois os serviços necessitam de continuidade para enfrentar a demanda que cresce exponencialmente proveniente da realidade social do local (LAVRAS, 2011; CARNUT, 2017).

A perspectiva é a de que a expansão continuará, seja pela a presença de invasões em áreas verdes que são abundantes na região, seja por meio de capital privado, através de construção de condomínios habitacionais ou de loteamentos legalizados para construções de casas. Diante disto, há a necessidade de fortalecimento dos serviços já existentes, e planejamento para as devidas ampliações necessárias para comportar a demanda existente e que surgirá com o crescimento populacional nesta região (DOM, 2018, PORTAL DO HOLANDA, 2018; FALCÃO, 2018).

Talvez agora com a nova reformulação e modernização pelo o qual o PNAB (Plano Nacional de Atenção Básica) passou haja flexibilidade para o gestor municipal, pois este terá maior liberdade para fortalecer e executar serviços da APS através da intensificação das ESFs, visto que haverá a possibilidade de gerir o aporte financeiro provindo do nível federal (Ministério da Saúde), de acordo com a realidade, necessidade e especificidade do local, possibilitando uma maior valoração das ações de Atenção Básica como ordenadora de todo o cuidado (ROSA, 2018).

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a comunidade bacteriana da cavidade oral de pessoas portadoras de diabetes mellitus tipo II na população caracterizada amazônica, a fim de discriminar a microbiota de indivíduos doentes comparando com grupo controle, contribuindo para o desenvolvimento de um possível biomarcador para diagnóstico precoce da patologia.

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Descrever as condições socioeconômicas da população atendida;
- ✓ Caracterizar as condições de saúde bucal por meio de índices: índice de dentes cariados, perdidos e obturados (CPOD), índice gengival (IG) e registro periodontal simplificado (PSR) de pacientes diabéticos e não-diabéticos atendidos na Odontologia da UBS Dr. José Figlioulo, no Bairro Lago Azul, na cidade de Manaus;
- ✓ Testar a viabilidade da coleta de amostra de saliva utilizando os cartões FTA Card Whatmann para posterior sequenciamento 16S.
- ✓ Avaliar se há diversidade microbiana através de RFLP (técnica de polimorfismo de comprimentos de fragmentos de restrição) comparando os grupos de pacientes diabéticos com os de grupo controle;
- ✓ Testar a associação entre as variáveis coletadas dos pacientes diabéticos e não diabéticos atendidos;

3.0 METODOLOGIA

3.1 Caracterização da população de Estudo

Baseado no desenho de estudo de caso/controle estimou-se uma amostragem não pareada de 108 pacientes do universo de 2.557 atendimentos realizado pela a odontologia da UBS Dr. José Figliuolo durante do ano de 2017, com nível de significância de 5% e poder de teste de 80% divididos em 2 grupos: 54 diabéticos/54 controles. Durante a coleta muitos pacientes se recusaram a participar, outros forneceram a amostra biológica, porém não compareceram em sessão posterior para o término do preenchimento do questionário e muitos marcavam e não compareciam na data prevista para a participação da pesquisa.

Para alcançar o número da amostragem pré-estabelecida, houve uma busca ativa dos pacientes em suas residências, locais comunitários (igrejas) e visitas ao grupo de HIPERDIA, implantado na UBS (Figura 6). Entre dezembro/2017 até março/2018 e julho/2018 até agosto/2018 foram alcançados 56 diabéticos e 54 pacientes saudáveis totalizando 110 usuários dentro dos critérios requeridos e válidos.



Fig. 6 – Busca ativa de pacientes realizada o grupo HIPERDIA da Unidade Básica de Saúde Dr. José Figliuolo

3.2 Local da Pesquisa

A unidade de saúde básica escolhida para a coleta de dados foi a UBS Dr. José Figliuolo situada no Lago Azul, Distrito Norte da cidade de Manaus, um dos bairros que mais cresce na região norte da cidade, usando o critério de crescimento populacional como fator de importância.

3.3 Critério de Inclusão e Exclusão

3.3.1 Grupo de pacientes saudáveis

Critério de Inclusão:

- Não ser diabético;
- Ter entre 18-90 anos;

Critério de Exclusão:

- Não for morador da área geográfica onde se situa o centro de saúde no qual será realizado a pesquisa;
- Ter ingerido álcool em menos de 1 semana da coleta de dados;
- Estado de gravidez caso seja do sexo feminino;
- Ter utilizado qualquer medicação (antibióticos, anti-inflamatórios, analgésicos, etc.) em menos de 1 mês;
- Consumo de drogas há um mês da coleta de dados.

3.3.2 Grupo de pacientes diabéticos

- Critérios de Inclusão:

- Ser diabético
- Ter entre 18-90 anos;
- Estar em constante acompanhamento pelo o centro de saúde no mínimo 6 meses.

- Critérios de Exclusão:

- Não for morador da área geográfica onde se situa o centro de saúde no qual será realizado a pesquisa;
- Ter utilizado qualquer outro tipo de medicação que não os antidiabéticos orais ou qualquer outro tipo de drogas há um mês da coleta de dados;
- Estado de gravidez (caso sexo feminino);
- Ter ingerido álcool há menos de 1 semana.
- Consumo de drogas há um mês da coleta de dados

3.4 Avaliação risco/benefício – aspectos éticos

Todos os procedimentos de coleta dos dados foram executados dentro das normas de biossegurança vigentes para atendimento odontológico, e não constou para a coleta método invasivo que necessite de medicação ou anestesia local/geral. Os pacientes que necessitaram

foram encaminhados para policlínicas e outros setores necessários para seu atendimento integral.

Todos os pacientes entrevistados assinaram o TCLE (em anexo), conscientizados do presente estudo, participando por livre e espontânea vontade de todos os procedimentos necessários. A presente pesquisa obteve a anuência e autorização da SEMSA/MANAUS (em anexo), e foi aprovada pelo Comitê de Ética da Universidade do Estado do Amazonas (UEA) sob CAEE 73557517.0.0000.5016, número de parecer 2.379.031 em 13/09/17 (em anexo), com o título: ANALISE METAGENÔMICA DE MICROORGANISMOS BACTERIANOS EXISTENTES NA CAVIDADE ORAL DE PACIENTES PORTADORES DE DIABETES MELLITUS, do qual originou esta dissertação.

3.5 Procedimentos clínicos e de coleta de material biológico

Foi realizado a coleta de amostra de saliva dos pacientes atendidos na Unidade Básica de Saúde e encaminhados das unidades vinculadas, tanto do grupo controle como dos pacientes diabéticos, conforme os critérios de inclusão e exclusão propostos.

No exame odontológico sob foco de luz artificial, com auxílio de espelho bucal, pinça clínica, sugador, e secagem com seringa tríplice, realizou-se a inspeção oral com sonda milimetrada tipo 621 da OMS para análise da condição periodontal (IG – índice gengival e PSR), e secagem e inspeção dos elementos presentes para avaliação oral (CPOD). Retirou-se uma amostra de saliva através da deposição da mesma no cartão FTA Card Whatman, seja por cotonetes de algodão (SWABs), ou inserção do mesmo na cavidade oral do paciente (Figura 7).

Para complementar o exame microbiológico foram coletados 4 sítios de coleta na cavidade oral de alguns pacientes a placa bacteriana supragengival dos primeiros molares superiores e inferiores com cotonete de algodão (SWAB), o saburro lingual (na parte dorsal da língua) e placa bacteriana subgengival ou tártaro dos elementos antero-inferiores (43,42,41,31,32,33) por raspagem com cureta periodontal McCall n.º 13-14.

As amostras foram condicionadas em graus cirúrgicos juntamente com a fita de testagem de glicemia e identificadas devidamente com o nome do paciente e em qual grupo pertencia. Após esse procedimento, as amostras foram guardadas em caixa isotérmica devidamente identificada descrevendo o provável microrganismo presente (bactéria oral, fungo ou vírus), classe de risco (tipo 1), para posterior análise de DNA microbiano por sequenciamento genético no Laboratório de Ecologia de Doenças Transmissíveis na Amazônia do Instituto Leônidas e Maria Deane (Figura 8).



Fig. 7: Procedimento de inspeção oral e coleta de material em pacientes da UBS Dr. José Figliuolo, localizada na região norte da cidade de Manaus



Fig. 8: Armazenagem do material coletado de pacientes da UBS Dr. José Figliuolo, localizada na região norte da cidade de Manaus

Todos os pacientes foram examinados clinicamente utilizando o prontuário existente na Unidade Básica de Saúde, passaram por testagem de glicemia capilar, aferição da pressão sanguínea e preenchimento de um questionário sobre sua saúde sistêmica e oral com assessoria da pesquisadora. No exame oral, caso houvesse a necessidade de tratamento odontológico foram encaminhados para agendamento na própria UBS ou centros especializados; todos

obtiveram conhecimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido acerca da pesquisa realizada, com cada usuário retendo uma cópia do TCLE (Figura 9).



Fig. 9: Procedimentos de coleta dos materiais de estudo, realizados em pacientes da Unidade Básica de Saúde Dr. José Figliuolo, na cidade de Manaus

3.5.1 Calibração do examinador e Validação do questionário

O questionário inicialmente passou por uma validação clínica e baseou-se no SB Brasil 2010 (BRASIL, 2012) e a pesquisadora foi devidamente calibrada por um teste de concordância intraexaminador utilizando o teste de porcentagem de concordância cujo resultado ficou em 85% aceitável para o estudo, com auxílio de 1 único anotador que acompanhou e testemunhou toda a pesquisa. A calibração e validação foi realizada em 2 momentos: no primeiro preenchimento dos 20 questionários e exame, e 1 semana após com os mesmos pacientes e nas mesmas condições o segundo exame e preenchimento de questionário, o que determinou a concordância aceitável para a confiabilidade de resultados (PEREIRA, 2009).

3.5.2 Preenchimento dos Índices Orais

3.5.2.1 Índice CPOD

Este índice avalia a experiência presente e passada de cárie dentária na estrutura dentária do indivíduo (KLEIN, 1938). A idade parâmetro utilizada é a de 12 anos e avalia o número médio de dentes perdidos, cariados e obturados cujo índice possui as seguintes classes de valores ou severidades: (0,0 a 1,1) muito baixo, (1,2 a 2,6) baixo, (2,7 a 4,4) moderado, (4,5 a 6,5) alto, (6,6 ou mais) muito alto. Indica as más condições de saúde bucal da população em

geral associada a condições socioeconômicas desfavoráveis, dificuldades de acesso ao dentista, e hábitos deletérios como alto consumo de açúcar, e falta de escovação e uso de fio dentário diários. Indica também pouco acesso à aplicação tópica de flúor. É uma metodologia recomendada pela a OMS. A fórmula de cálculo é a descrita abaixo:

$$\frac{\text{Número total de dentes permanentes cariados, perdidos e obturados*}, \text{ em crianças residentes examinadas, de 12 anos de idade}}{\text{Número total de crianças residentes examinadas, de 12 anos de idade}}$$

* Dentes com extração indicada devem ser incluídos como cariados.

3.5.2.2. IG

O índice gengival de Løe e Silness (1963), foi proposto pelos os autores para caracterizar os diferentes graus de inflamação gengival em questão do tecido gengival e a localização da mesma. Para o cálculo deste índice cada dente individualmente é mensurado em quatro áreas gengivais do dente (mésio-vestibular, vestibular, disto-vestibular e lingual/palatino) e dado uma pontuação conforme códigos abaixo:

IG – Índice Gengival

0 = Gengiva normal
1 = Inflamação leve, pequena alteração na cor, pouco edema; nenhum sangramento à palpação ou sondagem
2 = Inflamação Moderada, rubor (vermelhidão), edema e superfície brilhante; sangramento à palpação ou sondagem
3 = Inflamação grave, rubor (vermelhidão) intenso e edema, ulcerações, tendência a sangramento espontâneo
<i>Score gengival – Grau de gengivite</i>
0,1 - 1,0 – Leve
1,1 – 2,0 – Moderada
2,1 – 3,0 – Grave

Fonte: Loe e Silness (1963); Loe (1967).

É mensurado com sonda no meio da superfície nas regiões vestibular e lingual, e bucalmente no disto-vestibular e mésio-vestibular nos pontos de contato. As quatro pontuações de cada dente são somadas e divididas por 4 e obtêm-se o IG do dente. Para identificar o IG de

determinado sextante soma-se o IG daquele sextante e divide-se pelo o número de dentes mensurados. Para conseguir o IG do indivíduo, soma-se o IG de cada dente mensurado e divide-se pelo o número de dentes calculados na cavidade oral.

3.5.2.3 PSR

Em 1992 a Academia Americana de Periodontologia juntamente com a Associação Dentária Americana proporam o PSR (Periodontal Screening e Recording) para ser utilizado em clínica particular como uma adaptação do CPITN (Índice de Necessidade de Tratamento Periodontal Comunitário) e no Brasil utilizado preferencialmente em saúde coletiva, dada a facilidade de adquirir os dados e de propor tratamento relacionado ao diagnóstico detectado. O PSR permite o exame das estruturas, avaliação da severidade da doença periodontal, bem como fornece uma orientação para o tratamento.

Para realizar esse exame utiliza-se uma ficha clínica própria para PSR (Figura 10) dividida em seis espaços que corresponde aos seis sextantes da cavidade oral, e a sonda 621 da OMS. A avaliação inicia-se do sextante superior posterior direito ao posterior inferior direito em sentido horário. Cada sextante possui dentes índices 17-16, 11, 26-27, 37-36, 31, 46-47, realizando em 6 pontos de cada dente índice: méso-vestibular, médio-vestibular, disto-vestibular, méso-lingual, médio-lingual e disto-lingual, e caso haja a ausência de um destes dentes analisa-se o dente adjacente mais próximo. O diagnóstico é realizado através de código e o tratamento é indicado pelo o escore mais alto anotado conforme código abaixo:

Código de PSR

Código 0	Nenhum sinal de doença periodontal – Faixa colorida totalmente visível
Código 1	Sangramento gengival até 30s após a sondagem suave – faixa colorida totalmente visível
Código 2	Cálculo supra e/ou subgengival e/ou margens restauradoras mal adaptadas – faixa colorida totalmente visível
Código 3	Bolsa periodontal que permite a introdução da sonda no sulco (bolsa de 4 a 5 mm) – faixa colorida da sonda parcialmente visível
Código 4	Bolsa periodontal que permite maior introdução da sonda no sulco(bolsa profunda de 6 mm ou mais) – faixa colorida não visível
Código *	Anormalidade clínica associada aos demais escores - comprometimento de furca, mobilidade, alterações mucogengivais e/ou recessões gengival na área colorida da sonda (maior que 3,5 mm a partir da junção amelocementária).

Fonte: Santos et al. (1998); Oliveira et al. (2015).

Escore	Necessidade de Tratamento
0	Cuidado preventivo adequado
1	Instrução de higiene oral e tratamento apropriado, incluindo remoção da placa gengival
2	Instrução de higiene e tratamento incluindo remoção de placa subgengival e cálculo através de raspagem e correção de margens restauradoras.
3	Necessidade de exame e documentação periodontal completa do sextante afetado, inclusive com radiografias – código 3 em 2 ou mais sextantes: detalhado exame da boca toda.
4	Necessidade de exame e documentação periodontal completa da boca toda. Necessidade de tratamento complexo. Reavaliar os resultados do tratamento
*	Códigos 0*, 1*, ou 2* - necessidade de registro específico e/ou tratamento para tal condição. Códigos 3* ou 4* - necessidade detalhado exame periodontal da boca toda.

Fonte: Santos et al. (1998); Oliveira et al. (2015).

<table border="1" style="width: 100%; height: 40px; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table> <p style="text-align: center; font-size: small;">Contagem do sextante</p>							<p style="margin: 0;">Seleção & Gravação Periodontal</p> <p style="margin: 0;">_ / _ / _</p> <p style="text-align: center; font-size: small;">dia mês ano</p>

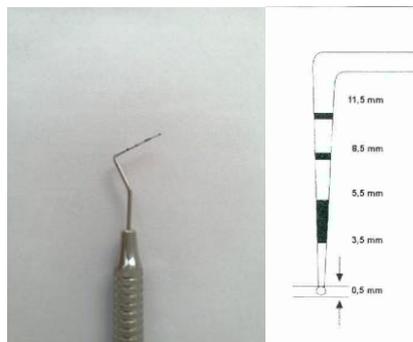


Fig. 10: Ficha clínica de Periodontal Screening Recording e sonda 261 da Organização Mundial de Saúde utilizados no estudo. Fonte: Santos et al. (1998); Oliveira et al. 2015

3.6 Fase Laboratorial

Para a fase laboratorial foram selecionados saliva de 25 pacientes diabéticos / 25 pacientes controle e 21 placas dentárias de sítios dentários para futuro sequenciamento, pareando sexo e idade conforme os critérios abaixo:

3.6.1 Grupo de pacientes saudáveis

- Critério de Inclusão: não ser diabético; ter entre 40-64 anos; ter boas condições de higienização e saúde oral;
- Critério de Exclusão: não for morador da área geográfica onde se situa o centro de saúde no qual será realizado a pesquisa; ser fumante; ter ingerido álcool em menos de 1 semana da coleta; estado de gravidez caso seja do sexo feminino; utilização de colutórios orais; qualquer doença sistêmica ou imunossupressora; ter utilizado qualquer medicação (antibióticos, anti-inflamatórios, analgésicos, etc.) ou consumido drogas há um mês da coleta.

3.6.2 Grupo de pacientes diabéticos

- Critérios de Inclusão: ser diabético diagnosticado não-insulino dependente; ter entre 40-64 anos; ter boas condições de higienização e saúde oral; estar em constante acompanhamento pelo o centro de saúde no mínimo 6 meses e estar dentro dos padrões de controle da doença;
- Critérios de Exclusão: não for morador da área geográfica onde se situa o centro de saúde no qual será realizado a pesquisa; ser diabético descompensado e/ou ser portador de pé-diabético; ser paciente renal crônico; ser imunocomprometido; utilizar algum tipo de colutório oral; ter utilizado qualquer outro tipo de medicação que não os antidiabéticos orais ou qualquer outro tipo de drogas há um mês da coleta; estado de gravidez (caso sexo feminino); ser fumante ou ter ingerido álcool há menos de 1 semana.

3.6.3 Extração de DNA

O seguinte protocolo de Extração de DNA do FTA Card Whatmann foi realizado (Figura 11):

1. Foram produzidos 10 discos de cada amostra com 1 Micro-Punch Harris de 1,20mm; total de 71 amostras, com 25 de paciente diabéticos, 25 de pacientes controle, 21 amostras de sítios específicos de dentes de pacientes diabéticos e controles que serão enviados especificamente para sequenciamento futuro;

2. Os 10 discos de cada amostra foram acondicionados em cada um poço da placa de PCR identificado;
3. Foi adicionado 170 μL de reagente purificador de FTA com pipeta calibrada em cada poço da placa de PCR identificado e incubado por 5 min à temperatura ambiente;
4. Após foi retirado o reagente com uma pipeta calibrada com 200 μL ;
5. Foi realizado o passo 3 e 4 por duas vezes;
6. Após as amostras foram deixadas para secar à temperatura ambiente por 12 horas;
7. Após 12 horas foi colocado 30 μl de SDW (água auto clavada e destilada) em cada poço da amostra;
8. Foi feito 3 placas irmãs da placa mãe, retirando 5 μl da placa mãe. Cada placa irmã conteve 5 μl de amostra. Após as 4 placas foram conservadas no freezer a -20°C .



Fig. 11 – Extração do DNA das amostras coletadas

3.6.4 Diluição da Library (Biblioteca) #1 e #2 (com Golay Barcode) para 10pmol/ml

3.6.4.1 Biblioteca #1 (Lib #1)

Foi diluída as alíquotas de 25 μl com concentração de 50 +/- 20 $\mu\text{mol/ml}$ com 100 μl de SDW. No final a Biblioteca #1 ficou 125 μl com concentração de 10 $\mu\text{mol}/\mu\text{l}$. Foi aliqotado 1 μl da Biblioteca # 1 em placas de PCR formando 10 placas da Biblioteca #1 contendo 1 μl . Colocados em freezer a -20°C .

3.6.4.2 Biblioteca #2 (Lib #2)

Foi diluída as alíquotas de 50 μl com concentração de 50 +/- 20 $\mu\text{mol/ml}$ com 200 μl de SDW. No final a Biblioteca #2 ficou 250 μl com concentração de 10 $\mu\text{mol}/\mu\text{l}$. Foi aliqotado 1 μl da Biblioteca #2 em placas de PCR formando 10 placas da Biblioteca #2 contendo 1 μl . Colocado em freezer a -20°C .

3.6.5 Diluição do Primer Forward

Foi utilizado o Primer Forward 454-338F 134883262 da IDT. O frasco possuiu 45,2 nmol, adicionou-se 10x o volume de água formando 452 µl de primer. Fez-se 3 tubinhos de 100µl cada, permanecendo 152µl de volume no pote principal. O primer iniciador foi:

5'CCTATCCCCTGTGTGCCTTGGCAGTCTCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAG3'

Este é o primer para a amplificação da região V3-V5 do gene rRNA 16S (694 pares de bases).

3.6.6 PCR (Reação em Cadeia Polimerase)

Para realização do PCR realizou-se os seguintes procedimentos:

- ✓ Em uma placa de PCR colocou-se 1µl da Biblioteca #1 com concentração de 10pmol/µl em cada poço equivalente da placa irmã diluída da placa mãe Lib#1;
- ✓ Retirou-se da placa duplicada de amostra 5µl e aplicou-se na placa de PCR onde foi colocada a Lib#1;
- ✓ Adicionou-se em cada poço (que contém 5µl da amostra e 1µl da Lib#1) 44µl de MIX de reação.

O MIX de reação foi produzido na quantidade de 80 amostras, para que não houvesse falta de produto no processo de amplificação. Conforme abaixo:

→ 5µl de Buffer II + 0,1µl de primer 454-338F + 1µl de Taq polimerase + 37,9 H₂O autoclavada multiplicado por 80 chegando a um total de 40µl de Buffer II + 8µl de primer 454338F + 80µl de Taq polimerase + mais 3032 µl de H₂O autoclavada.

Obteve-se 3520 µl de mix total onde 44µl foram colocados em cada poço da placa de PCR. A placa foi selada e colocada no termociclador (Figura 12) com a seguinte programação:

- 94°C por 3 minutos (desnaturação)
- Por 40x a seguinte programação: (anelamento/extensão)
 - 94°C por 30s
 - 53°C por 30s
 - 68°C por 2 min
- 68°C por 10 min
- 4°C tempo ilimitado (Hold ∞)

Após a placa foi condicionada no refrigerador normal.



Fig. 12 – Termociclador e programação para amplificação por PCR.

3.6.7 Verificação da amplificação por eletroforese

Realizou-se a eletroforese em cuba com 100V, 100MA e 100W por 1 h. Foi utilizado 2g de Agarose em 100 μ l de TAE 1X buffer para formar um gel de Agarose de 2% e adicionou-se à mistura 5 μ l de Brometo de Etídio. Utilizou-se um pente de 28 poços. Pipetou-se 5 μ l de amostra em cada poço com 1,5 μ l de Loading B (6x). Utilizou-se 7ml de Gene Ruler Ladder 100bps como régua (Figura 13).

Contabilizou-se novamente as amostras que não foram amplificadas com a Biblioteca # 1 e foi realizada outra PCR com as amostras não amplificadas com a Biblioteca # 2. O total de amostras não amplificadas foram 11. Em outra placa de PCR, cada amostra não amplificada foi colocada em 4 poços, em que 2 recebiam amostras não diluídas (primeiro poço 5 μ l e segundo poço 4 μ l) e os outros dois poços 5 μ l de amostra diluída em 1:10 utilizando primers da Biblioteca # 2.

Foi realizado novamente o MIX de reação para colocar 44 μ l em cada poço. O processo de PCR foi o mesmo que o anterior. Novamente foi feito a eletroforese com agarose 2% com 5 μ l de brometo de etídio + 5 μ l de amostra do PCR, 1,5 μ l de Loading B (6x) e 7ml de Gene Ruler Ladder 100bps. Apenas 5 amostras das 11 não amplificadas com Biblioteca # 1 foram amplificadas com a Biblioteca # 2.

Para futuro sequenciamento foi colocado em 1 tubo de eppendorf 5, 10, 15, 20 e 25 ml de todas as amostras amplificadas de acordo com classificação feita pela autora das bandas mais iluminadas para as mais fracas que apareceram na eletroforese: 1, 2, 3, 4, e 5. (5 mais forte – 5

ml a 1 fraco – 25 ml). Todas as alíquotas foram misturadas atingindo um volume total de 500ml. Após as placas de PCR foram mantidas em refrigeração.

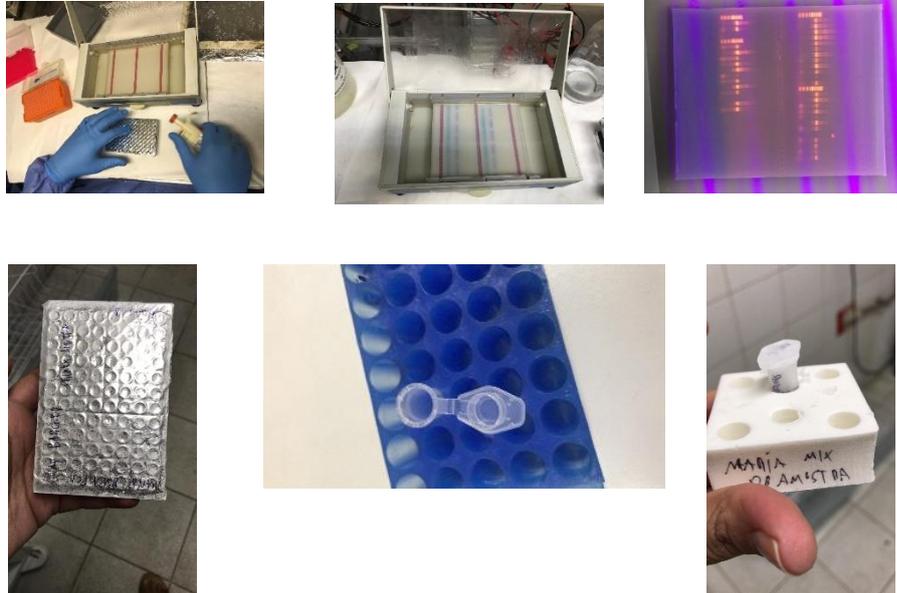


Fig. 13 – Processo de Eletroforese para verificação da amplificação.

3.6.8 Purificação das placas de PCR das amostras válidas (amplificadas do PCR com primers da Biblioteca # 1 e Biblioteca # 2) com o Kit Qiagen QIAquick PCR Purification Kit para serem utilizadas para a técnica de RFLP (Polimorfismos de Tamanhos de Fragmentos de Restrição)

- Adição de 9ml de Buffer PB Bindey (com 36µl de indicador amarelo indicado que o ph é menor ou igual a 7.5) em 15 ml de Falcon.
- Adicionar 150µl do conteúdo do Falcon em cada amostra e individualiza-la em um coletor individual.
- Centrifugação por 17900xg a 13000rpm por 1 min.
- Lavagem com 750 µl de Tampão Buffer PE em cada amostra.
- Centrifugação por 17900xg novamente por 1 min.
- Descarte do que ficou na parte externa do coletor individual (água buffer residual)
- Centrifugação do coletor vazio novamente (coluna).
- Eluição do DNA da coluna para a água de Milliq autoclavada (50µl) no ependorf.
- Centrifugação novamente de 17900xg por 1 min.

3.6.9 Digestão por Enzimas – RFLP - com o Kit Hind III Biolabs 20.000 U/ml

- Preparou-se um MIX com 2µl de Enzima de Restrição + 2.5 µl de NEBuffer para 20,5µl de DNA purificado de cada amostra. Cada amostra teve um volume total de 25µl. Esta enzima realiza o seu corte na seguinte região: 5' ...A ∇ AGCTT...3' / 3' ...TTCGA \blacktriangle A...5'

- As amostras foram colocadas para incubação a 37°C por 14h e após a 80°C por 20min. (Figura 14)



Fig. 14 – Digestão de Enzimas (RFLP)

3.6.10 Eletroforese das amostras após RFLP

Foi realizado a eletroforese com agarose 1,7% com 2µl de gel red + 25µl de amostra do PCR, 5µl de Loading B(6x) e Gene Ruler Ladder 100bp (1.5, 3 e 5µl em poços individualizados). Para a análise de dados entre os grupos foram escolhidos apenas as amostras de saliva para a estatística.

3.7 Análise dos Dados

Os dados dos questionários na fase descritiva foram digitados e armazenados em planilha do programa Excel da Microsoft Office e após exportados para serem analisados estatisticamente pelo o software R, versão R.3.5.1. Utilizou-se frequências absolutas e relativas para as variáveis categóricas e médias, medianas, intervalos interquantis e desvio-padrão para as variáveis numéricas. Foram utilizados os testes de Wilcoxon RankSum, t-test, exato de Fischer e Quiquadrado. Os testes de correlação de Spearman foram realizados juntamente com os diagramas de dispersão correlacionando as variáveis em estudo com o mesmo software. Os dados da fase laboratorial também foram digitados em planilha do programa Excel da Microsoft Office e exportados para serem analisados estatisticamente pelo o software Past, versão 3.22 e utilizou-se os testes de t-test, exato de Fischer, Quiquadrado e Mann-Whitney.

4.0 RESULTADOS

4.1 Resultados da Fase Descritiva

No presente estudo foram alcançados os 110 questionários válidos, 56 de pacientes diabéticos diagnosticados e acompanhados pelo o serviço de saúde da UBS e 54 pacientes controle.

Participaram deste estudo 78 mulheres e 32 homens, tendo sido encontrado uma diferença estatística de $p = 0,048$ (teste Quiquadrado) em relação ao sexo e $p < 0,001$ no quesito idade (test-t) com média geral de 49,7 anos. A média de idade dos pacientes diabéticos foi de 56,5 anos e do grupo controle 42,6 anos. A diferença de idade e sexo entre os grupos representa apenas um desequilíbrio entre essas variáveis devido ao fato de não ter sido realizado o pareamento dos pares nas amostras.

Analisou-se a glicose pós-prandial, visto que nem todos os pacientes apresentaram hemoglobina glicosada ou glicose jejum, pois o laboratório que realiza esses exames não estava disponível para todos os pacientes seja por falta de reagentes para realizar os exames especificados, seja porque o agendamento desses pacientes era realizado após a coleta da pesquisa ou até mesmo pela falta de interesse do usuário. No geral os diabéticos possuíam uma média de 223,5 de glicose pós-prandial e os do controle 104. Analisando o gráfico abaixo, nessa diferença é vista nitidamente a necessidade de um acompanhamento mais intenso no grupo diabético, pois houve indivíduos com glicose pós-prandial de 526 e 577 mg/dl alegando que estavam adequadamente tomando seus medicamentos de controle (Figura 15).

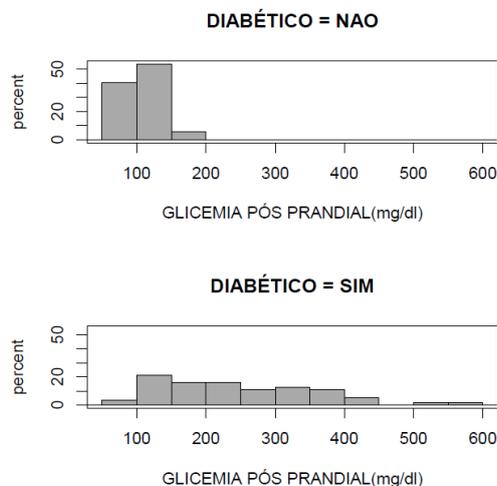


Fig. 15: Glicemia pós-prandial em portadores ou não de Diabetes Mellitus II

Abaixo verificamos a descrição das condições socioeconômicas da amostra estudada. Em relação ao nível de escolaridade houve prevalência em ambos os grupos do nível médio (diabéticos -37,5% e controle 55,6%). No quesito estado civil a maioria se enquadrava em união civil/união estável (diabéticos – 50% e controle – 46,3%). Em ambos os grupos se autodenominavam pardos (diabéticos – 78,6% e controle – 79,6%). De maioria evangélica (diabéticos – 62,5% e controle - 68,5%) e recebem até 1000 reais, o que equivaleria 1 salário mínimo (diabéticos – 39,3% e controle – 42,6%). Uma das perguntas levantadas foi se o indivíduo recebia algum auxílio, seja aposentadoria, pensão ou auxílio doença ou se a família que a pessoa estava inserida, alguém recebia bolsa família. Do total de amostra 42,2% recebiam algum auxílio e 10,1% alguém da família recebia bolsa família (Tabela 5).

Tabela 5 – Dados socioeconômicos da amostra estudada

Variáveis	DIABÉTICO		Total n = 110 (%)
	SIM n = 56 (%)	NÃO n = 54 (%)	
IDADE			
média (Desvio Padrão)	56.5 (10.5)	42.6 (13)	49.7 (13.6)
SEXO			
Masculino	21 (37.5)	11 (20.4)	32 (29.1)
Feminino	35 (62.5)	43 (79.6)	78 (70.9)
ESCOLARIDADE			
Nenhuma	19 (33.9)	9 (16.7)	28 (25.5)
Fundamental	15 (26.8)	12 (22.2)	27 (24.5)
Médio	21 (37.5)	30 (55.6)	51 (46.4)
Superior	1 (1.8)	3 (5.6)	4 (3.6)
ESTADO CIVIL			
Solteiro	18 (32.1)	20 (37)	38 (34.5)
União Civil/União Estável	28 (50)	25 (46.3)	53 (48.2)
Viúvo	6 (10.7)	3 (5.6)	9 (8.2)
Divorciado	4 (7.1)	6 (11.1)	10 (9.1)
COR			
Branco	9 (16.1)	7 (13)	16 (14.5)
Negro	0 (0)	2 (3.7)	2 (1.8)
Pardo	44 (78.6)	43 (79.6)	87 (79.1)
Amarelo	2 (3.6)	1 (1.9)	3 (2.7)
Índigena	1 (1.8)	1 (1.9)	2 (1.8)
RELIGIÃO			
Sem religião	1 (1.8)	3 (5.6)	4 (3.6)
Católico	18 (32.1)	14 (25.9)	32 (29.1)
Evangélico	35 (62.5)	37 (68.5)	72 (65.5)
Outros	2 (3.6)	0 (0)	2 (1.8)

NÚMERO DE FILHOS			
mediana (IQR)	3 (2,5)	3 (1,4)	3 (2,4)
RENDA FAMILIAR			
sem rendimentos	0 (0)	1 (1.9)	1 (0.9)
até 500	6 (10.7)	9 (16.7)	15 (13.6)
até 1000	22 (39.3)	23 (42.6)	45 (40.9)
até 1500	17 (30.4)	7 (13)	24 (21.8)
mais de 1500	11 (19.6)	14 (25.9)	25 (22.7)
AUXILIO BENEFÍCIO			
Não	20 (36.4)	32 (59.3)	52 (47.7)
Bolsa Família	1 (1.8)	10 (18.5)	11 (10.1)
Outros	34 (61.8)	12 (22.2)	46 (42.2)
QUANTITATIVO DE MORADORES			
mediana (IQR)	3 (2,5)	4 (3,5)	3 (2,5)
SANEAMENTO BÁSICO			
Sim	54 (96.4)	52 (96.3)	106 (96.4)
Não	2 (3.6)	2 (3.7)	4 (3.6)
CASA EM ALVENARIA			
Sim	55 (98.2)	53 (98.1)	108 (98.2)
Não	1 (1.8)	1 (1.9)	2 (1.8)

Quanto aos dados clínicos como peso, altura, pressão, CA, IMC, houve diferença estatística significativa de $p < 0.001$ para CA entre os grupos. A média de CA dos diabéticos foi de 99 cm e do controle 92 cm. (Tabela 6)

Tabela 6 – Dados de Peso, CA e IMC entre os grupos diabéticos e controle

Variáveis	DIABETICO			P value
	SIM n = 56 (%)	NÃO n = 54 (%)	Total n = 110 (%)	
PESO				0.078*
mediana (IQR)	74.5 (65,85)	69.5 (63,81.5)	72 (64.2,82.4)	
CIRCUNFERENCIA ABDOMINAL (CA)				< 0.001*
mediana (IQR)	99 (94,106)	92 (86,99.8)	95 (89.5,102)	
IMC				0.096*
mediana (IQR)	29.6 (26.3,33.5)	27.6 (25.5,31.8)	28.5 (25.7,32.3)	

* teste de Ranksum

No quesito atividade física, 64,3% dos diabéticos não realizam atividade física, e 72,2% do grupo controle também não realiza atividade física. Quando perguntado sobre visita ao médico 76,8% dos diabéticos comparecem regularmente para controle do diabetes há pelo menos 6 meses (Tabela 7).

Tabela 7 - Atividade Física e Visita ao Médico

Variáveis	DIABÉTICO		
	SIM n = 56 (%)	NÃO n = 54 (%)	Total n = 110 (%)
ATIVIDADE FÍSICA			
SIM	20 (35.7)	15 (27.8)	35 (31.8)
NÃO	36 (64.3)	39 (72.2)	75 (68.2)
VISITA AO MÉDICO			
HÁ MENOS DE 6 MESES	43 (76.8)	31 (57.4)	74 (67.3)
HÁ MAIS DE 6 MESES	5 (8.9)	8 (14.8)	13 (11.8)
HÁ MAIS DE 1 ANO	3 (5.4)	6 (11.1)	9 (8.2)
NÃO LEMBRO	5 (8.9)	9 (16.7)	14 (12.7)

Fonte: Dados da Pesquisa

As medicações para controle mais citadas pelos os pacientes diabéticos foram a Metformina, Glibenclamida e Glicasida, sendo que alguns utilizavam associações entre elas. Apenas 21,4% citou a utilização da insulina (Tabela 8).

Tabela 8 – Uso de insulina em diabéticos

Variáveis	DIABÉTICO		
	SIM n = 56 (%)	NAO n = 54 (%)	Total n = 110 (%)
USO DE INSULINA			
SIM	12(21,4)	0 (0)	12(10,9)
NÃO	44(78,6)	54(100)	98(89,09)

Fonte: Dados da Pesquisa

Quando abordado no questionário sobre o histórico familiar acerca da diabetes, 66% do total da amostra tinham conhecimento de que algum membro da família adquirira a patologia. 92,9% do grupo de diabéticos e 90,7% controle não eram tabagistas, porém 51,8% do grupo de diabéticos alegaram já terem sido fumantes em relação a 35,2% do grupo controle. No quesito quantas refeições ao dia, houve usuários que realizavam até 6 refeições ao dia, porém 48,2% do grupo dos diabéticos se alimentam 3 vezes ao dia. A maioria afirma não consumir doces (73,2% dos diabéticos e 64,8% controle), não utilizar bebida alcoólica (82, 1% do grupo diabético e 77,8% controle) e apenas 41,1% do grupo de diabéticos realizam alguma dieta para a patologia (Tabela 9).

Tabela 9 –Fatores associados a Diabetes Mellitus

Variáveis	DIABETICO		
	SIM	NAO	Total
	n = 56 (%)	n = 54 (%)	n = 110 (%)
HISTÓRICO FAMILIAR			
SIM	37 (66.1)	29 (53.7)	66 (60)
NÃO	17 (30.4)	23 (42.6)	40 (36.4)
NÃO SEI	2 (3.6)	2 (3.7)	4 (3.6)
FUMANTE			
SIM	4 (7.1)	5 (9.3)	9 (8.2)
NÃO	52 (92.9)	49 (90.7)	101 (91.8)
EX FUMANTE			
SIM	29 (51.8)	19 (35.2)	48 (43.6)
NÃO	27 (48.2)	35 (64.8)	62 (56.4)
REFEIÇÕES AO DIA			
1	1 (1.8)	0 (0)	1 (0.9)
2	5 (8.9)	6 (11.1)	11 (10)
3	27 (48.2)	17 (31.5)	44 (40)
4	16 (28.6)	23 (42.6)	39 (35.5)
5	5 (8.9)	6 (11.1)	11 (10)
6	2 (3.6)	2 (3.7)	4 (3.6)
CONSUMO DE ALIMENTOS			
DOCES			
SIM	15 (26.8)	19 (35.2)	34 (30.9)
NÃO	41 (73.2)	35 (64.8)	76 (69.1)
USO DE BEBIDA			
ALCÓOLICA			
SIM	10 (17.9)	12 (22.2)	22 (20)
NÃO	46 (82.1)	42 (77.8)	88 (80)
DIETA ESPECÍFICA PARA			
DIABETES			
SIM	23 (41.1)	0 (0)	23 (20.9)
NÃO	33 (58.9)	54 (100)	87 (79.1)

Ao serem questionados acerca da alimentação houve uma diferença estatística entre os grupos no quesito Peixe e Legumes/Verduras, $p = 0.013$ (peixe) e $p = 0.023$ (legumes/verduras). Analisando as porcentagens 89,3% dos diabéticos consomem peixe comparando com os 70,4% do grupo controle e 89,3% dos diabéticos acrescentaram em seu dia a dia legumes/verduras em relação aos 72.2% do grupo controle (Tabela 10).

Tabela 10 – Alimentos mais consumidos citados pelos usuários

Variáveis	DIABETICO		Total n = 110 (%)
	SIM n = 56 (%)	NÃO n = 54 (%)	
CARNE/FRANGO			
NÃO	4 (7.1)	4 (7.4)	8 (7.3)
SIM	52 (92.9)	50 (92.6)	102 (92.7)
PEIXE			
NÃO	6 (10.7)	16 (29.6)	22 (20)
SIM	50 (89.3)	38 (70.4)	88 (80)
MASSAS			
NÃO	16 (28.6)	9 (16.7)	25 (22.7)
SIM	40 (71.4)	45 (83.3)	85 (77.3)
ARROZ			
NÃO	9 (16.1)	3 (5.6)	12 (10.9)
SIM	47 (83.9)	51 (94.4)	98 (89.1)
FEIJÃO			
NÃO	18 (32.1)	12 (22.2)	30 (27.3)
SIM	38 (67.9)	42 (77.8)	80 (72.7)
FARINHAS			
NÃO	16 (28.6)	17 (31.5)	33 (30)
SIM	40 (71.4)	37 (68.5)	77 (70)
DOCES			
NÃO	40 (71.4)	37 (68.5)	77 (70)
SIM	16 (28.6)	17 (31.5)	33 (30)
FRUTAS			
NÃO	9 (16.1)	16 (29.6)	25 (22.7)
SIM	47 (83.9)	38 (70.4)	85 (77.3)
LEGUMES VERDURAS			
NÃO	6 (10.7)	15 (27.8)	21 (19.1)
SIM	50 (89.3)	39 (72.2)	89 (80.9)

*1 p = 0.013 – Teste de Quiquadrado – Chisq. (1df) – 6.15

*2 p = 0.023 – Teste de Quiquadrado – Chisq. (1df) – 5.18

Na Avaliação das condições bucais entre os grupos, houve diferença estatística em CPOD ($p = 0.005$), PSR ($p = 0.025$) e periodontite (0.01) entre os grupos estudados. A média do índice CPOD do grupo diabético foi de 20,9, maior do que do grupo controle de 16.6. A necessidade de intervenção periodontal através do índice PSR que pode ser verificado através do código 3 e 4, foi maior no grupo diabético demonstrando a necessidade de tratamentos mais invasivos. E classicamente o grupo diabético possui maior problema periodontal que o grupo controle (37,5% diabético / 18,5% controle) (Tabela 11).

Tabela 11 – Avaliação das condições bucais entre os grupos

Variáveis	DIABETICO			P value
	SIM	NAO	Total	
	n = 56 (%)	n = 54 (%)	n = 110 (%)	
CPOD				0.005*¹
média (Desvio Padrão)	20.9 (7.5)	16.6 (8.3)	18.8 (8.2)	
IG				
mediana (IQR)	0.1 (0,1.3)	0 (0,0.5)	0.1 (0,1)	
PSR				0.025*²
CODIGO 0	21 (38.9)	29 (54.7)	50 (46.7)	
CODIGO 1	10 (18.5)	2 (3.8)	12 (11.2)	
CODIGO 2	7 (13)	10 (18.9)	17 (15.9)	
CODIGO 3	12 (22.2)	12 (22.6)	24 (22.4)	
CODIGO 4	4 (7.4)	0 (0)	4 (3.7)	
GENGIVITE				
DESDENTADO	3 (5.4)	0 (0)	3 (2.7)	
SIM	22 (39.3)	20 (37)	42 (38.2)	
NÃO	31 (55.4)	34 (63)	65 (59.1)	
PERIODONTITE				0.01*³
DESDENTADO	3 (5.4)	0 (0)	3 (2.7)	
SIM	21 (37.5)	10 (18.5)	31 (28.2)	
NÃO	32 (57.1)	44 (81.5)	76 (69.1)	

*¹ t-test (108 df) = 2.88*² teste Quiquadrado - Chisq. (4 df) = 11.13*³ teste exato de Fisher

Analisando o uso de prótese dentária e os hábitos acerca da saúde oral, a maioria dos diabéticos utilizam algum tipo de prótese (53,6%), escovam em média 3 vezes ao dia (48,2%), não utilizam colutório oral (78,6%), não utilizam fio dental (59%), não visitam o dentista há mais de um ano (35,7%) ou nem se lembram da última consulta (33,9%). Trocam de escova em média menos de 3 em 3 meses (87,5%) e se lembram da marca de pasta de dentes que utilizam 87,5%) (Tabela 12).

Tabela 12 – Dados acerca de hábitos sobre saúde oral e uso de prótese/placa/aparelho

Variáveis	DIABETICO		
	SIM	NÃO	Total
	n = 56 (%)	n = 54 (%)	n = 110 (%)
USO DE PRÓTESE/PLACA/APARELHO			
SIM	30 (53.6)	24 (44.4)	54 (49.1)
NÃO	26 (46.4)	30 (55.6)	56(50.9)
ESCOVAÇÃO			
0 (DESDENTADO)	0 (0)	1 (1.9)	1 (0.9)
1	6 (10.7)	2 (3.7)	8 (7.3)
2	14 (25)	16 (29.6)	30 (27.3)
3	27 (48.2)	26 (48.1)	53 (48.2)
4	7 (12.5)	6 (11.1)	13 (11.8)
5	1 (1.8)	2 (3.7)	3 (2.7)
6	1 (1.8)	1 (1.9)	2 (1.8)
USO DE COLUTÓRIO			
SIM	12 (21.4)	11 (20.4)	23 (20.9)
NÃO	44 (78.6)	43 (79.6)	87 (79.1)
USO DE FIO DENTAL			
SIM	23 (41.1)	20 (37)	43 (39.1)
NÃO	33 (59)	34 (63)	67 (60.9)
VISITA AO DENTISTA			
HÁ MENOS DE 6 MESES	8 (14.3)	14 (25.9)	22 (20)
HÁ MAIS DE 6 MESES	9 (16.1)	9 (16.7)	18 (16.4)
HÁ MAIS DE 1 ANO	20 (35.7)	10 (18.5)	30 (27.3)
NÃO LEMBRO	19 (33.9)	21 (38.9)	40 (36.4)
TROCA DE ESCOVA DE DENTES			
NÃO UTILIZA	0 (0)	1 (1.9)	1 (0.9)
FAZ 3 MESES	49 (87.5)	45 (83.3)	94 (85.5)
FAZ 6 MESES	7 (12.5)	6 (11.1)	13 (11.8)
FAZ 1 ANO	0 (0)	2 (3.7)	2 (1.8)
LEMBRANÇA DA MARCA DE PASTA DE DENTES			
NÃO UTILIZA	0 (0)	1 (1.9)	1 (0.9)
SIM	49 (87.5)	46 (85.2)	95 (86.4)
NÃO	7 (12.5)	7 (13)	14 (12.7)

A marca de pasta de dentes mais utilizada, uma curiosidade levantada no estudo, visto que se há uma preocupação por parte dos pacientes com sua saúde oral, haverá um interesse em escolher uma marca de pasta de dentes que considere mais efetiva. 42,9 % do grupo de diabéticos e 52,2% do grupo controle utilizam a marca Colgate (Tabela 13).

Tabela 13 – Marca de Pasta de Dentes mais utilizada

Marca de Pasta de Dentes	DIABÉTICO		
	1	0	Total
	n = 56 (%)	n = 54 (%)	n = 110 (%)
COLGATE	21 (42.9)	24 (52.2)	45 (47.4)
COLGATE/SORRISO	0 (0)	1 (2.2)	1 (1.1)
EVEN	1 (2)	0 (0)	1 (1.1)
ICEFRESH	1 (2)	0 (0)	1 (1.1)
KOLYNOS	3 (6.1)	2 (4.3)	5 (5.3)
ORAL B	4 (8.2)	4 (8.7)	8 (8.4)
PREVENT	2 (4.1)	0 (0)	2 (2.1)
PRO-WHITE	1 (2)	1 (2.2)	2 (2.1)
PRO-WHITE HINODE	0 (0)	1 (2.2)	1 (1.1)
SENSODYNE	0 (0)	2 (4.3)	2 (2.1)
SORRISO	11 (22.4)	6 (13)	17 (17.9)

Correlacionando os dados descritos no teste de correlação de Pearson utilizou-se os 3 índices principais (CPOD, IG e PSR) com dados clínicos e sociais mais importantes (IMC, Circunferência abdominal, Glicemia pós-prandial, Escolaridade e Renda familiar). Do gráfico 16 ao 20 há a correlação de spearman positiva entre o índice CPOD e as seguintes variáveis: Glicemia pós-prandial ($r_s = 0.2169308$, $p = 0.02282$), IMC ($r_s = 0.0814035$ e $p = 0.3979$), Circunferência Abdominal ($r_s = 0.1955441$, $p = 0.04063$), Renda Familiar ($r_s = 0.07272483$, $p = 0.4502$), sendo negativo apenas para Escolaridade ($r_s = -0.2912051$, $p = 0.002025$).

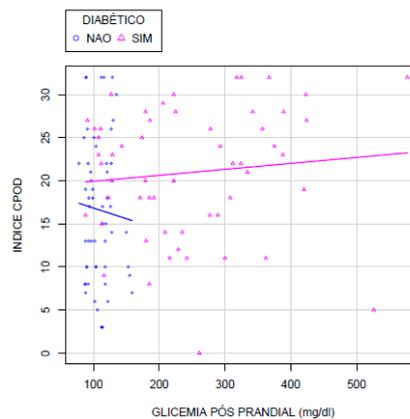


Fig. 16: Gráfico de Dispersão entre Índice CPOD e Glicemia Pós - Prandial

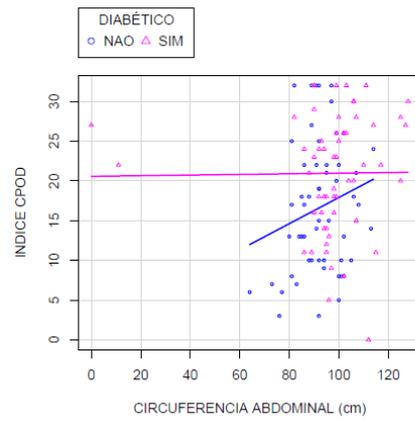


Fig. 17: Gráfico de dispersão entre Índice CPOD e Circunferência Abdominal

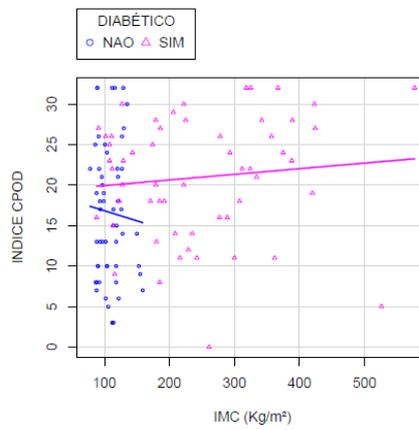


Fig. 18: Gráfico de Dispersão entre Índice CPOD e IMC

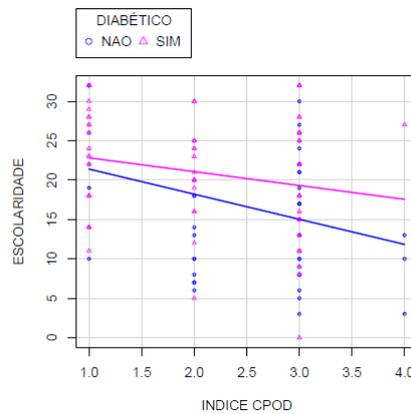


Fig. 19: Gráfico de Dispersão entre Índice CPOD e Escolaridade

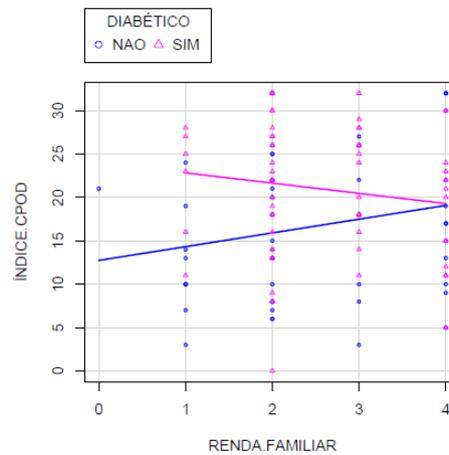


Fig. 20: Gráfico de Dispersão entre Índice CPOD e Renda Familiar

Do gráfico 21 ao 25 houve a correlação de spearman positiva entre o índice Gengival e as seguintes variáveis: Glicemia pós-prandial ($r_s = 0.05553692$, $p = 0.5644$), IMC ($r_s = 0.1233988$, $p = 0.199$), Circunferência Abdominal ($r_s = 0.1460196$, $p = 0.128$), Escolaridade ($r_s = 0.03368267$, $p = 0.7268$) e negativo para Renda Familiar ($r_s = -0.08402979$, $p = 0.3828$).

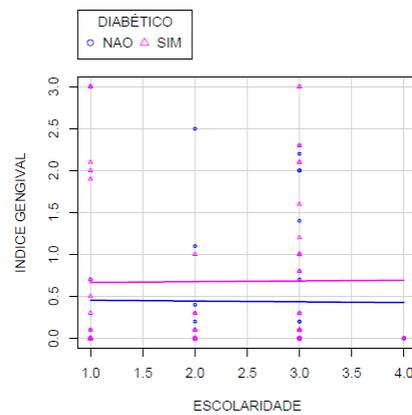


Fig. 21: Gráfico de Dispersão entre Índice Gengival (IG) e Escolaridade

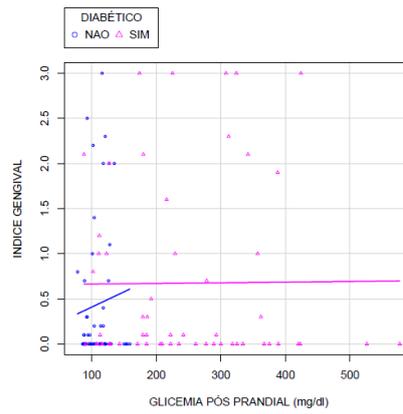


Fig. 22: Gráfico de Dispersão entre Índice Gengival (IG) e Glicemia Pós-prandial

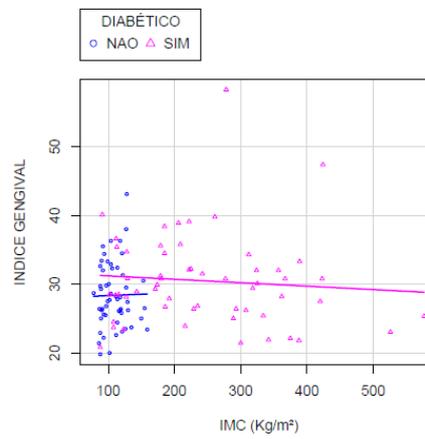


Fig. 23: Gráfico de Dispersão entre Índice Gengival (IG) e IMC

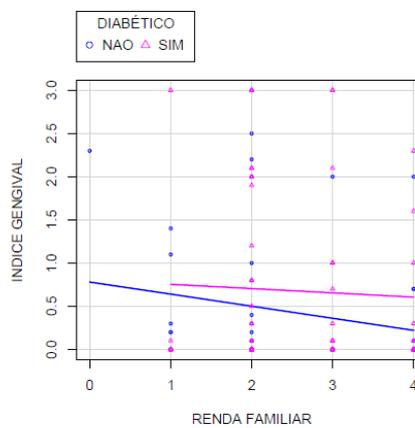


Fig. 24: Gráfico de Dispersão entre Índice Gengival (IG) e Renda Familiar

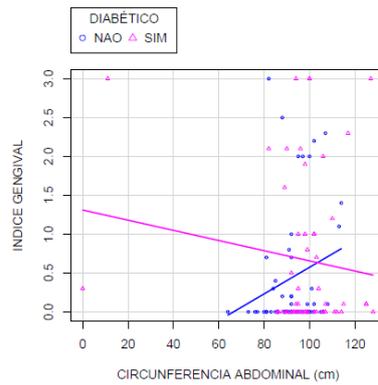


Fig. 25: Gráfico de Dispersão entre Índice Gengival (IG) e Circunferência Abdominal.

Analisando finalmente os gráficos 26 ao 31, as seguintes correlações foram encontradas entre o sistema PSR e as variáveis estudadas: positiva para IMC ($r_s = 0.1950871$, $p = 0.04111$), Circunferência Abdominal ($r_s = 0.1798577$, $p = 0.06008$), Escolaridade ($r_s = 0.04161004$, $p = 0.666$) e negativo para Glicemia pós-prandial ($r_s = -0.05570229$, $p = 0.5633$) e Renda Familiar ($r_s = -0.1800501$, $p = 0.05981$). Houve correlação positiva entre Índice Gengival e Índice CPOD ($r_s = 0.1329263$, $p = 0.1662$).

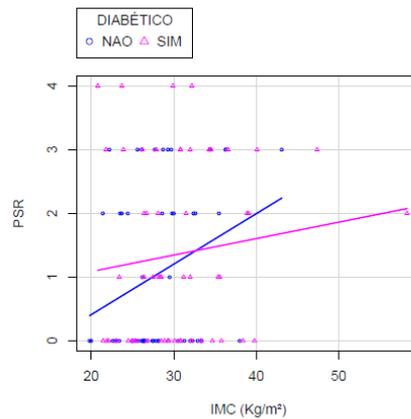


Fig. 26: Gráfico de Dispersão entre PSR e IMC

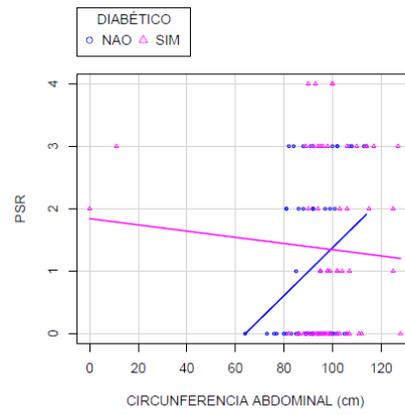


Fig. 27: Gráfico de Dispersão entre PSR e Circunferência Abdominal

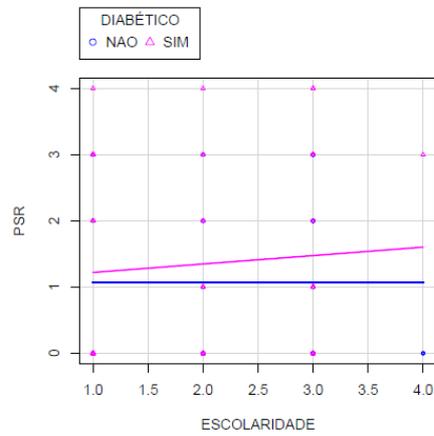


Fig. 28: Gráfico de Dispersão entre PSR e Escolaridade

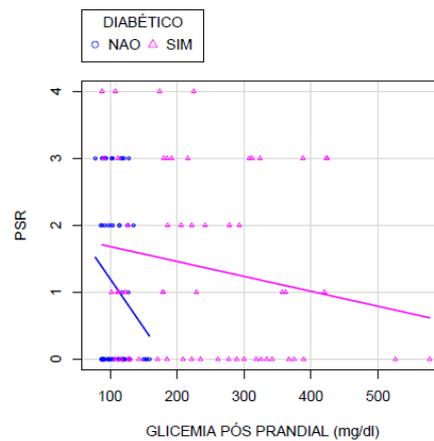


Fig. 29: Gráfico de Dispersão entre PSR e Glicemia pós-prandial

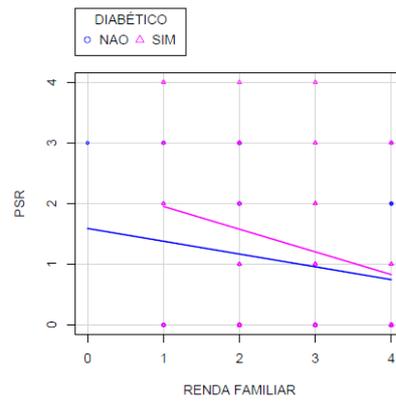


Fig. 30: Gráfico de Dispersão entre PSR e Renda Familiar

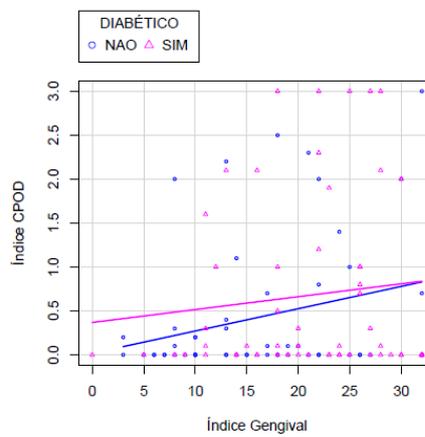
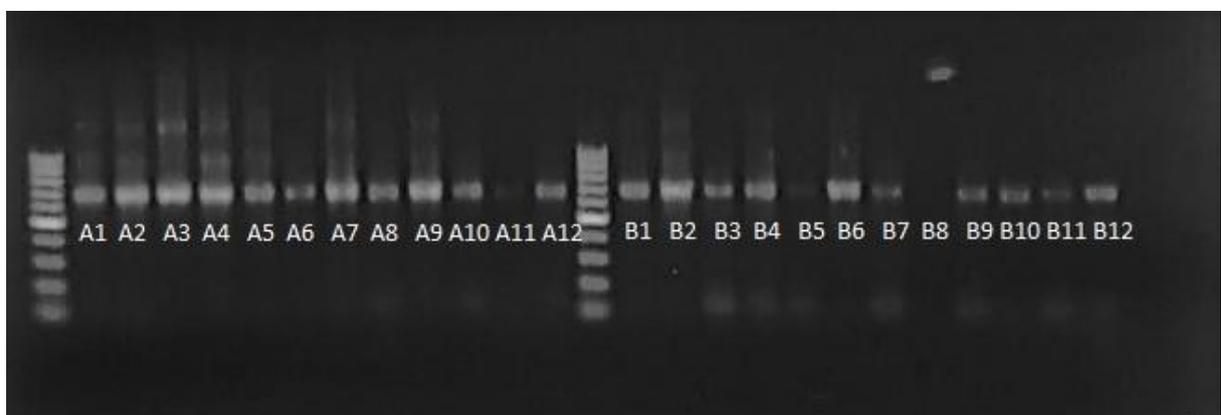


Fig. 31: Gráfico de Dispersão entre Índice CPOD e Índice Gençival

4.2 Resultados da fase laboratorial

Abaixo o resultado da Eletroforese da PCR com a Biblioteca # 1 (Figura 32).



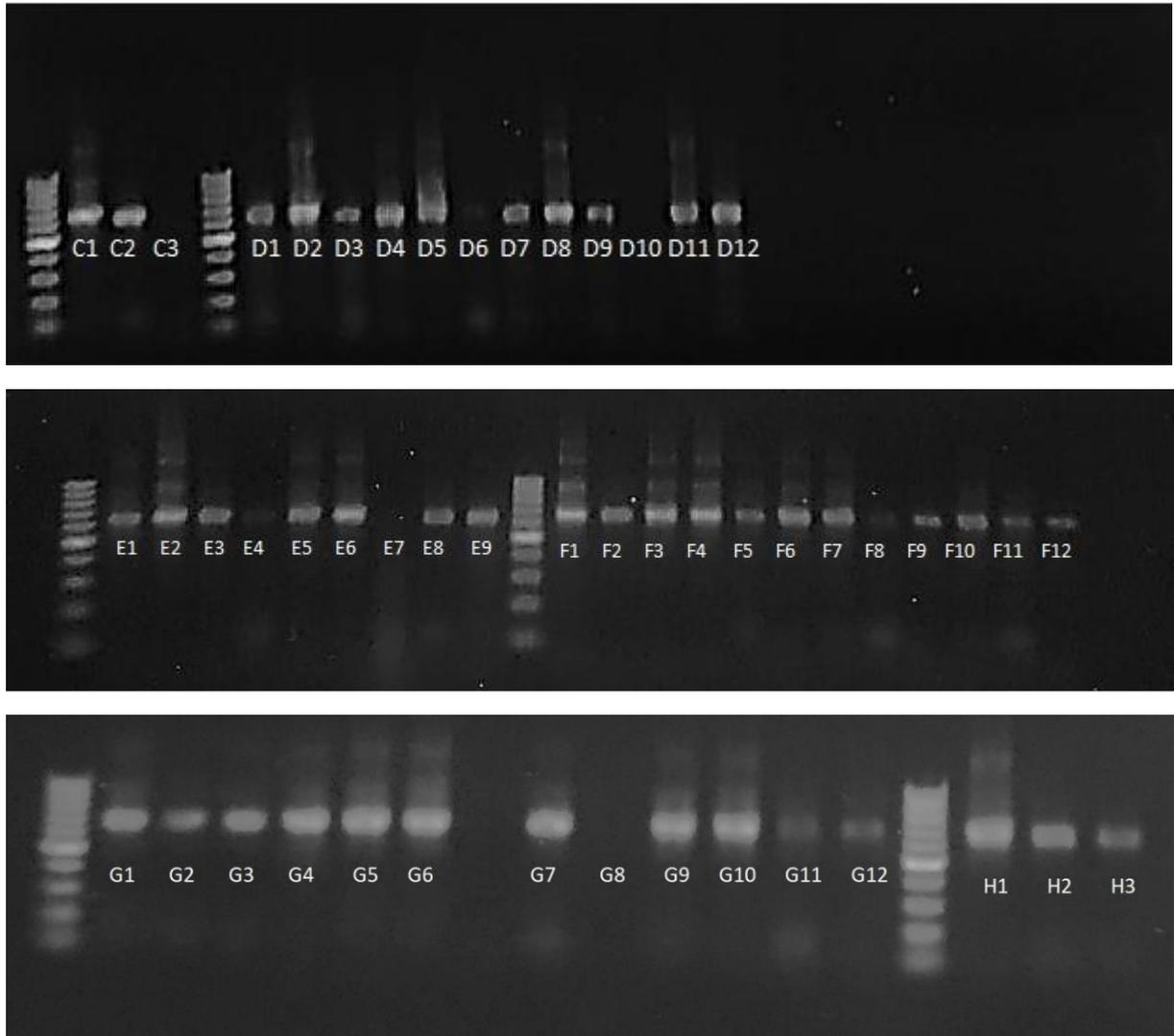


Fig. 32: Eletroforese da placa PCR feita com Biblioteca 1. Amostras de saliva do Grupo Diabético (A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9, A10, A11, A12, B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11, B12, C1) Amostras Controle, (C2, C3, H2, H3), Amostras de saliva do Grupo Não Diabético (F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8, F9, F10, F11, F12, G1, G2, G3, G4, G5, G6, G7, G8, G9, G10, G11, G12, H1), Amostras de sítios específicos de elementos dentários de pacientes diabéticos (D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8, D9, D10, D11, D12) e Amostras de sítios específicos de elementos dentários de pacientes saudáveis (E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9).

Abaixo, a Eletroforese das amostras não amplificadas com a Biblioteca 1 e amplificadas com a Biblioteca # 2. Ao todo 46 amostras de saliva foram amplificadas (92% de todas as amostras do estudo), 2 amostras do grupo diabético não foram amplificadas (B8 e B11) e 2 amostras do grupo controle não foram amplificadas (F8 e G8) (Figura 33).

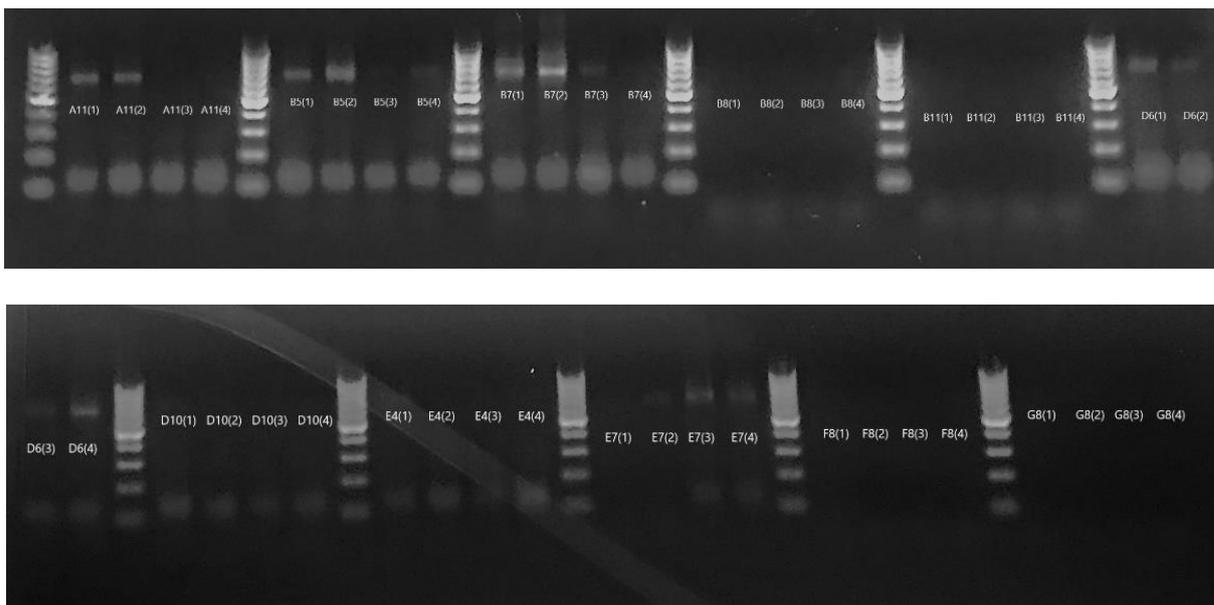


Fig. 33: Eletroforese das 11 amostras não amplificadas com primer da Biblioteca 2. Apenas as alíquotas A11(1), A11(2), B5(1), B5(2), B7(1), B7(2), D6(1), D6(2), D6(4), E7(3), E7(4) foram amplificadas.

Abaixo resultado da eletroforese das amostras após RFLP (Polimorfismos de Tamanhos de Fragmentos de Restrição) (Figura 34).



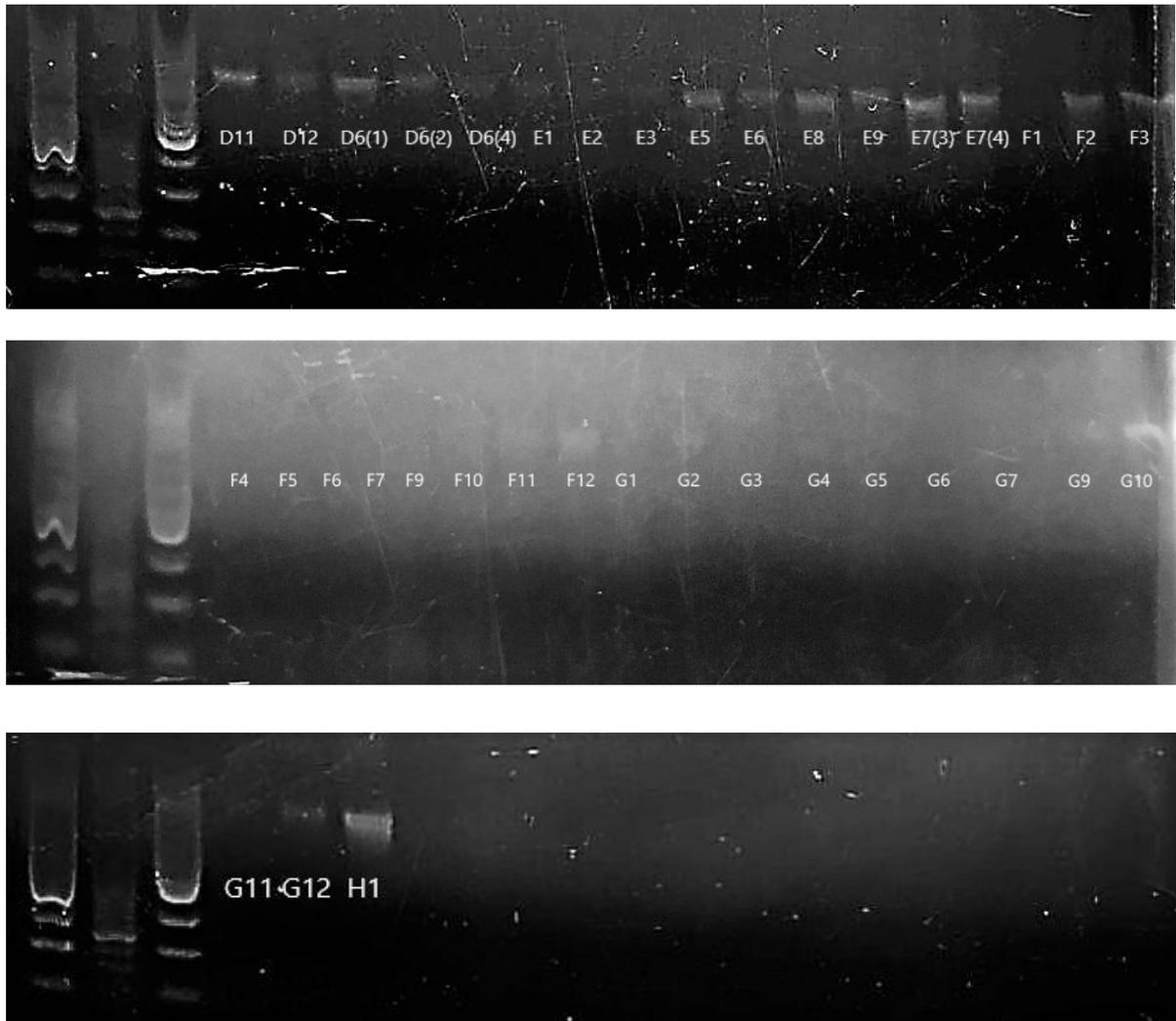


Fig. 34: Eletroforese das Amostras após Técnica de RFLP (Polimorfismos de Tamanhos de Fragmentos de Restrição).

A seguir a tabela com a mensuração do tamanho das bandas encontradas das amostras de saliva tanto do grupo de diabéticos como do grupo de pacientes não diabéticos (Amostras identificadas com as letras iniciais A, B, C, F, G, H) após a técnica de RFLP (Polimorfismos de Tamanhos de Fragmentos de Restrição) e a comparação entre os grupos diabéticos e controle e os testes estatísticos envolvidos (Tabela 14).

Tabela 14 - Tamanho de Bandas encontradas em cada grupo

TAMANHO DE BANDAS	DIABETICO			P value
	SIM	NAO	Total	
	n = 26 (%)	n = 24 (%)	n = 50 (%)	
700pb	20	3	23	
650pb	0	3	3	2.2281 * ¹
450	1	0	1	0.74077 * ²
400	1	0	1	0.83476 * ³
200	1	0	1	0.55818 * ⁴
NENHUMA	3	18	21	

*¹ t-test = 0.078182*² teste Mann-Whitney = 15.5*³ teste exato de Fisher = 1.2168*⁴ teste Quiquadrado - Chisq. = 0.34386

O que se verificou que a enzima de digestão Hind III cortou mais as amostras diabéticas e possivelmente por isso houve o aparecimento de mais bandas do que o grupo controle. Mesmo que em todos os testes o p foi maior que $p < 0.05$, não sendo significativa a comparação, é notório que algumas bandas com tamanhos diferentes de 700 ou 650pb surgiram na eletroforese o que fornece subsídios para se suspeitar de diferenças de diversidade entre os grupos porém para um procedimento mais acurado identificando os perfis microbianos que estão presentes em cada grupo, só é possível através do sequenciamento genético.

5.0 DISCUSSÃO

Um dos grandes propósitos deste estudo, como das demais pesquisas que se interessa em estudar saúde pública, e em especial doenças que acometem uma determinada parcela populacional, é entender e compreender os aspectos clínicos da patologia e como esta afeta a saúde oral do paciente, correlacionando o modo com que os aspectos sociais e econômicos podem afetar esta patologia avaliando a diversidade microbiana envolvida. Ao estudar uma parcela tão pequena desta população também demonstramos os aspectos desta região e como a falta de políticas econômicas e sociais atingem a vida das pessoas.

Na região do Viver Melhor, o público que comparecem aos postos de saúde é marcadamente feminino, incluso o grupo de pacientes diabéticos o que vai de encontro com a maioria dos dados em que o sexo masculino é preponderante a nível nacional e de acordo com estudos já realizados em Joinville/SC e Manaus/AM. (ARTILHEIRO et al. 2014; BRASIL, 2017). Para uma patologia que acometia pessoas mais velhas, nota-se uma modificação neste quadro, pessoas mais jovens estão sendo atingidas, possivelmente devido a mudança na base alimentar da população, em especial a deste estudo, pelo consumo de mais carboidratos e poucos alimentos saudáveis, o que corrobora com a previsão de órgãos pesquisadores na área (WHO, 2016; IDF, 2017). Pacientes mais pobres têm uma maior dificuldade de alcançar alimentos mais saudáveis (frutas, verduras e alimentos integrais), restringindo-se aos alimentos regionais com o consumo de peixes sendo mais preponderante, principalmente entre o grupo de diabéticos (DOM, 2018; PORTAL DO HOLANDA, 2018; SANTOS, 2018; SEVERIANO e SOUZA 2018; WHO, 2016; IDF, 2017; SILVA, 2015; YAMISHITA et al. 2013).

É uma população que ganha em torno de 1 a 2 salários mínimos, verificando que no fator renda familiar não houve diferença estatística entre os grupos, coerente com o propósito da criação do bairro, criado para abrigar pessoas carentes e que advieram de locais insalubres e impróprios para moradia, isto é de áreas de risco com necessidade de políticas públicas sociais para sobreviverem. Assim ao caracterizar a população em ambos os grupos a maioria possui escolaridade no nível médio, casado ou em união estável, cor parda, de maioria evangélica, detentoras de saneamento básico, moradia em casa de alvenaria com uma média de 3 moradores por domicílio e renda de até 1000 reais. Apenas 10,1% desta população recebia bolsa família (SANTOS, 2018; SEVERIANO e SOUZA, 2018).

Apesar da frequência de visitas ao médico, 64,3% dos diabéticos não realizam atividades físicas. No presente estudo verificou-se que verduras, legumes e peixe são os

alimentos mais utilizados pelo o grupo de pacientes diabéticos, todavia há a necessidade de reforço para que haja uma mudança efetiva e permanente de hábitos, e todos os programas de prevenção pode eficazmente trabalhar nesse foco baseando-se nas diferenças econômicas, sociais e culturais, utilizando por exemplo uma estratégia de ativação da intenção juntamente com a estratégia motivacional tradicional integrando usuário e profissional de saúde (SARTORELLI e FRANCO 2003; SILVA et al. 2015; SILVA et al. 2015; ATAÍDE e DAMASCENTO 2006; COSTA et al. 2011; SOUZA e GARNELO 2008). Verificando a grande diferença da glicose pós-prandial entre os grupos, o tratamento realizado pelo o grupo de pacientes diabéticos não está sendo efetivo, dado que apenas 41,1% destes afirmam realizar alguma dieta, apesar de afirmarem não ingerir bebida alcóolica e nem serem tabagistas. Lima et al. (2016) constata isso em seus estudos ao afirmar que o descontrole glicêmico é mais provável em pacientes diabéticos mais jovens, com maior frequência a consultas médicas, com mais tempo de duração da enfermidade e com tratamento farmacológico mais complexo.

A questão da obesidade pode ser notada através da Circunferência Abdominal (CA) e Índice de Massa Corpórea (IMC). Houve uma diferença estatística entre os grupos, onde marcadamente o grupo de diabéticos possui uma circunferência maior, explicável devido até a própria patologia em que os órgãos mais afetados são o fígado e pâncreas. Os dados de CA corroboram com as pesquisas realizadas por SHILLITOE et al. (2012), em que após cirurgias bariátricas, a glicemia dos pacientes diabéticos se normalizava quando consequentemente perdiam peso, utilizando a variável CA e IMC como associação. Todavia neste estudo não foi encontrado nenhuma relação entre o IMC e os pacientes diabéticos, pois não foi significativo estaticamente a diferença entre os grupos, embora o autor acima relata a existência de estudos cujo IMC dos diabéticos é mais elevado, associando a obesidade com diabetes,

A tríade obesidade/diabetes/doença periodontal está sendo relacionada. Apesar de ainda não confirmado pode haver uma possibilidade de associação entre doença periodontal e obesidade, proporcional à Circunferência Abdominal (CA) do indivíduo. O inibidor do ativador de plasminogênio 1 (PAI – 1) é aumentado na obesidade induzindo a aglutinação de sangue, decrescendo o fluxo sanguíneo no periodonto de obesos e promovendo a periodontite. Visto que o tecido adiposo secreta grandes quantidade de TNF- α e IL – 6 e estimula a participação dos macrófagos, por meios ainda desconhecidos, e estes são fonte principal de mediadores da inflamação crônica da doença periodontal (TNF- α , IL-6, IL-1, IL-8, metaloproteinases, prostaglandinas e NO; dentre outros) esta relação se torna muito contundente também com a diabetes, pois esses mesmos mediadores inflamatórios aumentam a resistência insulínica do

indivíduo(BASTOS et al. 2005; BERTOLINI et al. 2010; OHLRICH, 2010; ALPERT, 2017; ANBALAGAN et al. 2017; OGAWA et al. 2017).

Especificamente para odontologia, Rosendo e Freitas (2012), relata que as desigualdades sociais implicam nas diferenças nos padrões de doenças e de utilização de serviços e o grande desafio é atender essas necessidades de forma holística e por meio de programas de orientação e acompanhamento almejando a adesão do paciente ao tratamento proposto com conseqüente controle da patologia.

Ao se falar de saúde oral, os índices CPOD foram diferentes entre os grupos, sendo que o grupo de diabéticos possuía uma média mais elevada que do grupo controle, o que corrobora com alguns estudos na área, contudo Amaral et al. (2006) não encontrou esses dados em sua amostra, sugerindo que os diabéticos apresentam menos cáries que o grupo controle, alegando que provavelmente a duração da patologia poderia contribuir para a ocorrência de cárie, e o menor consumo de sacarose poderia explicar sua menor frequência nesses pacientes.

Uma das explicações para esse alto índice, leva em conta que o fluido salivar possui alto teor de açúcar, isto é, a hiperglicemia era responsável pelo o alto nível de carboidratos na saliva e fluido gengival, e como é um dos fatores mais preponderantes no complexo multifatorial da formação de cárie, seria uma das explicações para o alto índice de bactérias orais iniciadoras da desmineralização dentária (SOUZA et al. 2011; SANDBERG et al. 2000; KAMPOO et al. 2014). Outro fator a se levar em questão é o baixo fluxo salivar que estes pacientes possuem, a xerostomia, muito devido a patologia que apresenta essa sintomatologia, como dado aos medicamentos utilizados para o controle metabólico, na tentativa de diminuir a produção de AGEs e fatores proinflamatórios da patologia (KAMPOO et al. 2014).

Quando se fala em escolaridade, quanto mais o indivíduo é escolarizado espera-se que possui mais entendimento de sua situação física e o autocuidado estaria implícito neste conceito o que poderia tornar sua condição de saúde melhor, com conseqüentemente aumento de sua qualidade de vida, pois as desigualdades sociais geralmente modificam as diferenças nos padrões das doenças e na utilização dos serviços (ROSENDO e FREITAS 2012; ARTILHEIRO et al. 2014). Com uma correlação negativa, neste item, ao observar o gráfico de dispersão, observou-se que não houve diferença entre os grupos diabéticos e controle, o que se supõe que independente da escolaridade, os índices (em especial CPOD) por exemplo não se modificaram, que possuir maior escolaridade não quer dizer que o indivíduo colocará o conhecimento

adquirido em prol do proveito próprio, e que outras abordagens devem ser realizadas para o estímulo de autocuidado e da compreensão da importância de hábitos de saúde para sua vida.

Houve uma correlação positiva entre o índice CPOD e o índice IG nos dois grupos, o que vai de encontro com estudos de Moro et al. (2007) que executou tal estudo em escolares de baixo nível socioeconômico. A explicação para essa positividade estaria no fato de que o metabolismo do diabético proporciona uma maior gengivite e periodontite (SEVERSON et al. 2014; FELIPE et al. 2013; MEALEY e ROSE 2008, OLRICH et al. 2010; SANDBERG et al. 2000), conhecendo a relação forte da diabetes e condição oral, embora a gengivite em nosso estudo não tenha tido significância entre os grupos.

Ao avaliar o conhecimento sobre saúde oral e os hábitos relacionados, mesmo que a maioria dos pacientes realizem a escovação 3 vezes ao dia e se lembram da marca de escova de dentes que utilizam (alguns retiram escova e pasta de dentes fornecidos pelo o posto de saúde), a falta de prioridade em outros hábitos como uso de colutórios e fio dental, demonstram que o uso de outros produtos para a complementação da higienização oral não é usual para os pacientes, agravando uma já pobre saúde oral. Poudel et al. (2018) em sua revisão sistemática com pacientes diabéticos concluiu que muitos não possuíam conhecimento sobre saúde oral e isso se refletia em péssimos hábitos de saúde oral. Quando se analisa o fator visitas ao dentista, é perceptível– há mais de 1 ano sem consulta odontológica – fornece subsídios de que há a necessidade não apenas para o grupo de diabéticos como de controle e fortalecimento do papel da odontologia na vida dos usuários e de integrá-la no sistema de cuidados (SEVERSON et al. 2014).

Ao analisar o uso de prótese dentária, da amostra de 110 indivíduos (grupo controle e diabético), 49,1% a utilizam, o que significa uma falha no acesso da população à odontologia interferindo em sua qualidade de vida, sendo necessário ações mais pragmáticas não apenas nas ações coletivas educativas, mas preventivas e curativas (OLIVEIRA et al. 2018), o que corrobora com Silva et al. (2010) ao afirmar que apenas 27,3% dos diabéticos estão em tratamento odontológico na rede básica, e 3,6% recebiam atendimento especializado.

Quando foi realizado a análise das estruturas gengivais e periodontais, foi avaliado se a gengivite era leve, moderada e grave. Em ambos os grupos não houve diferença estatística, com a maioria da amostra (59,1%) não apresentando inflamação gengival seja em que grau fosse. Corroborando com os estudos de Drumond-Santana et al. (2007) houve entre os grupos diabéticos e controle uma diferença significativa ao analisar a presença de periodontite ou não

em qualquer um dos graus avaliados (leve a avançada), com 22,2% dos pacientes diabéticos necessitando de tratamento periodontal conforme o escore 3 do código do RPS, indicando que a presença da doença periodontal impacta negativamente na qualidade de vida destes pacientes.

A precariedade dos serviços de saúde é um ponto a ser levantado, pois o acesso a esses serviços facilita o controle da patologia. Durante a pesquisa houve dificuldade dos usuários a acessarem os serviços laboratoriais e com isso dar o feedback em algumas variáveis pesquisadas no estudo, por dois motivos: 1- falta de recursos humanos para a coleta de sangue no momento que o usuário chegava ao laboratório; 2 - falta de recursos materiais, pois os reagentes necessários não estavam à disposição após coleta de sangue. Outra dificuldade estrutural foi o acesso ao sistema SISREG (Sistema de Regulação), que quando não estava com dificuldades operacionais, não dispunha de vagas próximas para a execução dos exames. Este fato é também levantado por Silva et al. (2015) ao realizar uma pesquisa nas Unidades de Saúde com ESF, na região metropolitana de Curitiba/PR, de qual era a visão dos usuários do Programa de Hipertensão Arterial e Diabetes Mellitus nestas unidades. Foi citado a dificuldade de espaço físico para realizarem as atividades, dificuldade para marcar consultas especializadas, serviços de apoio diagnóstico e terapêutico, na média e alta complexidade da atenção, demora no recebimento dos exames entre outros corroborando com este estudo.

Malfati e Assunção (2011) especula haver falhas no processo de preenchimento dos dados das UBS ou dos agentes participantes do PSF no Brasil no cadastramento dos usuários na 13ª Coordenadoria Regional de Saúde no Paraná, ao verificar o baixo número de diabéticos e hipertensos cadastrados nas fichas e repassados para cadastro no SIAB (Sistema de Informação de Atenção Básica), o que leva a um baixo percentual de acompanhamento destes pacientes, necessitando a instalação de medias para sanar esses obstáculos. Neste estudo, houve a dificuldade de acessar muitos dos usuários pelo o cadastro da UBS, visto que muitos endereços estavam desatualizados, prontuários duplicados ou perdidos, e mudança da plataforma do sistema da unidade no momento da coleta devido a instalação do e-sus.

Algumas limitações podem ser apontadas neste escopo. Mesmo que tenhamos um modelo assistencial em que a integralidade deva estar em todos os sentidos mediante vínculo de comprometimento pessoal, familiar e comunitários, vigilância a saúde, acolhimento dos pacientes e garantia de referenciamento à níveis de maior complexidade, ainda o modelo biomédico está intrinsecamente dominante na gestão desses cuidados, o que refletiu na dificuldade de acessar os usuários desses serviços. Aliado a constante crescimento populacional, e sua demanda desenfreada, a estrutura física e o capital humano existente não

consegue crescer geometricamente à necessidade latente. Para isto é necessário urgentemente um aumento no investimento local, melhorias das ações presentes e implementação de políticas que alcancem o usuário de forma mais eficiente, sempre respeitando as especificidades locais existentes, como integração multiprofissional através de capacitações e valoração dos profissionais de saúde, para que a APS (Atenção Primária a Saúde) realmente se torne a porta de entrada para esses usuários (MALFATI e ASSUNÇÃO, 2011; FERTONANI et al. 2015; OLIVEIRA et al. 2013; ASSIS et al. 2003).

Na fase laboratorial, utilizou-se a técnica de RFLP (Polimorfismo de Comprimento de Fragmentos de Restrição) como uma fase preliminar para o sequenciamento, por ser uma técnica válida para a odontologia e de fácil acesso, apesar de ser demorado. Autores como Sakamoto et al. (2002), utilizando tal método em amostras de saliva conseguiu avaliar e identificar a diversidade em seus estudos. Mohammadi et al. (2017) utilizando a mesma técnica diferenciou espécies de *Candida* o que valida tal técnica para o estudo microbiológico da cavidade oral.

Comparando os grupos diabéticos e de controle, as bandas verificadas por eletroforese obtiveram alguns tamanhos diferentes e menores no grupo de diabéticos (200pb, 400pb e 450pb). Isso pode significar que no grupo controle não havia bactérias com essa sequência de nucleotídeos ou por algum momento no processo de purificação tenha desnaturado. Apesar de não haver diferença estatística entre os grupos utilizando esta técnica para averiguar diversidade mensurando as bandas de eletroforese, é notório a necessidade de se recorrer a sequenciadores de segunda geração para uma identificação mais precisa de quais perfis microbianos da saliva cada grupo possui (CAMERON et al. 2005; MATTANA et al. 2012; VALARANI et al. 2011).

6.0 CONCLUSÃO

Os dados do presente estudo indicaram os seguintes fatos:

- Este estudo contribuiu para o conhecimento das condições socioeconômicas da população diabética caracterizada neste estudo. As características da população foram: a maioria possui nível médio, casada ou em união estável, cor parda, evangélicos, renda de até 1000 reais, com uma composição de 3 moradores por domicílio
- Com relação as condições de saúde bucal, avaliando os índices CPOD, PSR e periodontite, houve diferença significativa entre os índices. O grupo diabético possui o índice CPOD mais elevado, necessita de maior intervenção periodontal e classicamente evidenciou-se maiores problemas periodontias neste grupo.
- Os pacientes diabéticos possuem uma Circunferência Abdominal maior do que os pacientes saudáveis, apesar de não ter sido significativo o peso e IMC entre os grupos. É necessário que o programa de controle e acompanhamento dos diabéticos realmente alcance seu objetivo, modificando os hábitos da comunidade, através de adesão a dieta necessária, regularidade na atividade física e presença atuante dos profissionais na realidade dos usuários.
- Necessária uma maior efetividade dos serviços odontológico, com maior atuação do cirurgião-dentista na equipe multiprofissional, para que o atributo da integralidade esteja presente não apenas na vida dos usuários diabéticos, mas da população atendida. Todavia essa efetividade deve-se pautar em novas abordagens ao usuário dentro de programas e ações já desenvolvidas para real efetividade dessas ações para que o paciente seja o regente de sua própria saúde.
- O uso do FTA Card Whatman se mostrou eficiente para a coleta de saliva dos pacientes, com fácil manipulação para a extração do DNA não comprometendo a técnica de amplificação de PCR e RFLP, e útil para a posterior análise metagenômica.
- Com relação a diversidade microbiana entre os grupos estudados, estatisticamente não foi significativa na comparação da presença de bandas de RFLP em um grupo (diabético) com o outro grupo (controle). Porém só o fato de haver bandas em tamanhos diferentes em um grupo (diabético) e ausência em outro grupo (controle) indicam a necessidade de um exame mais acurado através de sequenciamento por sugerir possível diferença de diversidade entre os grupos.

7.0 REFERÊNCIAS

- ALI, S. M. F.; TANWIR, F. Oral Microbial habitat a dynamic entity. **Journal of Oral Biology and Craniofacial Research**, v.2, n 3, p. 181-187, 2012.
- ALVES, D. G. **Diabetes e doença periodontal**. Monografia - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, 2006.
- ANBALAGAN, R. et al. Next generation sequencing of oral microbiota in Type 2 diabetes mellitus prior to and after nem stick usage and correlation with sérum monocyte chemoattractant-1. **Diabetes Research and Clinical Practice**, n 130, p. 204-210, 2017.
- ALPERT, P. T. Oral Health: The Oral-Systemic Health Connection. **Home Health Care Management & Practice**, v. 29, n 1, p. 56-59, 2017.
- AMARAL, F. M. F.; RAMOS, P. G. A.; FERREIRA, S. R. Estudo da Frequência de Cárie e Fatores Associados no Diabetes Mellitus Tipo 1. **Arq. Bras. Endocrinol Metab**, v. 50, n 3, p. 515-522, 2006.
- ARTILHEIRO, J. et al. Quem são e como são tratados pacientes que internam por diabetes mellitus no SUS? **Saúde Debate**, v. 38, n 101, p. 210-224, 2014.
- ASSIS, L. C. et al. Políticas públicas para monitoramento de hipertensos e diabéticos na atenção básica, Brasil. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde**, v. 14, n 2, p. 65-70, 2012.
- ASSIS, M. M. A.; VILLA, T. C. S.; NASCIMENTO, M. A. A. Acesso aos serviços de saúde: uma possibilidade a ser construída na prática. **Ciência e Saúde Coletiva**, v.8, n 3, p. 815-823, 2003.
- ATAÍDE, M. B. C.; DAMASCENO, M. M.C. Fatores que interferem na adesão ao autocuidado em Diabetes. **R. Enferm UERJ**, v. 14, n 4, p. 518-523, 2006.
- BASTOS, A. A. et al. Obesidade e Doença Periodontal. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v. 5, n 3, p. 275-279, 2005.
- BERTOLINI, P. F. R. et al. Doença periodontal e obesidade: existe alguma relação? **Rev. Ciênc. Méd.** v.19, n 1, p. 65-72, 2010.
- BAYNES, J. W.; DOMINICZAC, M. H. **Bioquímica Médica**, 3^ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Plano de reorganização da atenção à hipertensão arterial e ao diabetes mellitus: hipertensão arterial e diabetes mellitus / Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. – Brasília: Ministério da Saúde, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Diabetes Mellitus / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília: Ministério da Saúde. (Cadernos de Atenção Básica, n. 16) (Série A. Normas e Manuais Técnicos), 2006.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. SB Brasil 2010: Pesquisa Nacional de Saúde Bucal: resultados principais / Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica: diabetes mellitus / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília: Ministério da Saúde (Cadernos de Atenção Básica, n. 36), 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde. Vigitel Brasil 2017: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2017 / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2018.

Cadastro Nacional de Estabelecimentos de Saúde (CNES) – UBS Dr José Figliuolo. Disponível em <http://cnes2.datasus.gov.br/Exibe_Ficha_Estabelecimento.asp?VCo_Unidade=1302607594372&VListar=1&VEstado=13&VMun=&VZera=1>. Acesso em: 18 de julho 2018.

CAMERON, S. J. S. The human salivary microbiome exhibits temporal stability in bacterial diversity. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 91, n. 9, 2015.

CARNUT, L. Cuidado, integralidade e atenção primária: articulação essencial para refletir sobre o setor saúde no Brasil. **Saúde Debate**, v. 41, n 115, p. 1177-1186, 2017.

- CARVALHO, M. C. C. G.; SILVA, D. C. G. Sequenciamento de DNA de nova geração e suas aplicações na genômica das plantas. **Ciência Rural**, v. 40, n 3, p. 735-744, 2010.
- COSTA, J. A. et al. Promoção da saúde e diabetes: discutindo a adesão e a motivação de indivíduos diabéticos participantes de programas de saúde. **Ciências e Saúde Coletiva**, v.16, n 3. p. 2001-2009, 2011.
- DEMMER, R. T. et al. Periodontal Bacteria and Prediabetes Prevalence in ORIGINS: **The Oral Infections, Glucose Intolerance, and Insulin Resistance Study**. JDR Clinical Research Supplement, v. 94, n 9, p. 201-211, 2015.
- DEWHIRST, F. E. et al. The Human Oral Microbiome. **Journal of Bacteriology**, v. 192, n 19, p. 5002-5017, 2010.
- DOM - DIÁRIO OFICIAL DO MUNICÍPIO DE MANAUS. Disponível em < <http://dom.manaus.am.gov.br/pdf/2010/janeiro/dom2365cad1.pdf/view> > Acesso em: 17 de julho 2018.
- DRUMOND-SANTANA, T. et al. Impacto da doença periodontal na qualidade de vida de indivíduos diabéticos dentados. **Caderno Saúde Pública**, v. 23, n 3, p. 637-644, 2007.
- DUNCAN, B. B. et al. **Medicina Ambulatorial, Condutas de Atenção Primária Baseadas em Evidências**. ArtMed, 4. ed. 2013.
- FALCÃO, A. Conjunto Viver Melhor ganha nova UBS e cobertura da Atenção Primária é ampliada na zona Norte. Disponível em: < <http://www.manaus.am.gov.br/noticia/conjunto-viver-melhor-ganha-nova-ubs-e-cobertura-da-atencao-primaria-e-ampliada-na-zona-norte/> > Acesso em: 17 de julho 2018.
- FELIPE, M. E.; CHOMYSZYN-GAJESWKA, M.; FISCHER, R. G. Efeito do tratamento periodontal em pacientes com diabetes mellitus tipo 2. **Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto, UERJ**. v. 12, n 1, p. 84-91, 2013.
- FERTONANI, H. P. et al. Modelo assistencial em saúde: conceitos e desafios para a atenção básica brasileira. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 20, n 6, p. 1869-1878, 2015.
- FRANCA, D. J. T. et al. As contribuições do cuidado ao idoso no programa de HIPERDIA, para a formação profissional. **Revista Kairós Gerontologia**, v. 17, n 2, p. 315-327, 2014.

- GOETZMAN, E. S. et al. Metabolic pathways at the crossroads of diabetes and inborn errors. **J Inherit Metab Dis**, 2017.
- GOODRICH, J. K. et al. Conducting a Microbiome Study. **Cell**, v. 17, n 158, p. 250-262, 2014.
- IDF Diabetes Atlas, 8th ed. Brussels, International Diabetes Federation, 2017.
- JIANG, W. et Al. Pyrosequencing Analysis Of Oral Microbiota Shifting In Various Caries States in Childhood. **Microb Ecol**, v. 67, p. 962-969, 2014.
- JORGE, A. O. C. **Microbiologia e Imunologia Oral**. Elsevier, 1. ed. 2012.
- KAMPOO, K. et al. Oral Bacterial Communities in Individuals with Type 2 Diabetes Who Live in Southern Thailand. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 80, n 2, p. 662-671, 2014.
- KLEIN, H.; PALMER, C. E.; KNUTSON, J. W. Studies on dental caries. I – Dental status and dental needs of elementary school – children. **Public Health Rep**. n 13, p. 751-765, 1938.
- KOGAWA, E. M. et al. Impacto of glycemic control on oral health status in type 2 diabetes individuals and its association with salivary and plasma levels of chromogranin A. **Arquivos of Oral biology**, n 62, p. 1019, 2016.
- KUMAR, P. S. et al. Target Region Selection is a critical determinant of Community fingerprints generated by 16S pyrosequencing. **Plos One**, v. 6, n 6, p. 1-8, 2011.
- LAVRAS, C. Atenção primária à saúde e a organização de redes regionais de atenção à saúde no Brasil. **Saúde Soc**, v. 20, n 4, p. 867-874, 2011.
- LIMA, C. L. J. et al. Caracterização de usuários em risco de desenvolver diabetes: um estudo transversal. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 71, supl.1, p. 516-523, 2008.
- LIMA, R. F. et al. Fatores associados ao controle glicêmico em pessoas com diabetes na Estratégia Saúde da Família em Pernambuco. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**. v. 50, n 6, p. 937-945, 2016.
- LIMA, R. P. E. et al. Associação Entre Periodontite E Controle Glicêmico Do Portador De Diabetes Mellito Tipo 2: Um Estudo Piloto. **Braz J Periodontol**, v. 24, v 4, p. 07-14, 2014.
- LING, Z. et al. Pyrosequencing analysis of the human microbiota of healthy Chinese undergraduates. **BMC Genomics**, v. 14, n 390, p. 1-12, 2013.

- LIU, W.T et al. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA. **Appl Environ Microbiol**, v.63, n. 11, p. 4516–4522, 1997.
- LÖE, H. The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. **Journal of Periodontology**. v.38, p. 38-44, 1967.
- LÖE, H.; SILNESS, J. Periodontal disease in pregnancy – I Prevalence and Severity. **Acta Odontol Scand Oslo**, v. 21, p.533-51, 1963.
- LONG, J. et. al. Association of oral microbiome with type 2 diabetes risk. **Journal of Periodontal Research**, v. 52, p. 636-643, 2017.
- MAFALTI, C. R. M.; ASSUNÇÃO, A. N. Hipertensão arterial e diabetes na Estratégia de Saúde da Família: uma análise da frequência de acompanhamento pelas equipes de Saúde da Família. **Ciências e Saúde Coletiva**, v. 16, supl. 1, p. 1383-1388, 2011.
- MARDIS, E. R. Next-Generation DNA Sequencing Methods. *Annu. Rev. Genom. Hum. Genet*, v. 9, p. 387-402, 2008.
- MARINHO, M. G. S. et al. Análise de custos da assistência à saúde aos portadores de diabetes melito e hipertensão arterial em uma unidade de saúde pública de referência em Recife – Brasil. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 55, n 6, p. 406-411, 2011.
- MATTANA, C. et al. Importância Pericial do DNA e a Participação do Odontologista. *Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics*, v. 2, n. 1, p. 65-82, 2012.
- MEALEY, B. L.; ROSE, L. F. Diabetes mellitus and inflammatory periodontal diseases. **Curr. Opin Endocrinol Diabetes Obes**. v. 15, p. 135-141, 2008.
- MOHAMMADI, F. et.al. Identification of *Candida* species in the oral cavity of diabetic patients. **Curr Med Mycol**, v.2, n. 2, p. 1-7, Jun, 2016.
- MORO, G. C. et al. Relação entre presença de placa, inflamação gengival e experiência de cárie em escolares de baixo nível socioeconômico e cultural. **Ciências da Saúde**, v. 8, n 1, p. 179-186, 2007.
- MOROSINI, M. G. V. C.; FONSECA, A. F.; LIMA, L. D.; Política Nacional de Atenção Básica 2017: retrocessos e riscos para o Sistema Único de Saúde. **Saúde em Debate**. v. 42, n 116, p. 11-24, 2018.

NABEE, Z.; JEEWON, R.; PUGO-GUNSAM, P. Oral dysbacteriosis in type 2 diabetes and its role in the progression to cardiovascular disease. **African Health Sciences**, v. 17, n 4, p. 1082-1091, 2017.

FERNANDES, N. S. M. **Alterações metabólicas no diabético**. Dissertação - Universidade Fernando Pessoa. Faculdade de Ciências da Saúde. Porto, 2013.

NELSON, D. L.; COX, M. M. LEHNINGER **Princípios de Bioquímica**. 6. ed. São Paulo: Artmed, 2014.

OGAWA, T. et al. Characterizations of oral microbiota in elderly nursing home residents with diabetes. **Journal of Oral Science**, v. 59, n 4, p. 549-555, 2017.

OHLRICH, E. J.; CULLINAN, M. P.; LEICHTER, J. W. Diabetes, periodontite e microbiota subgingival . **J Microbiol Oral**. 2010.

OLIVEIRA, E. J. P. et al. Qualidade de vida e condições de saúde bucal de hipertensos e diabéticos em um município do Sudeste Brasileiro. **Ciências e Saúde Coletiva**, v. 23, n 3, p. 763-772, 2018.

OLIVEIRA, M. A. C.; PEREIRA, I. C. Atributos essenciais da Atenção Primária e a Estratégia Saúde da Família. **Rev Bras Enferm**.v. 66, p. 158-16, 2013.

OLIVEIRA, M. R. G. et al. RPS (Registro simplificado): método rápido e simples na identificação precoce da doença periodontal. **Odontol. Clín. Cient**, v. 14, n 1, p. 555-558, 2015.

PEREIRA, A. C. **Tratado de Saúde Coletiva em Odontologia**, Nova Odessa, Napoleao, p. 704, 2009.

POUDEL, P. et al. Oral health knowledge, attitudes and care practices of people with diabetes: a systematic review. **BMC Public Health**, v. 18, n 577, p. 01-12, 2018.

PORTAL DO HOLANDA. 2 mil famílias são contempladas no programa minha casa minha vida em Manaus. Disponível em: < <http://www.portaldoholanda.com.br/amazonas/2-mil-familias-sao-contempladas-no-programa-minha-casa-minha-vida-em-manaus> > Acesso em: 17 de julho 2018.

RAJAKUMARI, M. L.; KUMARI, P. S. Prevalence of the bacterial flora in the oral cavity of diabetic individuals in Podicherry. **Int J Pharm Bio Sci**. v. 7, n 1, p. 432-437, 2016.

- ROSA, T. O que muda com a reformulação da Política Nacional de Atenção Básica. Consensus – Revista do Conselho Nacional de Secretários de Saúde, jul/ago/set 2017; ano VII (24): 16-21. Disponível em < www.conass.org.br/consensus > Acesso em: 17 de julho 2018.
- ROSENDO, R. A.; FREITAS, C. H. S. M. Diabetes Mellito: Dificuldades de Acesso e Adesão de Pacientes ao Programa de Saúde da Família. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v.16, n 1, p. 13-20, 2012.
- SAKAMOTO, M. et.al. Application of terminal RFLP analysis to characterize oral bacterial flora in saliva of healthy subjects and patients with periodontitis. **Journal of Medical Microbiology**, v.52, p.79–89, 2003.
- SANDERB, G. E. et al. Type 2 diabetes and oral health A comparison between diabetic and non-diabetic subjects. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 50, p. 27-34, 2000.
- SANTOS, A. Manaus tem maior conjunto do Minha Casa Minha Vida. Disponível em: <<http://www.cimentoitambe.com.br/manaus-tem-o-maior-conjunto-habitacional-do-minha-casa-minha-vida/>> Acesso em: 17 de julho 2018.
- SANTOS, F. A. et al. Registro Periodontal Simplificado (PSR): Um método rápido e simples de avaliação periodontal. **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, v. 2, n 1, p. 103-109, 1998.
- SANTOS, N. A. et al. Avaliação dos atributos da atenção primária por profissionais de saúde. **Rev. APS**, v. 20, n 3, p. 339-348, 2017.
- SARTORELLI, D. S.; FRANCO, L. J. Tendências do diabetes mellitus no Brasil: o papel da transição nutricional. **Caderno de Saúde Pública**, v. 19, (Sup. 1), p. 29-36, 2003.
- SEMSA, SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE DA CIDADE DE MANAUS. Disponível em: <<http://semsa.manaus.am.gov.br/programas-de-saude/controla-da-hipertensao-e-diabetes/>> Acesso em: 01 de outubro 2018.
- SERRANO-COLL, H. A. et al. Conocimiento de la microbiota de la cavidade oral através de la metagenômica. **Revista CES Odontologia**, v. 28, n 2, p.112-118, 2015.
- SEVERIANO, A.; SOUZA, M. Dilma entrega casas e anuncia R\$ 419 mi para mobilidade urbana, no AM: Corredores exclusivos deverão ser construídos pelo Governo e Prefeitura. Dilma não deu prazo para entrega das obras e da liberação dos recursos. Disponível em: <<http://g1.globo.com/am/amazonas/noticia/2014/02/dilma-entrega-casas-e-anuncia-r-419-mi-para-mobilidade-urbana-no-am.html>> Acesso em: 17 de julho 2018.

- SEVERSON, M. J. et al. Diabetes and Oral Health. **ADHA Access Diabetes**, p. 23-24, 2014.
- SHILLITOE, E. et al. The oral microflora in obesity and type-2 diabetes. *Journal of Oral Microbiology*, v. 4, n 1, p. 1-7, 2012.
- SILVA, A. M. et al. A integralidade da atenção em diabéticos com doença periodontal. **Ciências e Saúde Coletiva**, v. 15, n 4, p. 2191-2206, 2010.
- SILVA, Ana Sofia Machado. **Microbioma oral: O seu papel na saúde e na doença**. Dissertação - Escola de Ciência e Tecnologia da Saúde, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2016.
- SILVA, J. V. M. et al. Avaliação do programa de hipertensão arterial e diabetes mellitus na visão dos usuários. **Rev. Bras. Enferm.** v. 68, n 4, p. 626-632, 2015.
- SILVA, M. A. et al. Impacto da ativação da intenção na prática de atividade física em diabéticos tipo II: ensaio clínico randomizado. **Ciências e Saúde Coletiva**, v. 20, n 3, p. 875-886, 2015.
- SILVA, M. F. Consequências bioquímicas da Diabetes na saúde oral. Dissertação - Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto, 2012.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES 2017-2018 (DIRETRIZES)/ Organização José Egídio Paulo de Oliveira, Renan Magalhães Montenegro Junior, Sérgio Vencio. São Paulo: Editora Clannad, 2017.
- SOUZA, M. G. M.; COSTA, A. L. L.; RONCALLI, A. G. Clinical study of the oral manifestations and related factors in type 2 diabetics patients. **Braz J Otorhinolaryngology**, v. 77, n 2, p. 145-152, 2011.
- SOUZA, M. L. P.; GARNELO, L. “É muito dificultoso!": etnografia dos cuidados a pacientes com hipertensão e/ou diabetes na atenção básica, em Manaus, Amazonas, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 24, Sup. 1, p. 91-99, 2008.
- SULTAN, A. S. et al. The oral microbiome: A Lesson in coexistence. **PLOS Pathogens**, v. 25, p. 1-6, 2018.
- VALARANI, N. et al. Biologia molecular na odontologia: métodos comumente utilizados na cardiologia. **Odontol. Clín.-Cient. (Online)**, p. 19-23, vol.10, n.1, Recife Jan./Mar. 2011

XIAO, C. et al. Bacterial diversity and community structure of supragingival plaques in adults with dental health or caries revealed by 16S pyrosequencing. **Frontiers in Microbiology**, v.7, n 1145, p. 1-15, 2016.

XU, P.; GUNSOLLEY, J. Application of metagenomics in understanding oral health and disease. **Virulence**, v. 5, n 3, p.424-432, 2014.

WANG, J. et al. Metagenomic sequencing reveals microbiota and its functional potential associated with periodontal disease. **Scientific Reports**, v. 3, n 1843, p. 1-10, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Report On Diabetes. OMS, 2016.

YAMASHITA, J. M. et al. Manifestações bucais em pacientes portadores de Diabetes Mellitus: uma revisão sistemática. **Rev Odontol UNESP**, v. 41, n 3, p.211-220, 2013.

YAN, X. et al. Microflora Disturbance during Progression of Glucose Intolerance and Effect of Sitagliptin: An Animal Study. **Journal of Diabetes Research**, 2016.

ZACHARIAS, F. C. M. et al. Avaliação de estrutura e processo na atenção em Diabetes Mellitus. **Medicina**, v. 49, n 2, p. 134-142, 2016.

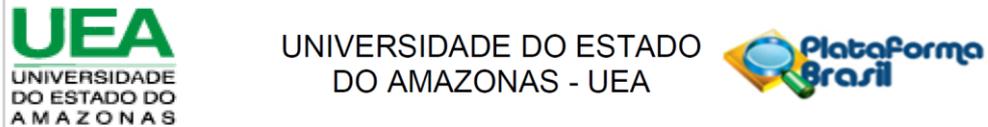
ZAURA, E. Next-generation sequencing approaches to understanding the oral microbiome. **Adv Dent Res**, v. 24, n 2, p. 81-85, 2012.

ZHANG, Y. et al. Human oral microbiota and its modulation for oral health. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 99, p. 883-893, 2018.

ZHOU, M. et al. Investigation of the effect of type 2 diabetes mellitus on subgingival plaque microbiota by high-throughput 16S rDNA pyrosequencing. **PLoS ONE**, v. 8, n 4, p. 1-8, 2013.

ANEXOS

Anexo A



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE METAGENÔMICA DE MICRORGANISMOS BACTERIANOS EXISTENTES NA CAVIDADE ORAL DE PACIENTES PORTADORES DE DIABETES MELLITUS

Pesquisador: James Lee Crainey

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 2

CAAE: 73557517.0.0000.5016

Instituição Proponente: CENTRO DE PESQUISAS LEONIDAS E MARIA DEANE - FUNDACAO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.379.031

Apresentação do Projeto:

O presente trabalho tem a pretensão de analisar a microbiota oral dos pacientes acometidos com diabetes melitus tipo 2 através do pirosequenciamento 454 Roche Titanium, examinando os perfis microbioanos alterados ao comparar com um grupo controle considerado saudável. Analisar a diversidade bacteriana oral dos pacientes acometidos por Diabetes, especificamente por Diabetes Mellitus tipo II é de uma importância capital, visto que morbidades orais e sistêmicas podem advir das bactérias presentes na flora oral e muitos estudos são necessários para que haja o entendimento da influência desses microorganismos nas patologias envolvidas.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Identificar a comunidade bacteriana da cavidade oral de pessoas com saúde normal e pessoas acometidas com diabetes mellitus tipo II na população amazônica, a fim de discriminar a microbiota de pessoas saudáveis das doentes, contribuindo para que possa ser desenvolvido um biomarcador para diagnóstico precoce da diabetes.

Objetivo Secundário:

Endereço: Av. Carvalho Leal, 1777
Bairro: chapada **CEP:** 69.050-030
UF: AM **Município:** MANAUS
Telefone: (92)3878-4368 **Fax:** (92)3878-4368 **E-mail:** cep.uea@gmail.com



UNIVERSIDADE DO ESTADO
DO AMAZONAS - UEA



Continuação do Parecer: 2.379.031

- Determinar a diversidade microbiana dos pacientes diabéticos comparando com grupo controle através do pirosequenciamento 454 roche do 16s rRNA bacteriano;- Correlacionar o perfil da diversidade bacteriana encontrado nos pacientes diabéticos com um marcador clínico (glicose em jejum) utilizado no diagnóstico de diabetes mellitus tipo II;

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Toda pesquisa com seres humanos envolve riscos apesar de a coleta de amostras não promover um risco real à vida no conceito estritamente físico, visto que apenas ocorrerá um desconforto durante a retirada de material bacteriano das arcadas dentárias similar ao que ocorre durante uma sessão de tartarectomia (retirada de tártaro), com sangramento tanto nesse procedimento quanto na aferição de glicemia capilar. Tal desconforto é plenamente aceitável pela a maioria dos pacientes que se submetem a tratamento odontológico. E isto será plenamente explicado aos usuários que desejarem contribuir com o intuito desta pesquisa. Como em todo e qualquer procedimento odontológico e de acordo com a resolução 466/12 que especifica no Inciso II.22 "possibilidade de danos à dimensão física, psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual do ser humano, em qualquer pesquisa e dela decorrente", esses riscos podem ocorrer e se por ventura eles ocorram serão encaminhados para policlínicas e CAPS (Centro de Atenção Psicossocial) integrantes da rede de saúde pública do amazonas. Todos os procedimentos de coleta estarão dentro das normas de biossegurança vigentes para atendimento odontológico, e não constará para a coleta de método invasivo que necessite de medicação ou anestesia local/geral.

Benefícios: Os benefícios esperados com este estudo é o conhecimento sobre como a Diabetes influencia na saúde oral e através deste proporcionar cuidados preventivos e elaboração de protocolos de cuidados para uma melhora na qualidade de vida aos pacientes diagnosticados com Diabetes Mellitus II e poder colaborar com esses achados no Sistema Único de Saúde.

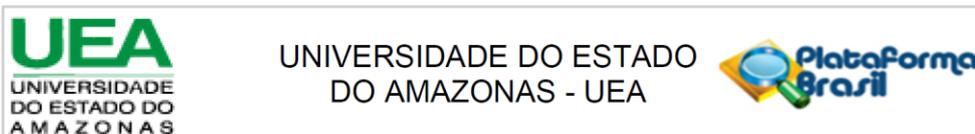
Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresenta relevância acadêmica, científica e social.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram depositados no sistema Plataforma Brasil de acordo com a Resolução 466/12.

Endereço: Av. Carvalho Leal, 1777
Bairro: chapada **CEP:** 69.050-030
UF: AM **Município:** MANAUS
Telefone: (92)3878-4368 **Fax:** (92)3878-4368 **E-mail:** cep.uea@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.379.031

Recomendações:

Ajustes no cronograma de coleta de dados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_933114.pdf	01/11/2017 20:00:26		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	01/11/2017 19:59:12	James Lee Crainey	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCL.docx	01/11/2017 19:29:29	James Lee Crainey	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Carta.pdf	01/11/2017 19:18:09	James Lee Crainey	Aceito
Folha de Rosto	Folhaderosto.pdf	01/11/2017 19:12:10	James Lee Crainey	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

MANAUS, 13 de Novembro de 2017

Assinado por:
Manoel Luiz Neto
(Coordenador)

Endereço: Av. Carvalho Leal, 1777
Bairro: chapada **CEP:** 69.050-030
UF: AM **Município:** MANAUS
Telefone: (92)3878-4368 **Fax:** (92)3878-4368 **E-mail:** cep.uea@gmail.com

Anexo B



SEMSA
Secretaria Municipal de
Saúde

Departamento de Gestão do Trabalho e Educação - DTRAB
Gerência de Gestão da Educação na Saúde - GESAU
End.: Av. Mario Ypiranga, nº 1.695 - Adrianópolis - Manaus/AM
T. (92) 3236-8987
gesau@pmm.am.gov.br
semsa.manaus.am.gov.br

Autorização para Pesquisa nº 48/2017 – GESAU/SEMSA

Manaus, 16 de novembro de 2017.

AUTORIZAÇÃO PARA REALIZAÇÃO DA PESQUISA NA SEMSA

Declaramos para os devidos fins que a Gerência de Gestão da Educação na Saúde - GESAU autoriza a realização no âmbito da Secretaria Municipal de Saúde – SEMSA da seguinte pesquisa:

TÍTULO: ANÁLISE METAGENÔMICA DE MICRORGANISMOS BACTERIANOS EXISTENTES NA CAVIDADE ORAL DE PACIENTES PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO II.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: MARIA DAS GRAÇAS SILVA SARMENTO

PROFESSOR ORIENTADOR: JAMES LEE CRAINER

INSTITUIÇÃO DE ENSINO: INSTITUTO LEÔNIDAS E MARIA DEANE (ILMD/FIOCRUZ AMAZONIA)

PERÍODO DE REALIZAÇÃO: 01/12/2017 a 31/03/2018

LOCAIS DA PESQUISA: Norte: UBS Dr. José Figliuolo.

Informamos que o pesquisador responsável apresentou o parecer ético consubstanciado (anuência) emitido por um Comitê de Ética em Pesquisa - CEP assegurando que os resultados obtidos serão tratados conforme prevê a Resolução CNS nº 466/2012 e suas complementares; e os objetivos e a metodologia para seu desenvolvimento não irão interferir no fluxo normal da Instituição; não serão utilizados insumos da SEMSA (recursos humanos, material de expediente etc.); nem gerarão ônus para a Secretaria.

Salientamos que esta autorização foi deferida pela **Gerência de Saúde Bucal/DAP**, é voluntária, podendo a qualquer momento serem solicitados esclarecimentos sobre a pesquisa que está sendo desenvolvida ou até mesmo ser revogada. A mesma corresponde ao projeto básico encaminhado previamente ao gestor do Local da Pesquisa pela Gerência de Gestão da Educação na Saúde.

Enfatizamos que o PESQUISADOR RESPONSÁVEL SE COMPROMETE em apresentar cópia deste documento ao gestor do Local da Pesquisa.

Dessa forma, solicitamos que a realização da pesquisa seja acompanhada assegurando o bem-estar dos participantes e pesquisadores.

Ademarina C. J. Pistilli
Ademarina C. J. Pistilli
Gerência de Gestão de Educação na Saúde
SEMSA

ADEMARINA C. J. PISTILLI
Gerência de Gestão da Educação na Saúde
Departamento de Gestão do Trabalho e Educação

Maria das Graças Silva Sarmento
MARIA DAS GRAÇAS SILVA SARMENTO
Pesquisador (a) Responsável

031180094-00
CPF

24.11.17
DATA

Anexo C



SEMSA
Secretaria Municipal de
Saúde

Departamento de Gestão do Trabalho e Educação – DTRAB
Gerência de Gestão da Educação na Saúde – GESAU
End.: Av. Mario Ypiranga, nº 1.695 – Adrianópolis – Manaus/AM
T. (92) 3236-8987
gesau@pmm.am.gov.br
semsa.manaus.am.gov.br

Termo de Compromisso nº 48/2017 – GESAU/SEMSA

Manaus, 16 de novembro de 2017.

TERMO DE COMPROMISSO DO(S) PESQUISADOR (ES)

TÍTULO: ANÁLISE METAGENÔMICA DE MICRORGANISMOS BACTERIANOS EXISTENTES NA CAVIDADE ORAL DE PACIENTES PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO II.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: MARIA DAS GRAÇAS SILVA SARMENTO

PROFESSOR ORIENTADOR: JAMES LEE CRAINER

INSTITUIÇÃO DE ENSINO: INSTITUTO LEÔNIDAS E MARIA DEANE (ILMD/FIOCRUZ AMAZONIA)

PERÍODO DE REALIZAÇÃO: 01/12/2017 a 31/03/2018

LOCAIS DA PESQUISA: Norte: UBS Dr. José Figliuolo.

O(s) pesquisador (es) do projeto acima identificado assume o compromisso:

1. Informar à Secretaria Municipal de Saúde – SEMSA qualquer alteração no cronograma de atividades da pesquisa;
2. Informar à SEMSA qualquer alteração significativa no projeto apresentado;
3. Disponibilizar os resultados desta pesquisa à SEMSA, através de relatório de resultados finais.

Manaus, 24 de novembro de 2017.

Maria das Graças Silva Sarmento

MARIA DAS GRAÇAS SILVA SARMENTO
Pesquisador (a) Responsável

031188094-00

CPF

Anexo D

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Convidamos o Sr. (a) para participar da Pesquisa intitulada **ANÁLISE METAGENÔMICA DE MICROORGANISMOS BACTERIANOS EXISTENTES NA CAVIDADE ORAL DE PACIENTES PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO II**, sob a responsabilidade dos pesquisadores: Dr. James Lee Crainey e Mestranda Maria das Graças Silva Sarmento como voluntário deste nosso estudo.

Esta pesquisa pretende analisar microrganismos bacterianos (bactérias) existentes na cavidade oral de quem está acometido por diabetes e comparar com os não possui diabetes (saudáveis). Acreditamos que ela seja importante porque podemos desenvolver outras maneiras de diagnosticar essa doença e indicar programas e protocolos de cuidado de prevenção oral. Para sua realização será feito o seguinte: Preenchimento de questionário e coleta de saliva, esfregaços da língua e dentes molares e retirada de placa e tártaro dos dentes anteriores inferiores. Sua participação consistirá em responder um questionário e permitir a realização de coleta de saliva e placa bacteriana ou tártaro através de uma consulta onde será realizada essas atividades e se necessário encaminhamento do Sr.(a) ao atendimento clínico odontológico.

É possível que aconteçam os seguintes desconfortos ou riscos, pois toda pesquisa que envolve seres humanos esses transtornos podem ocorrer: leve sangramento na retirada de tártaro, placa ou saliva durante coleta, medo, fobia ou constrangimento. Caso se sinta incomodado com qualquer procedimento, o Sr.(a) possui total liberdade de deixar de colaborar assim como poderá ser encaminhado para qualquer assistência dentro do Sistema Único de Saúde sobre qualquer mal-estar que aconteça devido a este estudo. Os benefícios que esperamos com essa pesquisa é o conhecimento sobre como a Diabetes influencia na saúde oral e através deste proporcionar cuidados preventivos e elaboração de protocolos de cuidados ou de ferramentas de diagnóstico para uma melhora na qualidade de vida aos pacientes diagnosticados com Diabetes Mellitus II.

Durante todo o período deste estudo você tem o direito de tirar qualquer dúvida ou pedir qualquer outro esclarecimento e o material coletado que estará sobre nossos cuidados, poderá ser monitorado e as informações sobre as amostras dada à conhecimento para o paciente que poderá ser descartado em qualquer momento que este realizar o pedido, bastando para isso entrar em contato com os pesquisadores no endereço Rua Teresina, 476. Adrianópolis. Manaus - AM, pelo telefone +55 (92) 3621-2323, ou através de contato com o Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/UEA no endereço Av. Carvalho Leal, 1777, Telefone (092) 3878-4368.

Relembramos que em caso de algum problema relacionado com a pesquisa você terá direito à assistência gratuita que será prestada por especialistas próprios que atuam dentro do Sistema Único de Saúde.

Reafirmamos que você tem garantido o seu direito de não aceitar participar ou de retirar sua permissão, a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo ou retaliação, pela sua decisão.

As informações desta pesquisa serão confidenciais, e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas caso haja sua autorização, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre sua participação. Será também utilizada imagens, e o material biológico será retirado e descartado segundo leis brasileiras de descarte biológico para pesquisas científicas na área da saúde.

Os gastos necessários para a sua participação na pesquisa serão assumidos pelos pesquisadores, sendo que o Sr.(a) não terá nenhuma despesa e também nenhuma remuneração. Fica também garantida indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extrajudicial.

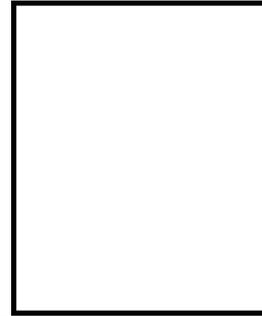
Este Termo de Consentimentos Livre e Esclarecido será assinado em duas vias, no qual um será entregue ao Sr.(a) e outra ficará com o responsável pela a pesquisa e coleta da amostra.

Anexo E

Autorização - TCLE

Eu, _____

após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e ter tido a oportunidade de conversar com o pesquisador responsável, para esclarecer todas as minhas dúvidas, acredito estar suficientemente informado, ficando claro para mim que minha participação é voluntária e que posso retirar este consentimento a qualquer momento sem penalidades ou perda de qualquer benefício. Estou ciente também dos objetivos da pesquisa, dos procedimentos aos quais serei submetido, dos possíveis danos ou riscos deles provenientes e da garantia de confidencialidade e esclarecimentos sempre que desejar. Diante do exposto expresse minha concordância de espontânea vontade em participar deste estudo.



Assinatura do voluntário ou de seu representante legal

Assinatura de uma testemunha

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste voluntário (ou de seu representante legal) para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pela obtenção do TCLE

Dr James Lee Crainey / Mestranda Maria das Graças Silva Sarmento

Rua Teresina, 476. Adrianópolis, Manaus - AM. Tel.: +55 (92) 3621-2323

Comitê de Ética em Pesquisa – CEP - UEA

Av. Carvalho Leal, 1777, Tel: (092) 3878-4368

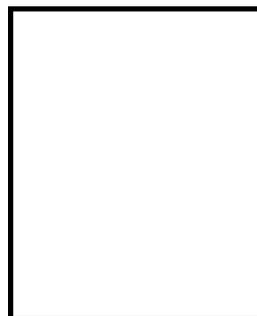
Anexo F

TERMO PARA FOTOGRAFIAS, FILMAGEM E GRAVAÇÕES DE VOZ

Eu _____, portador do RG. Nº _____, CPF: _____ permito que o pesquisador abaixo relacionados obtenham fotografia, filmagem ou gravação de minha pessoa para fins de pesquisa, científico e educacional.

Concordo que o material e informações obtidas relacionadas possam ser publicados em aulas, seminários, congressos, palestras ou periódicos científicos. Porém, não deve ser identificado por nome em qualquer uma das vias de publicação ou uso.

As fotografias, filmagens e gravações de voz ficarão sob a propriedade do pesquisador pertinente ao estudo e, sob a guarda do mesmo.



Assinatura do voluntário ou de seu representante legal

Pesquisador Orientador: Dr. James Lee Crainey

Pesquisadora Responsável: Mestranda Maria das Graças Silva Sarmento

Rua Teresina, 476. Adrianópolis, Manaus - AM. Tel.: +55 (92) 3621-2323

Comitê de Ética em Pesquisa – CEP

Av. Carvalho Leal, Tel.: +55 (092) 3878-4368.

Manaus, de de 2018.

UBS Dr. José Figliuolo – DISA NORTE

Anexo G

Questionário – Pesquisa

**ANÁLISE METAGENÔMICA DE MICROORGANISMOS BACTERIANOS EXISTENTES NA CAVIDADE ORAL DE
 PACIENTES PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO II**

FTA N.º	Data:
GM:	Hora:
1.0 Dados Sócio-Demográficos	
1.1 Nome:	
1.2 End.:	
1.3 Idade:	1.4 Data de Nasc.:
1.5 Sexo () 1. Masculino 2. Feminino	1.6 Escolaridade () 1. Nenhuma 2. Fundamental 3. Médio 4. Superior
1.7 Estado Civil () 1. Solteiro 2. União Civil/União Estável 3. Viúvo 4. Divorciado	1.8 Profissão:
1.9 Cor ou Raça () 1. Branco 2. Negro 3. Pardo 4. Amarelo 5. Índigena	1.10 Religião () 1. Sem religião 2. Católico 3. Evangélico 4. Espírita 5. Outros
1.11 Número de filhos:	
1.12 Naturalidade:	
1.13 Renda Familiar: () 1. até 500 reais 2. até 1000 reais 3. até 1500 reais 4. Mais de 1500 reais	
1.14 Recebe algum auxílio social ou é aposentado? () 1. Bolsa Família/ 2 Outro _____	
1.15 Quantas pessoas moram em sua residência?	
1.16 Sua casa tem saneamento básico? () 1. Sim 2. Não	
1.17 Sua casa é de alvenaria? () 1. Sim 2. Não	
2.0 Anamnese Clínica	
2.1 Altura:	2.2 Peso:
2.3 PAS:	2.4 CA:
2.5 Idade:	2.6 IMC:
2.7 HbA1c:	2.8 GJ:
2.9 Está grávida? () 1. Sim 2. Não	
2.10 Faz atividade física? () 1. Sim 2. Não Se sim quantas vezes por semana? _____	
2.11 Qual a última vez que foi ao médico? () 1. há menos de 6 meses 2. há mais de 6 meses 3. há mais de 1 ano 4. não lembro	
2.12 Quais os medicamentos usados para controle? () metformina () glibenclamida () glicásida () insulina (NPH e regular) () entre outros _____	
2.13 Atualmente está utilizando alguma medicação? () anti-inflamatório () antibiótico () analgésico () entre outros _____	
2.14 Faz uso de insulina? () 1. Sim 2. Não Quantas vezes ao dia? _____	
2.15 Tem histórico familiar de diabetes ou hipertensão na família? () 1. Sim 2. Não 3. Não sei Qual? () Diabetes e/ou () Hipertensão	

38			37			36			35			34			33			32			31		
DV	V	MV																					
L			L			L			L			L			L			L			L		
IG			IG			IG			IG			IG			IG			IG			IG		

48			47			46			45			44			43			42			41		
DV	V	MV																					
L			L			L			L			L			L			L			L		
IG			IG			IG			IG			IG			IG			IG			IG		

Índice Gengival (IG)

0 = Gengiva normal

1= Inflamação leve, pequena alteração na cor, pouco edema; nenhum sangramento à palpação

2= Inflamação Moderada, rubor, edema e superfície brilhante; sangramento à palpação

3= Inflamação grave, rubor intenso e edema, ulcerações tendência a sangramento espontâneo

Escore gengival – Grau de gengivite

0,1 - 1,0 – Leve

1,1 – 2,0 – Moderada

2,1 – 3,0 – Grave

PSR (Registro Periodontal Simplificado)

17 - 14	13 - 23	24 - 27																		
<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table>							<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table>							<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
37 - 34	33 - 43	44 - 47																		
<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table>							<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table>							<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table>						

CÓDIGO 0: faixa colorida totalmente visível, sem sangramento a sondagem, ausência de cálculo e excessos de margens restauradoras. Tal registro, quando o mais alto para o paciente, implicou apenas em necessidade de se manter o paciente sob medidas preventivas adequadas.

CÓDIGO 1: faixa colorida totalmente visível, embora com presença de sangramento a sondagem; sem cálculo e excessos nas margens das restaurações. As necessidades de tratamento constituem-se de eliminação da placa supragengival pelo profissional e instrução de higiene bucal.

CÓDIGO 2: faixa colorida totalmente visível, ou seja, ausência da bolsa periodontal, sangramento a sondagem, presença de cálculo supra e/ou subgengival e/ou excessos nas margens de restaurações. Implica necessidade de raspagem e polimento das superfícies dentais, remoção dos excessos de restaurações, e medidas preventivas adequadas como instrução de higiene bucal.

CÓDIGO 3: faixa colorida parcialmente visível, ou seja, presença de bolsa de 3,5 a 5,5 mm, indicando a necessidade de exame periodontal complementar apenas do sextante com periodontograma, radiografias, medidas de bolsa e nível de inserção e outros. Indica necessidade de tratamento periodontal especializado do sextante.

CÓDIGO 4: faixa colorida não visível, ou seja, totalmente no interior da bolsa (presença de bolsa periodontal acima de 5,5mm). Por ser considerada periodontite avançada, neste caso haveria necessidade de se realizar um minucioso exame periodontal convencional de toda boca, medidas de bolsas, periodontograma, radiografias entre outros. Implica necessidade de tratamento periodontal especializado e complexo.

CÓDIGO *: a inserção do código (*) no sextante significou a presença de problemas como, envolvimento de furca, mobilidade, problemas muco-gengivais (perda de gengiva inserida) e retração gengival acima de 3,5mm.

3.1 CPOD :	
3.2 IG total:	3.3 PSR (Vide ficha)
3.4 Tem gengivite? () 1. Sim 2. Não Se Sim, Que Grau? () 1. Leve 2. Moderada 3. Grave	
3.5 Tem periodontite? () 1. Sim 2. Não Se Sim, Que Grau? () 1. Periodontite Leve 2. Periodontite Avançada	
3.6 Paciente apresenta prótese, aparelho ortodôntico ou placa miorreaxante? () 1. Sim 2. Não Qual? _____	
3.7 Quantas vezes escova os dentes por dia?	
3.8 Faz uso de bochechos diariamente? () 1. Sim 2. Não Qual? _____ Quantas vezes ao dia? _____	
3.9 Faz uso de fio dental? () 1. Sim 2. Não Quantas vezes ao dia? _____	
3.10 Qual foi a última vez que foi ao dentista? () 1. há menos de 6 meses 2. há mais de 6 meses 3. há mais de 1 ano 4. não lembro	
3.11 Qual foi a última vez que trocou de escova de dentes? () 1. Faz 3 meses 2. Faz 6 meses 3. Faz 1 ano	
3.12 Você se lembra da marca da sua pasta de dentes? () 1. Sim 2. Não Qual? _____	

CPOD – Dentes cariados, perdidos e obturados

IG – Índice gengival

PSR – Periodontal Screening & Recording System (Registro Periodontal Simplificado)

PAS – Pressão Arterial

CA – Circunferência Abdominal

IMC – Índice de Massa Corporal

GJ – Glicose em Jejum

HbA1c – Hemoglobina Glicosada

GM – Glicose do Momento