

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM SAÚDE E DESENVOLVIMENTO DA
REGIÃO CENTRO-OESTE

ALANA OSWALDINA GAVIOLI MEIRA DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES PERIODONTAIS EM PACIENTES COM
PARACOCCIDIOIDOMICOSE: ANÁLISE CLÍNICA E MICROBIOLÓGICA.**

CAMPO GRANDE

2022

ALANA OSWALDINA GAVIOLI MEIRA DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES PERIODONTAIS EM PACIENTES COM
PARACOCCIDIOIDOMICOSE: ANÁLISE CLÍNICA E MICROBIOLÓGICA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste. Linha de pesquisa: Doenças emergentes, reemergentes e negligenciadas na Região Centro-Oeste: aspectos sócio-culturais, ecoambientais, epidemiológicos e clínicos.

Orientadora: Prof. Dra. Anamaria Mello Miranda Paniago

Co-orientadora: Prof. Dra. Ellen Cristina Gaetti Jardim

CAMPO GRANDE

2022

ALANA OSWALDINA GAVIOLI MEIRA DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DA DOENÇA PERIODONTAL EM PACIENTES COM
PARACOCCIDIOIDOMICOSE: ESTADIAMENTO E ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste. Linha de pesquisa: Doenças emergentes, reemergentes e negligenciadas na Região Centro-Oeste: aspectos sócio-culturais, ecoambientais, epidemiológicos e clínicos.

Orientadora: Prof. Dra. Anamaria Mello Miranda Paniago

Co-orientadora: Prof. Dra. Ellen Cristina Gaetti Jardim

Banca examinadora:

Nota/conceito:

Anamaria Mello Miranda Paniago – Faculdade de Medicina UFMS

Elerson Gaetti Jardim Junior – Faculdade de Odontologia UNESP

Gleyson Kleber do Amaral Silva – Faculdade de Odontologia UFMS

Julio César Leite da Silva - Faculdade de Odontologia UFMS

Albert Schiaveto de Souza – Programa de Pós-Graduação UFMS

AVALIAÇÃO FINAL: () Aprovada

() Reprovada

A Deus.

A minha família por todo apoio e incentivo.

Aos meus professores que tornaram possível a realização desta etapa.

AGRADECIMENTOS

Aos participantes da pesquisa que confiaram no projeto e assim tornaram possível a sua realização.

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul pela disponibilidade de local para atendimento dos participantes.

À professora Anamaria Mello Miranda Paniago por confiar no meu trabalho e tão brilhantemente orientar essa pesquisa.

À professora Ellen Cristina Gaetti Jardim pelo incentivo e apoio desde o início deste projeto.

Aos professores que estiveram envolvidos direta ou indiretamente na pesquisa e aos colegas que me auxiliaram durante os atendimentos.

À minha família, meu amor e familiares que me incentivaram e apoiaram nos momentos mais importantes desta etapa.

RESUMO

A paracoccidioidomicose (PCM) é uma doença fúngica endêmica na América Latina, e tem sido considerada fator associado a periodontite. O objetivo do estudo foi avaliar a periodontite bem como a microbiota periodontal e a auto percepção da saúde bucal em pacientes com PCM. Foram avaliados 15 pacientes com PCM, no período de junho a dezembro de 2021. Foram excluídos aqueles com comorbidades que pudessem favorecer periodontite, como diabetes mellitus e Aids. Os pacientes foram submetidos à avaliação periodontal, radiográfica e análise microbiológica de material coletado do periodonto por cultura ou reação em cadeia de polimerase. A identificação foi obtida por métodos fenotípicos. A avaliação da auto percepção da saúde bucal foi obtida pelo Teste Oral Health Impact Profile (OHIP-14). Foi observada mediana de idade de 57 [1º IQ 54,6; 3º IQ 61,6] anos, predomínio homens (86,7%) e tabagistas (93,3). O índice de placa foi elevado (mediana 73,5; 1º IQ 71,9; 3º IQ 90,8), periodontite foi observada em todos os pacientes; e 73,3% deles apresentavam periodontite em estágios 3 e 4. Evidenciou-se predomínio dos gêneros *Capnocytophaga*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Actinomyces* e *Enterococcus*, presentes em 93,3%, 86,7%, 86,7%, 80,0% e 73,3% dos pacientes respectivamente. Observou-se a ocorrência do gênero *Candida* em 80,0% dos pacientes. Houve uma correlação positiva entre o índice periodontal e unidade formadora de colônias de *F. nucleatum* ($R= 0,67$; $p<0,05$) e *F. necrophorum* ($R= 0,66$; $p<0,05$). O índice mediano de 13 [1º IQ 5; 3º IQ 22] obtido pela auto percepção da saúde bucal, mostrou uma insatisfação dos participantes com sua saúde oral. A maioria dos pacientes estudados apresentaram periodontite em estágio avançado, estavam insatisfeitos com sua saúde bucal e a microbiota encontrada não diferiu da microbiota relatada na periodontite de um modo geral.

Descritores: Paracoccidioidomicose; Periodontite; Microbiologia; Saúde bucal.

ABSTRACT

Paracoccidioidomycosis (PCM) is a fungal disease endemic in Latin America that has been considered a associated fator for periodontitis. The objective of this study was to evaluate periodontitis as well as periodontal microbiota and oral health self-perception in patients with PCM. Fifteen patients with PCM were evaluated from June to December 2021. Those with comorbidities that could favour periodontitis were excluded, such as diabetes mellitus or Aids. The patients underwent periodontal, radiographic, and microbiological analyses of material collected from the periodontium by culture or polymerase chain reaction. The identification was done by phenotypic methods. Self-perceived oral health was assessed through the Oral Health Impact Profile (OHIP-14).The median age was 57 [1st Q 54.6; 3rd Q 61.6] years, and the patients were predominantly men (86.7%) and smokers (93.3). The plaque index was high (median 73.5; 1st Q 71.9; 3rd Q 90.8), periodontitis was observed in all patients, and 73.3% of them had periodontitis of stage 3-4. The genera *Capnocytophaga*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Actinomyces*, and *Enterococcus* were present in 93.3%, 86.7%, 86.7%, 80.0% and 73.3% of patients, respectively. The genus *Candida* was observed in 80.0% of patients. There was a positive correlation between the periodontal index and colony-forming units of *F. nucleatum* ($R = 0.67$; $p < 0.05$) and *F. necrophorum* ($R = 0.66$; $p < 0.05$). The median OHIP score was 13 [1st Q 5; 3rd Q 22], showing a dissatisfaction of the participants with their oral health. Most of the patients had advanced periodontitis and were dissatisfied with their oral health. The microbiota found did not differ from the microbiota reported in periodontitis in general.

Descriptors: Paracoccidioidomycosis; Periodontitis; Microbiology; Oral Health.

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

PCM	Paracoccidiodomicose
OHIP	Oral Health Impact Profile
OMS	Organização Mundial de Saúde
mm	Milímetro
PCR	Reação em cadeia de polimerase
DNA	Ácido dexirribonucleico
mg/kg	Miligrama por kilo
mg	Miligrama
n	Número
des-re	Desmineralização – remineralização
CAL	Perda clínica de inserção
PD	Profundidade de sondagem
RBL	Perda óssea radiográfica
UFMS	Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
HUMAP	Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian
EBSERH	Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares
kVp	Tensão de pico
mA	Miliamperagem
Faodo	Faculdade de Odontologia
VMGA III	<i>Viability Medium Göteborg Anaerobically</i>
ml	Mililitro
µg/mL	Micrograma por mililitro
N ₂	Nitrogênio

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS (continuação)

CO ₂	Dioxido de carbono
TAA	gar de tripticaseína de soja
µl	Microlitro
MgCl ₂	Cloreto de magnésio
dNTP	Desoxirribonucleotídeos fosfatados
Taq	DNA polimerase termoestável
U	Unidade
µM	Micrmetro
ng	Nanograma
min	Minuto
s	Segundo
UV	Ultravioleta
Kb	A cada 1000 pares de bases
UFC	Unidade formadora de colnia
p	Probabilidade de se observar um valor da estatística de teste maior ou igual ao encontrado
et al.	E outros (as)
E1	Estágio clínico I de PCM
E2	Estágio clínico II de PCM
E5	Estágio clínico V de PCM
IQR	Intervalo interquartil
IQ	Inter Quartil
H	Horas

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS (continuação)

DP	Desvio padrão
NR	Não realizado
R	Relação estatística
CMX	Cotrimoxazol
vs	<i>Versus</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Grau celsius
%	Porcentagem
≤	Menor ou igual
<	Menor
≥	Maior ou igual
>	Maior
n°	Número
X	Vezez
°	Grau

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	Paracoccidioidomicose	16
<u>2.1.1</u>	<u>Agente etiológico</u>	<u>16</u>
<u>2.1.2</u>	<u>Epidemiologia</u>	<u>17</u>
<u>2.1.3</u>	<u>Manifestações clínicas</u>	<u>18</u>
<u>2.1.4</u>	<u>Diagnóstico</u>	<u>20</u>
<u>2.1.5</u>	<u>Tratamento</u>	<u>21</u>
<u>2.1.6</u>	<u>Acompanhamento</u>	<u>22</u>
2.2	Saúde bucal	23
<u>2.2.1</u>	<u>Higiene oral</u>	<u>23</u>
<u>2.2.2</u>	<u>Periodontite</u>	<u>24</u>
2.2.2.1	Avaliação radiográfica	26
2.2.2.2	Tratamento da periodontite	27
2.3	Auto percepção da saúde bucal	27
3	OBJETIVOS	29
3.1	Objetivo geral	29
3.2	Objetivos específicos	29
4	PARTICIPANTES E MÉTODOS	30
4.1	Tipo, local e período do estudo	30
4.2	Participantes, critérios de inclusão e exclusão	30
4.3	Coleta de dados	30
<u>4.3.1</u>	<u>Dados sociodemográficos</u>	<u>30</u>
<u>4.3.2</u>	<u>Dados Clínicos</u>	<u>30</u>
<u>4.3.3</u>	<u>Auto percepção da saúde bucal</u>	<u>32</u>
<u>4.3.4</u>	<u>Coleta de amostras para avaliação de microrganismos</u>	<u>33</u>
4.4	Análise Microbiológica-Cultura de Microrganismos	34
4.5	Análise Microbiológica-Detecção molecular de Microrganismos	38
4.6	Análise estatística	41
4.7	Aspectos éticos	41
5	RESULTADOS	42

6	DISCUSSÃO	51
7	CONCLUSÃO	56
	REFERÊNCIAS	57

1 INTRODUÇÃO

Descrita inicialmente em 1908 por Adolfo Lutz, a paracoccidioidomicose (PCM) é uma infecção fúngica sistêmica causada pelo fungo dimórfico do gênero *Paracoccidioides*. Considerada uma doença negligenciada, restrita à América Latina, 80% dos casos foram registrados no Brasil. O curso arrastado e as sequelas tornam a doença um problema grave de saúde pública, com impacto socioeconômico decorrente da incapacidade para o trabalho (GRIFFITHS; LOPES COLOMBO; DENNING, 2019; MENDES et al., 2017).

A infecção ocorre por inalação do fungo e compromete inicialmente os pulmões, mas pode apresentar disseminação para qualquer órgão do organismo, e a mucosa oral é o órgão extrapulmonar mais acometido. A doença pode se manifestar de duas diferentes formas clínicas: forma aguda/subaguda ou crônica. Apresenta predomínio de sua forma crônica, e acomete principalmente homens com mais de 40 anos, com histórico de trabalho com agricultura (MENDES et al., 2017). A cavidade bucal é comumente afetada manifestando-se com lesões de aspecto moriforme, as vezes ulceradas, associadas à edema local, dor, acometimento de mucosa, gengiva, tecidos de suporte dentário e perda dental. Podendo essas alterações bucais acarretar em disfagia, perda ponderal, dificuldade na fala, alteração da estética facial e consequente baixa autoestima (TRINDADE et al., 2017).

A periodontite é a doença bucal mais associada às alterações causadas pela PCM (SILVA et al., 2007). É uma doença que afeta a gengiva, ligamento periodontal e osso alveolar, podendo evoluir para mobilidade dentária, infecções bacterianas locais secundárias à doença e em casos mais graves, a perda dental. Seu diagnóstico é firmado através de exame clínico específico e análise radiográfica. A avaliação microbiológica é realizada em casos graves onde não há resposta ao tratamento e/ou piora de casos (SUTTHIBOONYAPAN; WANG; CHARATKULANGKUN, 2020).

Devido a presença de biofilme diminuir a disponibilidade de oxigênio no sulco gengival, na periodontite, além de bactérias aeróbias comumente encontradas na cavidade oral, há predomínio de microrganismos anaeróbios específicos. Os critérios de avaliação e diagnóstico ditam o tratamento, o qual consiste em remoção da causa

(biofilme dental) e terapia antimicrobiana específica para cada caso (ANSILIERO et al., 2021).

Considera-se que a condição da cavidade oral é capaz de interferir em alterações sistêmicas como diabete mellitus, por exemplo, e questões emocionais como autoestima, socialização, entre outros aspectos. O impacto da doença periodontal na qualidade de vida do paciente com PCM tem sido pouco estudado (SALDANHA et al., 2021).

Considerando a PCM uma infecção sistêmica que pode acarretar alterações significativas em cavidade oral, dentre elas a periodontite, este estudo visa avaliar a presença, estadiamento e principais microrganismos específicos da periodontite, bem como, a qualidade de vida relacionada à saúde bucal nos pacientes com PCM.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Paracoccidioidomicose

A paracoccidioidomicose (PCM) trata-se de uma infecção fúngica, não contagiosa, causada por fungos do gênero *Paracoccidioides*. É uma doença restrita à América Latina, mais frequente em adultos do sexo masculino e apresenta-se clinicamente de duas principais formas sendo elas aguda/subaguda e crônica (MENDES et al., 2017).

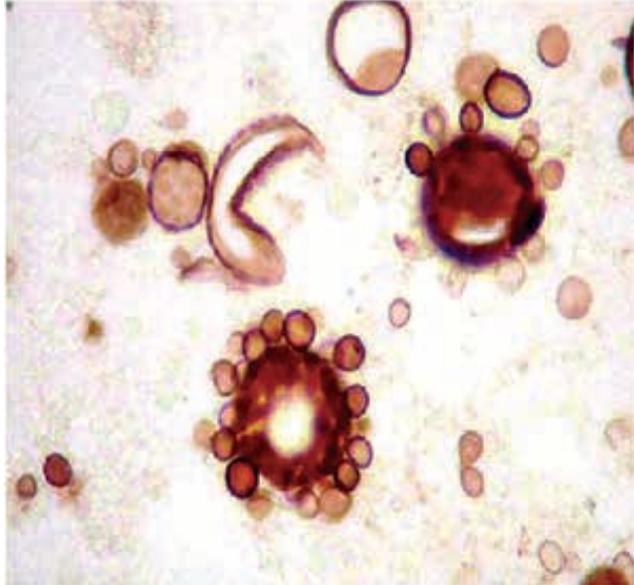
2.1.1 Agente etiológico

O gênero *Paracoccidioides* é classificado no Reino *Fungi*, Filo *Ascomycota*, Classe *Pleomycetes*, Ordem *Onigenales* e Família *Onygenaceae* (GAETTI-JARDIM JÚNIOR; MONTI; GAETTI-JARDIM, 2016).

Tratam-se de fungos termodimórfico que se apresenta de forma micelial à temperatura ambiente (24 a 28°C) e como levedura em temperaturas mais elevadas (37°C). A forma micelial possui maior resistência, comparada à forma de levedura a qual caracteriza-se por possuir maior virulência (DELBONI NUNES et al., 2017).

A levedura apresenta-se em forma esférica, medindo de 2 a 30 micrômetros com parede duplamente refringente. Observada microscopicamente como uma forma esporulada múltipla, resultando no típico aspecto, considerado patognomônico, de “roda de leme” ou “timão” (figura 1) (SARMENTO TATAGIBA et al., 2018).

Figura 1: *P. brasiliensis* em amostra de tecido sob formas de gemulação, com o aspecto patognomônico de roda de leme.



Fonte: técnica de Grocott, impregnação pela prata, aumento de 1.000X. (GÓES et al., 2014)

As espécies do gênero *Paracoccidioides* envolvidas como agente etiológico da PCM tem sido recentemente reclassificadas. A espécie *P. lutzii* é frequente na região centro oeste do Brasil enquanto o complexo de espécies *P. brasiliensis* constituído por quatro espécies crípticas, *P. brasiliensis*, *P. americana*, *P. restrepiensis* e *P. venezuelensis*, tem sua distribuição em áreas específicas da América Latina (TURISSINI et al., 2017).

2.1.2 Epidemiologia

O habitat natural deste fungo ainda não está bem definido, mas considerando as características geoclimáticas das regiões endêmicas, possivelmente seu habitat seja o subsolo, de regiões úmidas, com temperaturas médias entre 18 a 24°C e índices pluviométricos entre 900mm a 1.800mm (MARQUES, 2003).

O isolamento de *Paracoccidioides* a partir de vísceras de tatu (*Dasypus novemcinctus*) reforçou ser o solo o mais provável habitat (NAIFF et al., 1986).

Trata-se de uma doença restrita aos países da América Latina, possuindo maior incidência em países como Brasil, Venezuela e Colômbia. No que diz respeito

à distribuição regional, é considerada heterogênea com maior número de casos sendo relatados nos estados do Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e Amazônia. Apresenta nos últimos anos um crescente número de casos nas regiões centro-oeste e norte, associados ao crescimento da agricultura nessas regiões (MOTA et al., 2019).

A PCM não é uma doença de notificação compulsória na maioria dos estados Brasileiros, mas alguns como Mato Grosso do Sul adotaram essa medida, a fim de auxiliar no controle de número, avanço e tratamento da doença. Devido a não obrigatoriedade da notificação a real prevalência não pode ser calculada, mas estima-se que a taxa anual de incidência no Brasil seja de 1-3 por 100.000 habitantes e a mortalidade de 0,14 por 100.000 habitantes (COUTINHO et al., 2002; MENDES et al., 2017).

Os fatores associados à PCM são o sexo masculino, tabagismo e trabalho rural.

Os homens são mais afetados pela doença numa razão de masculinidade de até 22:1, devido à proteção conferida pelo estrogênio, a qual dificulta ou inibe a transformação dos conídios e fragmentos de micélio em leveduras, que é a forma patogênica (SHANKAR et al., 2011).

Os tabagistas apresentam 14 vezes mais chance de adoecer por PCM do que os não tabagistas (SANTOS et al., 2003), assim a quase totalidade dos pacientes com a forma crônica da PCM fumam, no entanto, o mecanismo fisiopatológico desta associação não foi estabelecido.

A PCM atinge principalmente pessoas com histórico de trabalho rural expostos a atividades que demandam o contato intenso e continuado com o solo. A prevalência de infecção por *Paracoccidioides spp* alcança 48% em áreas de atividade agrícola (MARQUES et al., 2013), porém o adoecimento ocorre em um pequeno percentual dos infectados.

2.1.3. Manifestações clínicas

A PCM pode se manifestar por diferentes formas clínicas. A classificação mais usada considera três principais formas clínicas: forma aguda/subaguda, crônica e mista (MENDES et al., 2017).

- a) Forma aguda/subaguda: também denominada forma juvenil, acomete mais crianças, adolescentes e adultos jovens. Sua sintomatologia desenvolve-se em torno de dois meses e apresenta manifestações clínicas compatíveis com acometimento do sistema fagocítico mononuclear, acarretando linfonomegalia, hepatomegalia e, ou esplenomegalia e com menos frequência a medula óssea. O envolvimento de mucosa bucal não é frequente e o pulmonar ainda mais raro, apesar deste último ser a porta de entrada do fungo. Diante do quadro clínico importante, a forma aguda/subaguda não possui classificação leve, apenas moderada e grave.

- b) Forma crônica: geralmente se manifesta em homens adultos com mais de 30 anos, com sintomas há mais de seis meses e os principais órgãos afetados são: pulmão, mucosas das vias aero digestivas superiores incluindo a boca, pele. Mais raramente o sistema nervoso central e as glândulas adrenais também são comprometidos.

- c) Forma mista: são considerados pacientes que apresentam a forma mista aqueles de possuem manifestações clínicas da forma aguda/subaguda e alguns achados da forma crônica. Geralmente acarretado pela depressão da resposta imune mediada por células e a ampla disseminação da doença.

Os critérios de gravidade da PCM estão descritos a seguir:

1) Leve: onde o paciente apresenta sintomas leves, bom estado geral de saúde e bom estado nutricional, com acometimento pulmonar discreto, lesões de outros órgãos não são exacerbadas e baixos títulos de anticorpos detectados na sorologia.

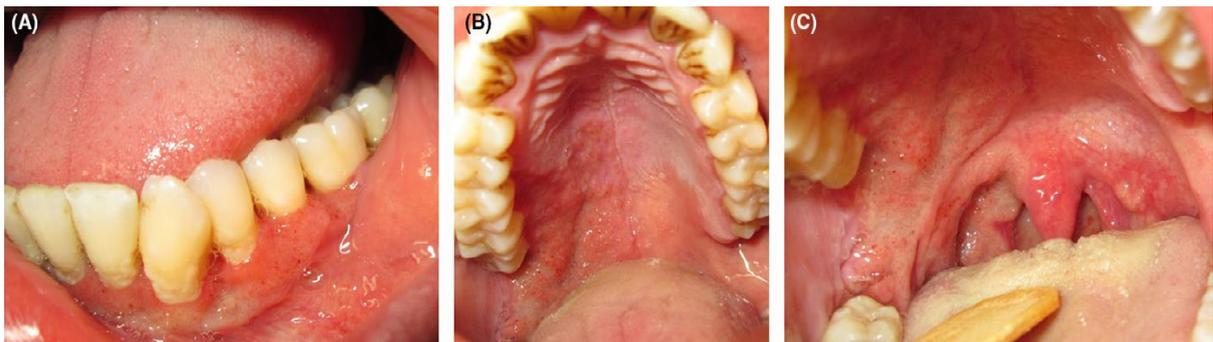
2) Moderada: é o intermédio entre a forma leve e grave da doença. O paciente apresenta estado geral de saúde e nutricional moderadamente afetado. Observa-se acometimento pulmonar moderado, causando sintomatologia importante, mas não tão intensa quanto à forma grave, geralmente sem acometimento de outros órgãos e/ou sistemas.

3) Grave: caracterizada por mau estado geral, emagrecimento excessivo, sintoma respiratório intenso, acometimento pulmonar importante, comumente

afetando pele e outros sistemas como glândulas suprarrenais e sistema nervoso central. Apresenta elevados títulos de anticorpos na sorologia.

As lesões em mucosa da boca e faringe são comuns, e mais rapidamente percebidas pelos pacientes pelo fato de causarem principalmente rouquidão, dor e dificuldade de engolir, ardor, sensação de protuberância ou ferida na boca. As lesões orais apresentam-se como lesões com características de estomatite ulcerativa moriforme (úlceras moriformes de Aguiar-Pupo) (figura 2), regiões hiperemiadas, lesões moriformes, edema, lesões granulomatosas, vegetantes, granulares e ulceradas. As lesões em boca ocorrem mais em gengiva, palato mole, mucosa labial e jugal (DE ARRUDA et al., 2018).

Figura 2: Aspecto clínico da paracoccidioidomicose oral (PCM) em múltiplos sítios no mesmo paciente: (A) Gengiva, (B) Palato, (C) Orofaringe. Observe o aspecto moriforme: granular e eritematoso, contornado por bordas irregulares.



Fonte: (TRINDADE et al., 2017)

2.1.4 Diagnóstico

Casos com manifestações clínicas sugestivas de PCM são diagnosticados através dos seguintes exames complementares:

a) Diagnóstico micológico

Obtido pela visualização em microscopia simples de formas típicas das leveduras de *Paracoccidioides*, com suas múltiplas brotações exógenas conferindo-lhe o aspecto de roda de leme.

O cultivo do fungo em meio de cultura específico pode auxiliar no diagnóstico dos casos em que o micológico direto foi negativo, porém são fungos de crescimento lento o que possibilita a contaminação do meio de cultura.

b) Diagnóstico histopatológico

São usados fragmentos de tecidos obtidos através de biópsia de uma lesão sugestiva de PCM. Além da coloração de hematoxilina e eosina pode ser utilizado coloração específica como a metenamina de prata. A primeira coloração permite a visualização da resposta inflamatória do hospedeiro e organização dos granulomas, enquanto com a segunda pode-se visualizar as células de levedura com maior precisão.

c) Diagnóstico sorológico

- 1) Detecção de anticorpos anti-*P.brasiliensis* são utilizados para o diagnóstico, como indicadores de gravidade e nos critérios de monitorização da resposta ao tratamento específico. Diferentes técnicas tem sido utilizadas, no entanto na prática clínica a imunodifusão dupla em gel de ágar é a mais utilizada (MENDES et al., 2017).
- 2) Detecção de antígeno tem sido realizado apenas em pesquisas. Sendo vantagem a não dependência da produção de anticorpo pelo paciente infectado imunossuprimido. A desvantagem aparece em alguns estudos que apontam reação cruzada com soro de pacientes com aspergilose, histoplasmose, criptococose e esporotricose (DE CAMARGO, 2008).

d) Diagnóstico molecular:

Testes de detecção de fragmentos de DNA presente em amostras biológicas não tem sido usados na rotina clínica, porém a reação em cadeia de polimerase (PCR) é um método promissor no diagnóstico da PCM (MATTOS et al., 2021).

2.1.5 Tratamento

O tratamento consiste na administração de antifúngicos específicos para *Paracoccidoides* em duas etapas (MENDES et al., 2017):

- a) Fase de indução, a fim de controlar os sintomas até os parâmetros laboratoriais de atividade da doença normalizem.

- b) Fase de manutenção, utilizada até a finalização da terapêutica que é baseada principalmente em critérios de cura imunológica, ou seja, a persistência da imunodifusão soro não reagente por pelo menos 12 meses de acompanhamento.

2.1.6 Acompanhamento

Os principais parâmetros a serem acompanhados durante o tratamento para determinação da suspensão do tratamento, considerando a gravidade do caso são (MENDES et al., 2017):

- Cura clínica: involução das lesões ativas e resolução dos sinais e sintomas entre uma a oito semanas de tratamento. Dentro deste critério a normalização da proteína C reativa também tem sido considerada.
- Cura micológica: negatificação do micológico direto no acompanhamento, especialmente no escarro de pacientes com comprometimento pulmonar.
- Cura radiológica: redução de lesões pulmonares observadas em radiografias de tórax, considerando que fibrose pode persistir como uma sequela da doença.
- Cura sorológica: quando a sorologia por imunodifusão dupla torna-se não reagente no acompanhamento do tratamento. O tratamento é suspenso após cura sorológica sustentada por doze meses.
- Cura aparente: ausência de manifestações de atividade da PCM após dois anos da suspensão do tratamento.

Existem vários antifúngicos usados para o tratamento da PCM. As drogas mais utilizadas são: Cotrimoxazol, Itraconazol e a anfotericina B (SHIKANAI-YASUDA et al., 2018).

Nos casos graves da doença sendo na forma aguda/subaguda ou crônica a anfotericina B endovenosa é tida como melhor opção. Sendo administrada no total uma dose equivalente a 30mg/kg. O itraconazol é tido como melhor opção para tratamento da doença em casos moderados a leves. Com uma dose recomendada de 200mg por dia até cura sorológica sustentada por 12 meses. O cotrimoxazol é uma segunda opção, sendo recomendada dose diária de 480mg + 960mg a cada 8 horas, na fase de indução e reduzindo-se para a cada 12 horas na fase de manutenção, até cura sorológica por 12 meses (MENDES et al., 2017; SHIKANAI-YASUDA, 2015).

Um estudo realizado por Andrade et al., 2019, avaliou a adesão ao tratamento de 188 pacientes com PCM. Os resultados mostraram que apenas 44% dos pacientes aderiram ao tratamento adequadamente.

Os aspectos considerados influenciadores na perda de seguimento do tratamento é o seu tempo prolongado, visto que a maioria das terapias ambulatoriais necessitam de administração via oral da medicação por pelo menos doze meses, podendo se estender a vinte e quatro meses dependendo da gravidade do caso e da medicação utilizada (ANDRADE et al., 2019).

A PCM apresenta um importante potencial fibrogenético evoluindo frequentemente com fibrose nos tecidos acometidos, assim os pacientes mesmo tratados e em cura aparente podem apresentar prejuízo nas funções dos órgãos afetados (COSTA et al., 2013).

2.2 Saúde bucal

A saúde da cavidade oral é tão importante quanto o estado geral de saúde. Sabe-se que doenças sistêmicas tem agravamento e/ou repercussões bucais importantes, que acarretam gravidade para os pacientes. O estabelecimento da saúde bucal é multifatorial, como por exemplo a capacidade de falar, sorrir, cheirar, engolir, mastigar e saborear. As principais causas de doença bucal de origem odontogênica são: cárie, doenças periodontais e doenças sistêmicas com repercussões orais (HESCOT, 2017).

2.2.1 Higiene oral

Uma higiene oral adequada é o principal fator para uma boa saúde bucal. O método mais eficiente para o alcance da higiene adequada é a associação das escovas, fio ou fita dental e limpadores de língua. O controle mecânico da placa é o principal método para prevenção e/ou tratamento de doenças orais, como cárie e doenças periodontais. O que dita uma pessoa ter a rotina de higiene oral é a motivação. Espera-se que haja o desenvolvimento de rotina de higiene adequada desde a infância, quanto mais cedo desenvolver o habito de higiene oral, maior a chance de uma saúde oral. Visto que os adultos, após formação dos hábitos, possuem dificuldade para conseguir uma mudança, geralmente há a necessidade de

associação com motivações externas para tal feito, por exemplo, busca da estética do sorriso (LIMA, 2007).

Um fator importante associado aos resultados negativos de higiene oral em adultos é a desigualdade socioeconômica e conseqüentemente menor procura pelos atendimentos de saúde. No caso de população afetada pela desigualdade socioeconômica, a estimulação verbal sobre instrução de higiene oral é considerada um instrumento válido para a busca da melhora da saúde oral com conseqüente melhora da auto estima e relação interpessoal (AFONSO; CASTRO, 2014).

Um método utilizado para avaliação da condição de higiene oral é o índice de placa de O'Leary. Descrito inicialmente em 1972, é um procedimento de controle simples, que permite obter o valor da presença ou ausência de placa bacteriana nas superfícies lisas dos dentes (faces vestibular, lingual e proximais), exceto face oclusal. Para sua realização é necessário a utilização de um agente evidenciador, mais comumente utilizado a Fucsina a 2%, em pastilha ou líquido. Após o paciente dissolver toda a Fucsina, as placas bacterianas aderidas ao dente ficarão pigmentadas, e estas serão contabilizadas. O valor obtido por cada dente é dividido pelo número total de dentes presentes, obtendo assim a porcentagem de placa bacteriana presente na boca. Esse valor indica uma higiene bucal satisfatória com valores abaixo de 10% e insatisfatória com valores acima de 20% (GUTIÉRREZ-FLORES; ALBARRÁN-BARROETA, 2021).

Afonso; Castro, 2014, realizaram um estudo onde avaliou-se o conhecimento dos pais de alunos de uma escola específica, sobre higiene oral e concluiu-se o evidente níveis insatisfatórios de conhecimento sobre a importância da higiene oral, a presença de placa bacteriana nos dentes e sobre a necessidade de hábitos saudáveis de higiene e alimentação. Mostrou também que palestras educativas se mostraram importantes para motivar e ensinar os cuidados necessários com os dentes, mas são insuficientes para produzir uma mudança permanente nos hábitos de higiene e alimentação.

2.2.2 Periodontite

A saúde periodontal é definida como ausência de doença periodontal inflamatória, permitindo ao indivíduo a manutenção das funções e evitando conseqüências como alterações físicas e mentais devido a doenças atuais ou

passadas. Para o estabelecimento da saúde periodontal é necessária uma vigilância imunológica, fisiológica envolvendo marcadores biológicos e inflamatórios compatíveis com homeostase (CHAPPLE et al., 2018).

A periodontite é uma doença inflamatória crônica dos tecidos de suporte dentário, que atualmente, devido às inovações e tratamentos propostos, pode ser controlada com sucesso acarretando a permanência dos dentes envolvidos por toda a vida do paciente (BUI et al., 2019).

A causa da doença periodontal está relacionada ao desequilíbrio da microbiota oral saudável. O número elevado de patógenos específicos acarretam ao processo inflamatório agudo, em alguns casos de origem microbiana, evoluindo para um processo infeccioso com degradação dos tecidos de suporte dentário, como gengiva, ligamento periodontal e osso alveolar (ARMITAGE, 1999).

A presença ou não de biofilme dental pode ser determinante no que diz respeito à causa da periodontite. A presença de biofilme dental propicia infecções por bactérias, principalmente Gram negativas e anaeróbias, as quais também são encontradas no sulco sub gengival. As bactérias comumente presentes no biofilme dental e sulco sub gengival que são relacionadas ao desenvolvimento da periodontite são: *Porphyromonas*, *Prevotella* e *Treponema*. Podendo ainda haver presença de outras bactérias específicas (CHAPPLE et al., 2018).

Já os fatores predisponentes são principalmente: tabagismo, diabetes, fatores nutricionais e hormonais, agentes farmacológicos, alterações hematológicas, alterações genéticas, inflamações autoimunes, traumas locais e infecções específicas bacterianas, virais ou fúngicas.

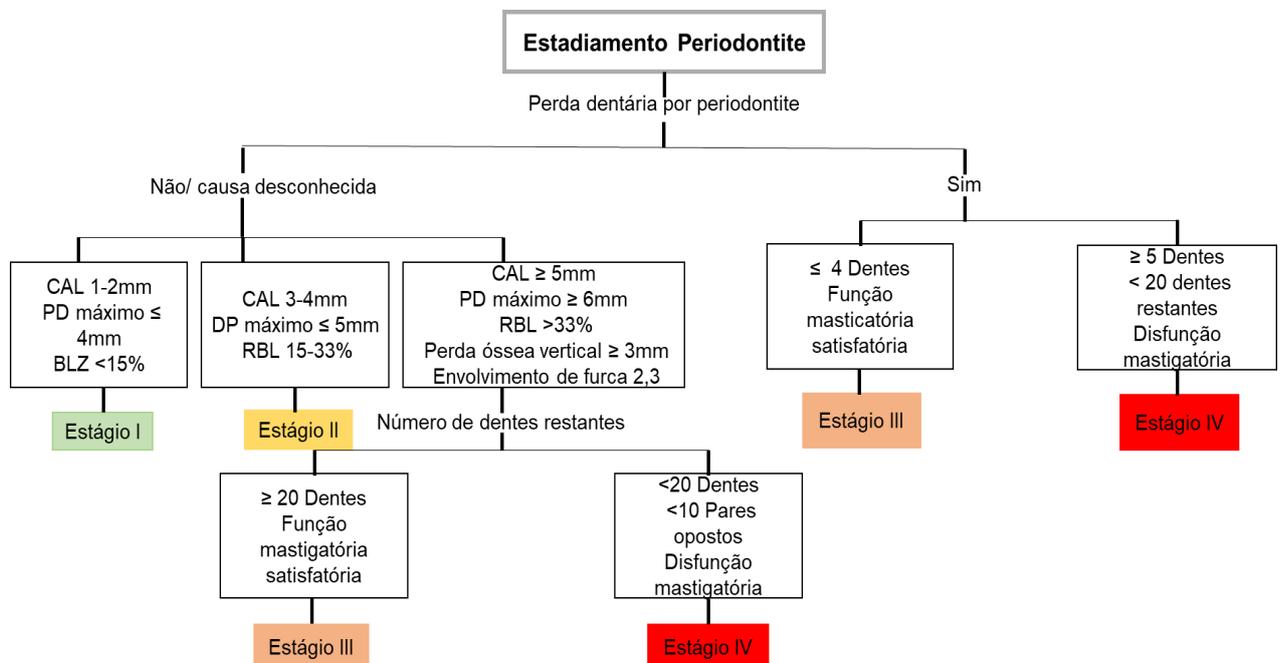
Dentre as doenças fúngicas que podem causar periodontite a paracoccidiodomicose está diretamente relacionada. Além das lesões orais causadas por PCM (SILVA et al., 2007), um estudo realizado por Saldanha (2021) avaliou a condição de saúde bucal de pacientes diagnosticados com PCM, e observou a periodontite relacionada à condição clínica dos pacientes.

O correto diagnóstico e classificação da doença periodontal é de extrema importância para o cirurgião-dentista planejar um tratamento adequado para o paciente.

Seguindo a nova classificação de 2018 pela OMS, o acometimento do periodonto por uma doença pode ser dividido em duas categorias, a gengivite e a periodontite, podendo esta última ser subdividida em estágio I, II, III e IV (RÖSING et al., 2020).

Sutthiboonyapan; Wang; Charatkulangkun, 2020, em seu trabalho mostra um diagrama estabelecendo os critérios após o exame clínico periodontal completo (periograma), com diagnóstico de doença periodontal instalada, para determinar a classificação simplificada do estágio da doença periodontal em cada paciente (figura 3).

Figura 3: Fluxograma da classificação do estadiamento da doença periodontal.



Estadiamento para periodontite. Um estágio deve ser atribuído por paciente, com base no dente com pior agravo clínico. **CAL**= perda clínica de inserção; **PD** = profundidade de sondagem; **RBL**= perda óssea radiográfica.

Fonte: traduzido de Sutthiboonyapan; Wang; Charatkulangkun, 2020.

2.2.2.1 Avaliação radiográfica

Tão importante quanto a avaliação clínica para diagnóstico de alterações bucais, a avaliação radiográfica se faz necessário em casos específicos, como lesões cariosas, doença periodontal ou lesões ósseas.

Podendo ser realizada através de radiografias panorâmicas e/ou radiografias periapicais, a perda de osso do suporte dental na doença periodontal é classificada em horizontal, angular e vertical (BRANDT et al., 1997).

Para a determinação da perda óssea são considerados fatores como extensão, podendo ser localizada (apenas uma região afetada) ou generalizada (todos os quadrantes da boca apresentam perda óssea). Severidade, onde a perda óssea é classificada em leve (quando a diminuição óssea não excede 25% do tamanho da raiz dentária), moderada (perda óssea entre 25 a 50% do tamanho da raiz dentária) e severa (perda óssea maior do que 50% do tamanho da raiz dentária) (MAIOR et al., 2016).

2.2.2.2 Tratamento da periodontite

O tratamento da doença periodontal varia de acordo com o quadro clínico local e sistêmico de cada paciente. Consiste principalmente na remoção mecânica da placa bacteriana presente na estrutura dentária e no sulco ou bolsa gengival e associação com terapia antimicrobiana específica (KWON; LAMSTER; LEVIN, 2021).

Visto que a maior incidência de doença periodontal a causa é bacteriana, sabe-se que as bactérias de prevalência nessas infecções são anaeróbias específicas. Diante desse quadro, o tratamento ideal com antibiótico específico para essa microbiota é obtido com análise de antibiograma, porém devido ao tempo de demora do exame, acessibilidade limitada em algumas regiões do país, o tratamento empírico específico é considerado uma boa escolha para o tratamento da doença (MARCELINO et al., 2010).

A associação terapêutica sistêmica de amoxicilina e metronidazol tem sido a escolha mais frequente e que apresenta resultados satisfatórios quando associadas ao tratamento não cirúrgico de raspagem e alisamento radicular da boca toda em 24 horas. A posologia consiste em administrar amoxicilina (500mg) e metronidazol (250mg), por via oral, a cada 8 horas de 7 a 14 dias, dependendo da resposta clínica ao tratamento (KHATTRI et al., 2020).

2.3 Auto percepção da saúde bucal

A saúde bucal é de grande importância para o bem-estar e a saúde geral da população. As doenças bucais principalmente referentes a perda dentárias e má

oclusões afetam tanto a funcionalidade do sistema estomatognático quanto a aparência estética, podendo afetar o psicológico de cada indivíduo afetando sua autoestima e socialização como relacionamento interpessoal (MARY, 2017).

Existe na literatura alguns instrumentos a fim de mensurar o impacto da saúde oral na qualidade de vida do indivíduo. Dentre eles o *Oral Health Impact Profile* (OHIP-49) que consiste em 49 questões relacionadas à saúde oral e seus impactos na vida de cada indivíduo.

Visando a simplificação e eficiência da análise desse dado, Slade, 1997, criou uma simplificação do OHIP-49, o OHIP-14. Ele provou em um estudo epidemiológico com 1.217 pessoas, que o teste simplificado em 14 questões, abrangendo as sete dimensões conceituais do OHIP-49 é um viável instrumento para mensurar a qualidade de vida relacionada à saúde oral.

O teste consiste em 14 questões, com 5 alternativas iguais cada, onde o indivíduo escolhe uma opção por questão, respondendo como se sente em relação à saúde bucal de acordo com ações e conceitos do dia-a-dia, para medir o impacto social dos distúrbios bucais. O resultado é obtido através da disfunção auto-relatada, desconforto e deficiência decorrente das condições bucais. Onde as respostas são avaliadas em uma escala de 5 pontos: não= 0; raramente= 1; as vezes= 2; repetidamente= 3; sempre= 4. As pontuações podem variar de 0 a 56, e o resultado é obtido a partir da somatória dos valores ordinais para os 14 itens. As pontuações consideradas com uma boa qualidade de vida relacionada à saúde oral variam de 0 a 8. Pontuações mais altas indicam um pior resultado, ou seja, uma auto percepção negativa da saúde oral em relação com a qualidade de vida (SILVEIRA et al., 2014).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Tendo em vista o impacto das alterações periodontais nos pacientes diagnosticados com PCM e a alta prevalência da doença no estado de Mato Grosso do Sul, o objetivo da pesquisa foi avaliar a condição periodontal do paciente portador de paracoccidiodomicose, distribuição dos principais microrganismos sabidamente associados a periodontite e avaliar também a qualidade de vida relacionada à saúde bucal.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar os aspectos odontológicos, bem como, a presença e estadiamento da periodontite em paciente portador de paracoccidiodomicose;
- Descrever a microbiota subgingival de pacientes com paracoccidiodomicose e analisar os microrganismos encontrados com a atividade e tratamento da PCM, assim como com o estadiamento da periodontite;
- Avaliar a qualidade de vida do paciente com paracoccidiodomicose, relacionada a saúde bucal através do teste OHIP-14 (OMS) no momento da avaliação da saúde bucal.

4 PARTICIPANTES E MÉTODOS

4.1 Tipo, local e período do estudo

Trata-se de um estudo do tipo transversal, realizado no ambulatório de micoses sistêmicas do Hospital Dia Professora Esterina Corsini, Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian, do Humap/Ebserh, e na Faculdade de Odontologia (Faodo) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), no período de abril de 2021 a dezembro de 2021.

4.2 Participantes, critérios de inclusão e exclusão

Foram convidados a participar da pesquisa pacientes em acompanhamento no ambulatório de micoses sistêmicas, no período do estudo, que preenchiam os seguintes critérios de elegibilidade.

Os critérios de inclusão foram ter idade igual ou superior a 18 anos, diagnóstico de paracoccidiodomicose obtido pela detecção de anticorpos específicos ou das formas típicas de *Paracoccidoides spp* em pesquisa direta ou exame histopatológico.

Foram excluídos pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana, com diabetes mellitus ou com outra doença imunossupressora, as gestantes e as lactantes. Foram excluídos também quaisquer pacientes cujo exame clínico e, ou coleta de espécimes clínicos não foi possível de ser realizado.

Foram selecionados 15 pacientes para o estudo.

4.3 Coleta de dados

4.3.1 Dados sociodemográficos e hábitos de vida

As variáveis, idade, sexo, procedência, escolaridade e tabagismo foram obtidos por meio de formulário aplicado na primeira consulta odontológica. A carga tabágica foi calculada pelo número de cigarros consumidos por dia, dividido por 20 e multiplicado pelo número de anos de tabagismo.

4.3.2 Dados Clínicos

Os dados clínicos relacionados a doença PCM foram obtidos do banco de dados de outro projeto “Estudo sobre a evolução clínica da paracoccidiodomicose” que foram coletados em caráter prospectivo.

Os exames bucais foram realizados por um examinador treinado, em consultório odontológico da Clínica Odontológica da Faculdade de Odontologia da UFMS, utilizando equipo odontológico completo (espelho, sonda periodontal milimetrada da OMS) em duas consultas.

Em primeira consulta foram avaliados os critérios de avaliação oral, foram analisados com utilização de espelho e sonda clínica, onde consistiram em presença de lesões em cavidade oral características de PCM, ausências dentárias, posicionamento da margem gengival, sangramento gengival à sondagem periodontal, uso de aparelho ortodôntico, uso de prótese mal adaptada (presença de báscula, prótese fraturada, oclusão alterada), presença de lesões cariosas, mancha branca em dente, restaurações dentárias, presença de biofilme.

Para avaliação da higiene oral do participante foi realizada evidenciação de placa com utilização de pastilha evidenciadora de placa (a base de Fucsina básica 2%) (figura 4), e após a mastigação da pastilha por 1 minuto, foi realizado a quantificação de faces coradas por dentes, considerando o número de dentes presentes, obtendo-se o índice de placa em porcentagem. Após a análise, foi realizada profilaxia com utilização de escova de Robinson e pedra pomes, visando a remoção total do evidenciador.

Figura 4: Evidenciação de placa bacteriana com utilização de pastilha evidenciadora (Fuccina 2%).



Fonte: própria

A análise radiográfica foi feita por meio da realização de radiografia panorâmica (Eagle Dabi; Alliage S.A Indústrias Médico Odontológica, Ribeirão Preto, Brasil), com protocolo de aquisição de 85 kVp, 8 mA, e tempo de exposição de 14 segundos disponível na Faodo-UFMS e radiografias periapicais de boca toda (Dabi D700, Alliage S.A Indústrias Médico Odontológica, Ribeirão Preto, Brasil) com protocolo de aquisição de 65kVp e 10mA, com colimação circular, constituído por radiografias periapicais e interproximais de toda a boca, por meio da técnica de do paralelismo com auxílio de posicionadores radiográficos (BRANDT et al., 1997). Todas as radiografias foram realizadas seguindo as normas de segurança do paciente, com utilização de coleite de chumbo e tempo de exposição adequado. Os resultados foram analisados por presença ou ausência de anormalidades ósseas em radiografia panorâmica (esclerose ou lesão radiolúcida) de mandíbula e maxila, exceto perda óssea alveolar horizontal, a qual foi avaliada através de radiografias interproximais e periapicais, quantificada pela classificação de Maior et al., 2016, onde foi considerado perda óssea leve (menor de 25% do tamanho radicular), moderada (entre 25 e 50% do tamanho radicular) e grave (maior que 50% do tamanho radicular).

Após 15 dias de intervalo, na segunda consulta, foi realizado exame para avaliação periodontal e coleta de espécime biológico para análise laboratorial. A condição da saúde periodontal foi avaliada através do estadiamento da doença periodontal de Sutthiboonyapan; Wang; Charatkulangkun, 2020. Onde classificou-se em estágio 1, estágio 2, estágio 3 e estágio 4, de acordo com o nível de inserção clínica, profundidade de sondagem, perda óssea alveolar radiográfica, número de dentes perdidos e função mastigatória. Realizou-se exame periodontal completo (periograma) com utilização de espelho clínico e sonda milimetrada 621 da OMS, estipulando profundidade de sondagem, presença de sangramento gengival, mobilidade dentária, ressecção ou hiperplasia gengival.

4.3.3 Auto percepção da saúde bucal

Para avaliação da auto percepção da saúde bucal foi utilizado o formulário *Oral Health Impact Profile* (OHIP-14), traduzido para a língua portuguesa. Contendo 14 questões com 5 alternativas de resposta para cada questão. Onde cada participante respondeu voluntariamente sem influência de terceiros. Os resultados foram quantificados de 0 a 4 por questão, sendo 0 ou resultados próximos, considerados

como auto percepção satisfatória da cavidade bucal e 56 ou resultados próximos, como total insatisfação com a cavidade bucal (AFONSO et al., 2017).

4.3.4 Coleta de amostras para avaliação de microrganismos

Os pacientes foram submetidos a coleta de espécimes clínicos para avaliação dos principais microrganismos associados às infecções nas mucosas bucais, particularmente as periodontopatias. Para tanto, foram obtidas 6 amostras de biofilme subgengival de cada paciente, coletadas de sítios periodontais com evidências clínicas de inflamação e com a maior profundidade clínica de sondagem dentre aqueles que mostravam inflamação.

A coleta propriamente dita foi realizada por meio de curetas periodontais Gracey esterilizadas, introduzidas paralelamente ao longo eixo do dente, em direção à base da bolsa periodontal e sulco gengival (figura 5). A seguir, os espécimes coletados eram imediatamente transferidos para criotubos contendo água ultrapura Milli-Q, para futura detecção molecular de patógenos, e para tubos contendo meio de transporte VMGA III (MÖLLER, 1966), enviados ao laboratório para o adequado processamento visando o isolamento de microrganismos específicos da microbiota oral.

Figura 5: Foto de aspecto intra oral. Realização de coleta de amostra de biofilme de sulco gengival do dente 14, com utilização de cureta periodontal.



Fonte: própria

4.4 Análise Microbiológica-Cultura de Microrganismos

Os espécimes mantidos em tubos contendo meio de transporte VMGA III foram submetidos a diluições seriadas em solução VMG I, para minimizar o contato dos microrganismos com o oxigênio atmosférico. Dessas diluições, alíquotas de 0,1 ml foram inoculadas em ágar fastidious anaerobe (FAA) enriquecido com extrato de levedura (0,5%), hemina (5 µg/mL), menadiona (1 µg/mL) e 5% de sangue desfibrinado de cavalo, incubadas em anaerobiose (90 % N₂ + 10% CO₂) (figura 6), a 37° C, por 14 e 21 dias, para isolamento dos anaeróbios obrigatórios; ágar de tripticaseína de soja (TAA) acrescido de sangue de cavalo, incubado em aerobiose, a 37° C, por 2 e 3 dias, para isolamento de aeróbios e facultativos; ágar eosina azul de metileno e ágar MacConkey incubado a 37°C, por 48 horas, em aerobiose, para o isolamento de membros da família *Enterobacteriaceae* (GAETTI-JARDIM JÚNIOR et al., 2008, 2010; SLOTS; RAMS, 1991).

Figura 6: Imagem evidenciando amostras inoculadas em ágar sangue e incubadas em condições de anaerobiose (90% N₂ + 10 CO₂) em dessecadores de vidro do tipo Pyrex.



Fonte: própria

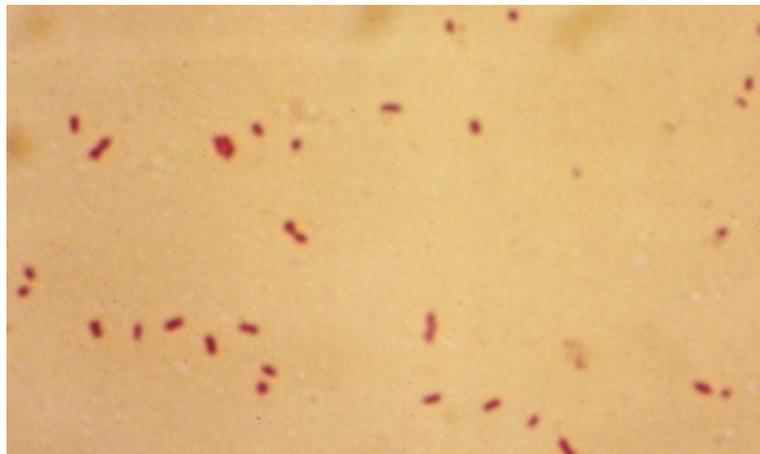
Após o isolamento microbiano e obtenção de cultura pura, foram realizadas as análises morfo celular e morfo colonial dos isolados, além do teste respiratório, para caracterizar o relacionamento dos diferentes microrganismos com o oxigênio atmosférico, e prova da catalase. A seguir procedeu-se a identificação dos microrganismos, por meio de provas bioquímicas de fermentação dos carboidratos, produção de indol, sulfeto de hidrogênio, resistência a bile, motilidade, produção de gás a partir de glicose, hidrólise da esculina, reação de hemaglutinação de hemácias humanas, teste de oxidase (GAETTI-JARDIM JÚNIOR et al., 2008).

Figura 7: Crescimento microbiano em ágar sangue suplementado com hemina e vitamina K. Colônias pigmentadas de preto são dos gêneros *Prevotella* e/ou *Porphyromonas*.



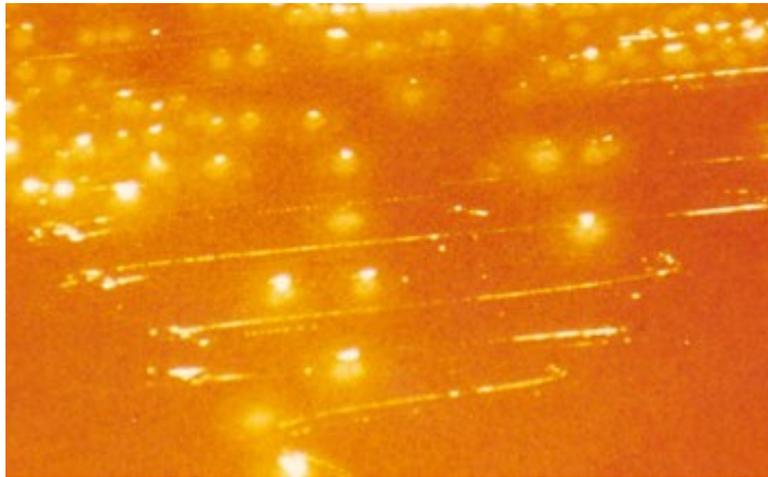
Fonte: própria

Figura 8: Cocobacilos Gram-negativos característicos do gênero *Porphyromonas*. Coloração de Gram. Aumento de 1000 x.



Fonte: própria

Figura 9: Colônias alfa-hemolíticas de *Fusobacterium nucleatum* em ágar sangue suplementado, após incubação em anaerobiose por 72h.



Fonte: própria

Figura 10: Características microscópicas das células de fusobactérias bucais (nesse caso *F. nucleatum*). Coloração de Gram. Aumento de 1000 x.



Fonte: própria

Alguns isolados que não puderam ser identificados através de testes fenotípicos foram submetidos à extração de DNA microbiano e empregou-se a ampliação do DNA alvo utilizando-se de iniciadores específicos para a espécie cuja identificação presuntiva já era conhecida.

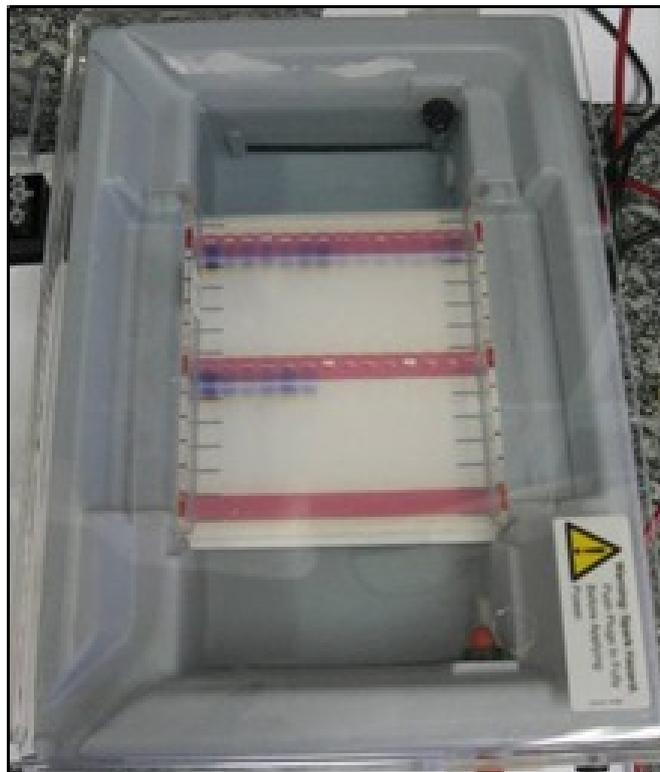
O cultivo permitiu a determinação do total de isolados em cada amostra, a quantificação e identificação da família Enterobacteriaceae, dos gêneros *Capnocytophaga*, *Actinomyces*, *Porphyromonas*, *Prevotella* e *Fusobacterium*, além das

espécies *F. necrophorum*, *F. nucleatum*, *F. periodonticum* (figuras 7, 8, 9 e 10). Isolados da família Enterobacteriaceae submetidos à identificação mostraram-se da espécie *Escherichia coli*.

4.5 Análise Microbiológica-Deteccção molecular de Microrganismos

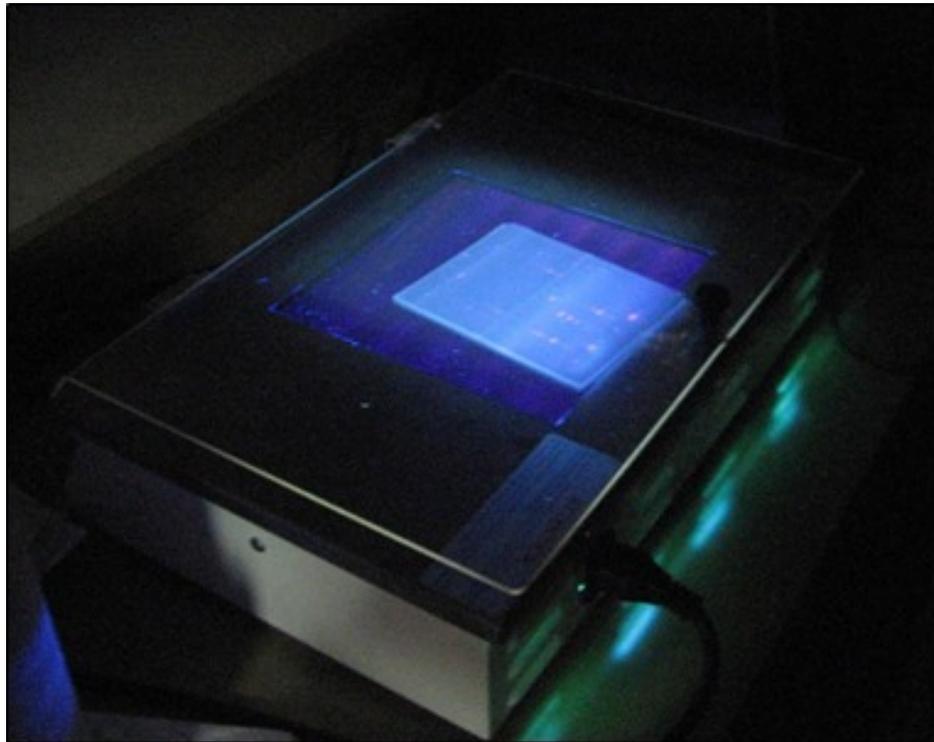
A presença de leveduras do gênero *Candida*, a espécie *C. albicans*, o gênero *Enterococcus* e família *Enterobacteriaceae*, além das espécies *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Campylobacter rectus* foi avaliada pela amplificação do DNA por PCR convencional das amostras coletadas e, ou dos isolados de cultura, empregando-se iniciadores e condições específicas para cada agente infeccioso (BAUMGARTNER et al., 2004; GAETTI-JARDIM JÚNIOR et al., 2010; HOSHINO et al., 2004; LIGUORI et al., 2010; SPILKER et al., 2004; ZUANAZZI et al., 2010), em termociclador Axygen. Os iniciadores específicos e as condições de amplificação são apresentados no Quadro 1.

Figura 11: Imagem evidenciando eletroforese em gel de agarose.



Fonte: própria

Figura 12: Transiluminador de luz UV para avaliação da presença e tamanho dos amplicons.



Fonte: própria

A amplificação do DNA foi realizada em volumes de 25 μ l, contendo 2,5 μ l de 10 vezes tampão PCR, 1,25 μ l de $MgCl_2$ (50 mM), 2,0 μ l de dNTP (10 mM), 0,25 μ l de *Taq* DNA polimerase (0,5 U), 1,0 μ l de cada iniciador (0,4 μ M), 7 μ l de água ultrapura Milli-Q esterilizada e 10 μ l de DNA (ng). A amplificação foi realizada em aparelho de PCR programado para: 1 ciclo de 94°C (5 min.); de 30 a 36 ciclos de 94°C (1 min.), temperatura de anelamento de cada iniciador por um tempo que variará de 30s. a 2 min., 72°C (1 min.) e 1 ciclo de 72°C (5 min.), para a extensão final da cadeia de DNA em amplificação.

Em todas as reações foram utilizadas, como controle positivo, DNA de cepas de referência dos microrganismos estudados. Os produtos da amplificação pelo PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1% (figura 11), corados com brometo de etídio (0,5 μ g/ml) e fotografados sobre transiluminador de luz UV (figura 12), com câmara Kodak (Eletrophoresis Documentation and Analyses System 120). Como padrão de peso molecular foi utilizado o marcador 1Kb DNA ladder (Gibco, SP).

Quadro 1. Iniciadores específicos utilizados nos ensaios de PCR convencional para detecção de microrganismos alvo, bactérias e fungos, nas amostras clínicas.

Iniciadores específicos	Oligonucleotídeos	Temperatura de anelamento
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	5'-CTA GGT ATT GCG AAA CAA TTT G-3' / 5'-CCT GAA ATT AAG CTG GTA ATC-3'	60°C
<i>C. rectus</i>	5'- TTT CGG AGC GTA AAC TCC TTT TC-3' / 5'- TTT CTG CAA GCA GAC ACT CTT-3'	55°C
<i>C. albicans</i>	5'-TTGAACATCTCCAGTTTCAAAGGT-3' / 5'-GTTGGCGTTGGCAATAGCTCTG-3'	58°C
<i>Candida</i> sp.	5'-GGTGGWMGDAAYGGDTWYGGYGC-3' / 5'-CCRTCNTGATCYTGATCBGYCAT-3'	58°C
<i>Enterobacteriaceae</i>	5'-AAC CAG TTC CGC GTT GGC CTG G-3' / 5'-CCT GAA CAA CAC GCT CGG A-3'	50°C
<i>Enterococcus</i> spp.	5'- TAC TGA CAA ACC ATT CAT GAT G-3' / 5'- AAC TTC GTC ACC AAC GCG AAC -3'	55°C
<i>F. nucleatum</i>	5'-ATT GTG GCT AAA ATT ATA GTT-3' / 5'-ACC CTC ACT TTG AGG ATT ATA G-3'	40°C
<i>P. gingivalis</i>	5'-TGT AGA TGA CTG ATG GTG AAA CC-3' / 5'-ACG TCA TCC CCA CCT TCC TC-3'	60°C
<i>P. intermedia</i>	5'-TTT GTT GGG AGT AAA GCG GG-3' / 5'-TTC AAC ATC TCT GTA TCC TGC GT-3'	55°C
Universal	5'- AGA GTT TGA TCC TGG CTG AG-3' / 5'- ACG GCT ACC TTG TTA CGA CTT-3'	55°C

4.6 Análise estatística

As associações de variáveis categóricas e numéricas entre dois grupos independentes foram analisadas pela Prova Exata de Fisher e pelo Teste U de Mann-Whitney, respectivamente. Esses testes estatísticos foram usados porque a maior parte das variáveis categóricas apresentavam valores esperados menor do que cinco e a maior parte das variáveis numéricas não seguiam distribuição normal.

A correlação de Pearson foi utilizada para as análises entre UFC de microrganismos índice periodontal.

As análises foram realizadas nos programas Estatística (Stat Soft Ltda), versão 7, e SISVAR 5.0 e EpiInfo versão 7. Os níveis de significância adotados nos testes foram inferiores a 5%.

4.7 Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (Parecer nº4.605.821) e todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

Aos pacientes do presente estudo foi oferecido tratamento odontológico a fim de restabelecer uma saúde bucal adequada, quando necessário.

5 RESULTADOS

As características clínicas e epidemiológicas dos 15 pacientes incluídos são mostradas na tabela 1. Eram em sua maioria do sexo masculino (86,7%), com mediana de idade de 57 [Intervalo interquartil 1° 54,6 - 3° 61,6] anos e tabagistas (93,3%), com carga tabágica mediana de 42,5 anos-maço. Como demonstrado abaixo, todos os pacientes tinham a forma crônica da PCM e mais da metade apresentava gravidade moderada da doença (8- 53,3%). Dez pacientes (66,7%) apresentavam atividade da PCM e 5 (33,3%) estavam em cura aparente.

Gráfico 1. Idade e tempo de diagnóstico (em anos) de 15 pacientes com a forma crônica paracoccidiodomicose (PCM) atendidos no Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Junho a dezembro de 2021.

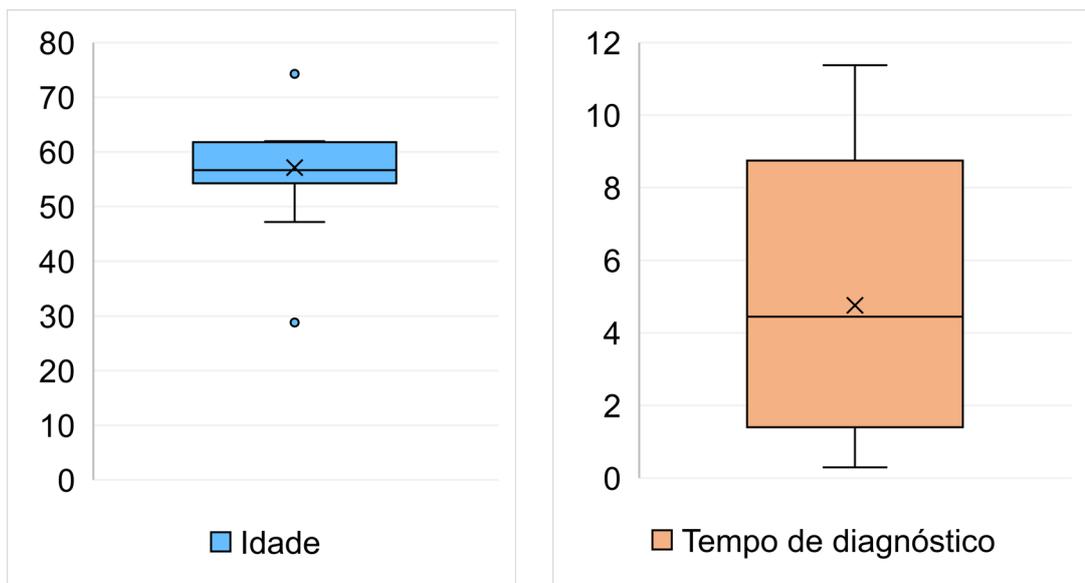


Tabela 1. Características clínicas, epidemiológicas de 15 pacientes com a forma crônica paracoccidiodomicose (PCM) atendidos no Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Junho a dezembro de 2021.

Variável	N (%) ou Mediana [IQR]
Sexo masculino	13 (86,7)
Trabalhador rural	7 (46,7)
Escolaridade	
Analfabeto	2 (13,3)
Ensino fundamental 1 a 4	6 (40,0)
Ensino fundamental 5 a 9	4 (26,7)
Ensino médio completo	3 (20,0)
Tabagismo	14 (93,3)
Carga tabágica (anos-maço) n=14	42,5 [33,5; 69,3]
Procedência	
Campo Grande	6 (40,0)
Outros municípios	9 (60,0)
Gravidade da PCM	
Leve	3 (20,0)
Moderada	8 (53,3)
Grave	4 (26,7)
Acometimento de boca pela PCM	11 (73,3)
Estágio Clínico da PCM	
Atividade	10 (66,7)
Cura aparente	5 (33,3)
Tratamento	
Cotrimoxazol	3 (20,0)
Itraconazol	6 (40,0)
Ambos	6 (40,0)

IQR- intervalo interquartil [1° e 3° quartis]

No tocante aos aspectos bucais, a mediana do índice de placa foi elevada (73,5) bem como da ausência dentária (13). Todos apresentaram periodontite com

índice periodontal mediano de 2,2 e 40% deles com periodontite grave (estágio 4). O escore mediano do OHIP-14 da auto percepção de saúde bucal foi de 13, caracterizando uma insatisfação com a qualidade de vida relacionada à saúde bucal. (Tabela 2)

Tabela 2. Aspectos odontológicos de 15 pacientes com a forma crônica da paracoccidiodomicose (PCM) atendidos no Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Junho a dezembro de 2021.

Variável	N (%) ou Mediana [1*IQ;3*IQ]
Dentes ausentes	13 [10;18]
Índice periodontal	2,2 [0,47; 3,45]
Índice de placa	73,5 [71,92; 90,80]
Uso de prótese mal adaptada	7 (46,7)
Alteração óssea radiográfica (esclerose)	2 (13,3)
Perda óssea horizontal	
Leve	10 (66,7)
Moderada	5 (33,3)
Estadiamento da doença periodontal*	
Estágio 1	2 (13,3)
Estágio 2	2 (13,3)
Estágio 3	5 (33,3)
Estágio 4	6 (40,0)
Auto percepção da saúde oral (OHIP14)	13 [5; 22]

IQR- intervalo interquartil [1° e 3° quartis] OHIP14 (Oral Health Impact Profile).

Figura 13: Aspecto inicial da cavidade oral do participante número 6 da pesquisa. Foto realizada na avaliação odontológica inicial. Observa-se ausência dos dentes 11, 14, 24, 34, 32, 31, 41e 42, alteração de oclusão, presença de biofilme e cálculo supragengival, dentes com lesões de cárie cervicais e resseção gengival, lesões de erosão dental em dentes inferiores.



Fonte: própria

Figura 14: Radiografia panorâmica realizada no participante número 11 da pesquisa. Observa-se ausência dos dentes 18, 17, 16, 27, 28, 38, 35, 34, 41, 42, 44, 45, 46, 47 e 48. Raízes residuais dos dentes 26, 37 e 33. Dente 36 com perda óssea horizontal grave apresentando lesão de furca. Perda óssea horizontal generalizada. Coroas dentárias com fraturas e, ou desgastes acentuados.



Fonte: própria

A Tabela 3 discrimina os microrganismos isolados em cultura e os detectados por reação em cadeia de polimerase (PCR), de 90 amostras coletadas da boca de 15 pacientes com paracoccidiodomicose (PCM). Evidencia-se o predomínio dos gêneros *Actinomyces*, *Capnocytophaga*, *Prevotella* e *Fusobacterium*. Em relação aos fungos observou-se a ocorrência do gênero *Candida* em 50% das 90 amostras.

Tabela 3. Cultura ou reação em cadeia de polimerase (PCR) positivos por microrganismos de amostras coletadas do sulco gengival de 15 pacientes com paracoccidiodomicose (PCM). Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Junho a dezembro de 2021.

Microrganismo	Pacientes com cultura positiva N (%)	Pacientes com PCR positivo N (%)	UFC Média (DP)
Bactérias			
<i>Actinomyces</i> spp	12 (80,0)	NR	16601,7 (18066,8)
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	- (-)	ND	
<i>Campylobacter rectus</i>	NR	1	-
<i>Capnocytophaga</i> spp	14 (93,3)	NR	7945,7 (21224,1)
Enterobacteriaceae	6 (40,0)	7 (46,6)	32,6 (48,7)
<i>Enterococcus</i> spp	11 (73,3)	NR	
<i>Fusobacterium</i>	13 (86,7)		
<i>F. necrophorum</i>	13 (86,7)	NR	372,8 (432,2)
<i>F. nucleatum</i>	4 (21,7)	ND	162,4 (520,6)
<i>F. periodonticus</i>	4 (21,7)	NR	5,3 (12,7)
<i>Fusobacterium</i> spp	11 (73,3)	NR	225,9 (300,1)
<i>Porphyromonas</i>	10 (66,7)		
<i>Porphyromona gingivalis</i>	- (-)	ND	
<i>Porphyromonas</i> spp	10 (66,7)	NR	595,3 (1310,5)
<i>Prevotella</i>	13 (86,7)		
<i>Prevotella intermedia</i>	- (-)	ND	
<i>Prevotella</i> spp	13 (86,7)	ND	961,3 (1675,9)
Fungos			
<i>Candida</i> sp.	NR	12 (80,0)	
<i>C. albicans</i>	NR	9 (60,0)	

DP: desvio padrão. NR: não realizado. ND: não detectado. UFC: unidade formadora de colônias.

Na análise de correlação de Pearson observou-se correlação positiva entre o índice periodontal e UFC de *F. nucleatum* (R= 0,67; p<0,05) e *F. necrophorum* (R=

0,66; $p < 0,05$). Uma correlação negativa foi observada entre o índice periodontal e a presença de *Candida* não albicans ($R = -0,65$; $p < 0,05$).

Não houve associação entre presença de fungos do gênero *Candida* com o uso de próteses mal adaptadas ($p = 1,000$).

Não foram observadas associações entre os microrganismos identificados nas amostras de boca dos pacientes e medicamentos antifúngicos utilizados, Itraconazol, Cotrimoxazol (CMX) e ambos não alteraram os aspectos clínicos ou microbiológicos, sejam da PCM ou mesmo ligados ao periodonto, sendo a presença dos microrganismos compatíveis com doença periodontal de pacientes que não apresentam diagnóstico de PCM (Prova exata de Fisher $p > 0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4. Distribuição de 15 pacientes com a forma crônica da paracoccidiodomicose (PCM) segundo o gênero do microrganismo isolado/detectado em boca e o medicamento usado na PCM. Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Junho a dezembro de 2021.

Microrganismo isolado* ou detectado#	Itraconazol	CMX	Itraconazol e CMX	P&
	N=6 n (%)	N=3 n (%)	N=6 n (%)	
Bactérias				
<i>Fusobacterium</i>	6 (100,0)	3 (100,0)	4 (66,7)	0,314
<i>Porphyromonas</i>	5 (83,3)	1 (33,3)	4 (66,7)	0,336
<i>Prevotella</i>	5 (83,3)	3 (100,0)	4 (66,7)	0,336
<i>Capnocytophaga</i> spp	5 (83,3)	3 (100,0)	6 (100,0)	1,000
<i>Actinomyces</i> spp	5 (83,3)	2 (66,7)	6 (100,0)	0,657
Enterobacteriaceae	3 (50,0)	1 (33,3)	2 (33,3)	1,000
<i>Enterococcus</i> spp	5 (83,3)	1 (33,3)	5 (83,3)	0,264
<i>Campylobacter rectus</i>	- (-)	- (-)	1 (16,7)	1,000
Fungos				
<i>Candida</i> sp	6 (100)	- (-)	6 (100)	0,002

*Isolado em cultura; # Detectado por reação em cadeia da polimerase; & Prova exata de Fisher

A análise da associação entre as variáveis clínicas e microbiológicas e o estadiamento da doença periodontal dos 15 participantes avaliados na pesquisa estão expostos na tabela 5. Pacientes com estadiamento 3 ou 4 eram mais velhos do que os com estadiamento 1 e 2 (mediana de 61,6 vs 51,8 anos, $p= 0,0037$) e tinham menor número de sítios acometidos por bactérias da família Enterobacteriaceae (mediana de 2 vs 0, $p= 0,044$).

Tabela 5. Características clínicas de 15 pacientes com paracoccidiodomicose crônica de acordo com o estadiamento da doença periodontal. Hospital Universitário Maria Aparecida Predrossian da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Junho a dezembro de 2021.

Variável	Estadiamento	Estadiamento	P*
	1 ou 2	3 ou 4	
	N=4	N=11	
	N(%) ou Mediana [IQR]	N(%) ou Mediana [IQR]	
Sexo masculino	3 (75,0)	10 (90,9)	0,476
Idade (em anos)	51,8 [38,7; 55,7]	61,1 [55,9; 62,0]	0,037
Carga tabágica (anos /maço)	28,5 [19,0; 58,0]	33,0 [43,0; 74,0]	0,433
Lesão por PCM na boca	3 (75,0)	8 (72,7)	1,000
Gravidade			0,590
Leve	1 (25,0)	2 (18,2)	
Moderada	3 (75,0)	5 (45,5)	
Grave	- (-)	4 (36,4)	
PCM em atividade	2 (50)	8 (72,7)	0,560
Antifúngico usado			0,048
CMX	2 (50,0)	1 (9,1)	
Itraconazol	- (-)	6 (54,6)	
Ambos	2 (50,0)	4 (36,4)	
Perda óssea alveolar			0,231
Leve	4 (100,0)	6 (54,6)	
Moderada	- (-)	5 (45,5)	

IQR- intervalo interquartil [1° e 3° quartis]. CMX: cotrimoxazol. *Análise das variáveis contínuas pelo Teste U de Mann-Whitney e das categóricas pela Prova Exata de Fisher.

Associação da distribuição de microrganismos e estadiamento da periodontite não foi observada (tabela 6).

Tabela 6. Microrganismos identificados em cavidade oral de 15 pacientes com paracoccidiodomicose crônica de acordo com o estadiamento da periodontite. Hospital Universitário Maria Aparecida Predrossian da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Junho a dezembro de 2021.

Microrganismo	Estadiamento 1 ou 2	Estadiamento 3 ou 4	P*
	N=4 N(%)	N=11 N(%)	
<i>Actinomyces</i> spp	4(100,0)	8 (72,7)	0,516
<i>Campylobacter rectus</i>	- (-)	1 (9,1)	1,000
Enterobacteriaceae	3 (75,0)	3 (27,3)	0,235
Enterococcus	3 (75,0)	8 (72,7)	1,000
<i>Capnocytophaga</i> spp	4 (100,0)	10 (90,9)	1,000
Fusobacterium	4 (100,0)	9 (81,8)	1,000
Porphyromonas	2 (50,0)	8 (72,7)	0,560
Prevotella	4 (100,0)	9 (81,8)	1,000
Candida	3 (75,0)	8 (72,7)	1,000

*Prova exata de Fisher.

Uma correlação direta entre o resultado do teste OHIP-14 e o índice periodontal pode ser observada ($R= 0,64$; $p<0,05$).

Nenhuma associação entre detecção de microrganismos e atividade da PCM foi observada (tabela 7).

Tabela 7. Distribuição de 15 pacientes com paracoccidoidomicose (PCM) segundo microrganismo identificado em cavidade oral e atividade da PCM. Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Junho a dezembro de 2021.

Microrganismo	PCM em atividade	PCM em cura aparente	P*
<i>Actinomyces</i> spp	10 (100,0)	3(60,0)	0,095
<i>Campylobacter rectus</i>	1 (10,0)	- (-)	1,000
Enterobacteriaceae	4 (40,0)	2 (40,0)	1,000
<i>Enterococcus</i>	8 (80,0)	3 (60,0)	0,560
<i>Capnocytophaga</i> spp	9 (90,0)	5 (100,0)	1,000
<i>Fusobacterium</i>	8 (80,0)	5 (100,0)	0,524
<i>Porphyromonas</i>	8 (80,0)	2 (40,0)	0,251
<i>Prevotella</i>	8 (80,0)	5 (100,0)	0,524
<i>Candida</i> sp	9 (90,0)	3 (60,0)	0,242

* Prova exata de Fisher

6 DISCUSSÃO

A precariedade da saúde bucal em pacientes com PCM tem sido observada na prática clínica, porém pouco estudada (SALDANHA et al, 2021). O presente estudo, com 15 pacientes com PCM, revela que a prevalência de periodontite em estágios avançados (3 e 4) é elevada, com 33,3 e 40,0% respectivamente, e que bactérias do gênero *Capnocytophaga*, *Fusobacterium* e *Prevotella* foram os microrganismos predominantemente isolados em suas cavidades bucais.

As características clínicas e demográficas dos participantes da pesquisa correspondem às observadas em grandes casuísticas no Brasil de PCM, ou seja, houve predomínio de homens a partir da terceira década de vida e trabalhadores rurais, baixa escolaridade, procedentes de municípios do interior do estado, tabagistas com a forma crônica e moderada da doença e com manifestações em cavidade bucal pela doença. (BELLISSIMO-RODRIGUES et al., 2013; PEÇANHA et al., 2017; PANIAGO et al., 2003).

A quase totalidade dos pacientes era tabagista ou apresentava histórico de tabagismo, com carga tabágica (anos-maço) elevada. Sabe-se que o tabagismo é um importante fator de risco para desenvolvimento da periodontite e perda óssea de inserção dental e vem sendo implicado como um dos fatores que colaboram para o estabelecimento e proliferação de membros da família Enterobacteriaceae em boca (KAUSS et al., 2022). Os tabagistas apresentam 14 vezes mais chance de adoecer por PCM do que os não tabagistas (SANTOS et al., 2003), assim a quase totalidade dos pacientes com PCM fumam, sendo praticamente impossível excluir tabagistas para estudos da PCM

Um índice de placa abaixo de 10% do total é considerado higiene satisfatória, portanto o índice de placa elevado encontrado no estudo sugere que a eficiência do processo de higienização está muito aquém do esperado. Considerando também o índice periodontal elevado e número de dentes ausentes, os resultados apontam para a necessidade de maior atenção aos cuidados de saúde bucal em pacientes com PCM. Esses pacientes apresentam múltiplos fatores associados as más condições de saúde bucal, com predomínio de homens, de meia idade, tabagistas e, com frequência, etilistas ou consumidores ocasionais de bebidas alcoólicas.

O presente estudo observou que todos os pacientes apresentavam algum grau de perda óssea horizontal observada em radiografias interproximais e panorâmica, porém, o nível de perda óssea horizontal foi em sua maioria classificado como leve, e em alguns casos moderada sem associação com o estadiamento da periodontite. A perda óssea dental nem sempre está relacionada à periodontite, podendo ocorrer em pacientes com osteoporose, lesões endodônticas e movimentações ortodônticas (LI; LING; JIANG, 2021). Não existem outros estudos que avaliaram o nível de perda óssea alveolar em pacientes com PCM e os achados deste estudo sugerem que a perda óssea alveolar nessa doença possa estar relacionada com outros cofatores.

Segundo Samaranayake et al., 1989, a presença concomitante desses microrganismos entéricos e membros do gênero *Candida*, em boca, está associada à queimação bucal, particularmente em usuários de próteses totais e pacientes com fluxo salivar reduzido. No presente estudo, mesmo que aproximadamente metade dos pacientes fosse usuária de uma prótese total ou parcial e tenha evidenciado xerostomia, não foram detectados quaisquer sinais de queimação ou ardor bucal, o que pode estar associado aos cuidados e acompanhamentos a que os pacientes eram submetidos em função do tratamento da PCM.

A grande maioria (73,3%) dos pacientes estudados tinham tido acometimento em boca pela PCM. Alterações inflamatórias locais são fatores desencadeantes de doença periodontal (KHAN et al., 2018), no presente estudo pacientes que tiveram acometimento de boca não apresentaram maior gravidade da doença periodontal. As alterações inflamatórias também podem modificar a microbiota da boca favorecendo crescimento de microrganismos envolvidos na gênese da doença periodontal (VIEIRA COLOMBO et al., 2016).

Os resultados mostraram que a microbiota presente nas amostras estudadas são na quase totalidade compatíveis com os microrganismos encontrados na doença periodontal, como relatado na literatura, sendo eles principalmente *Porphyromonas* e *Capnocytophaga*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Actinomyces* e *Enterococcus* (CURTIS; DIAZ; VAN DYKE, 2020; MOORE et al., 1987).

Deve-se ressaltar que os pacientes que apresentavam valores mais altos de índice periodontal se mostraram mais colonizados por duas fusobactérias, *F. nucleatum* (R= 0,67) e *F. necrophorum* (R=0,66). Essa última tem pouca relação com as infecções periodontais em humanos, mas com grande capacidade de produzir

quadros necróticos em mamíferos ungulados e outros animais. Embora possa ser isolada de boca de humanos, sua presença não configura, necessariamente, a existência de infecção ativa. Por outro lado, essas fusobactérias, em particular *F. nucleatum*, possuem potente endotoxina, a qual se mostra capaz de exacerbar quadros inflamatórios periodontais e comprometer a integridade do periodonto de revestimento e dos tecidos de sustentação dental (DENES; BARRAUD, 2016; SIGNAT et al., 2011).

A ocorrência das fusobactérias tem sido relatada mais em infecções endodônticas e periapicais do que em biofilme sub ou supragengival, locais das coletas deste estudo (ASHIMOTO et al., 1996; CORRINI et al., 2008). A presença desses organismos no biofilme bucal sofre influências de muitos fatores, como o comprometimento periodontal, histórico de tabagismo e uso de drogas antimicrobianas. Sendo que apenas para *F. necrophorum* os resultados do presente estudo detectaram uma correlação direta entre a quantidade desse anaeróbio Gram-negativo e a intensidade do comprometimento periodontal. Dentre as fusobactérias, *F. necrophorum* apresenta maior capacidade de agredir diretamente os tecidos do paciente, ao passo que *F. nucleatum* apresenta grande importância ecológica em boca, atuando como ponte entre os colonizadores iniciais e finais do biofilme (KOLENBRANDER; LONDON, 1993). Essas bactérias também são capazes de levar à agressão indireta ao periodonto, sistema cardiovascular e outros sistemas funcionais (CASTELLARIN et al., 2012; DENES; BARRAUD, 2016; MARCELINO et al., 2010).

Itraconazol ou cotrimoxazol são medicamentos usados no tratamento da PCM, em função susceptibilidade de *Paracoccidioides* à maioria dos derivados sulfamídicos e azólicos (ANDRADE et al., 2019; TRAD et al., 2006). Entretanto, tendo em vista que CMX constitui combinação bastante efetiva de fármacos capazes de afetar a síntese de folato, elemento indispensável para a biossíntese de bases nitrogenadas e ácidos nucléicos, bem como alguns aminoácidos, esperava-se que a terapia prolongada com essa droga viesse a afetar a ocorrência dos principais grupos bacterianos bucais, mas os resultados não dão suporte a essa hipótese, não tendo sido observado qualquer associação entre a frequência das bactérias encontradas e o esquema terapêutico utilizado. No entanto pacientes que usaram itraconazol tiveram proporcionalmente

mais doença periodontal nos estágios 3 e 4 quando comparados com os pacientes que usaram CMX.

O itraconazol possui ação exclusiva em fungos, não atuando em bactérias causadoras da doença periodontal, curiosamente pacientes que usaram itraconazol apresentaram-se mais colonizados por *Candida* do que os que usaram somente CMX. A emergência de resistência a antifúngicos azólicos em espécies de *Candida* pode acontecer após uso prolongado dos antifúngicos e em algumas espécies tais como *C. krusei* são intrinsicamente resistente aos azólicos (WHALEY et al., 2017).

Uma vez que a ênfase do presente estudo recaiu sobre a relação da PCM e a periodontite e seus fatores etiológicos, deve-se observar que a susceptibilidade a drogas dos principais microrganismos associados à anoxibiose e disbiose de boca, sequer é avaliada. Apenas alguns estudos avaliam a susceptibilidade de anaeróbios Gram-negativos a drogas que inibem a síntese do folato (ANDRADE et al., 2019). A grande resistência bacteriana a essas drogas pode, em algum momento anterior à coleta dos espécimes clínicos para avaliação microbiológica, ter contribuído para a grande distribuição de microrganismos anaeróbios facultativos dos gêneros *Enterococcus* e da família Enterobacteriaceae, uma vez que esses agentes também evidenciam resistência ao cotrimoxazol, a qual foi considerada a associação menos efetiva frente a contaminantes de feridas cutâneas crônicas (VIEIRA COLOMBO et al., 2016).

A notável resistência clínica dos principais grupos microbianos bucais e cutâneos ao cotrimoxazol deve ser compreendida dentro dos objetivos do tratamento da PCM, infecção fúngica severa. Dessa forma, a utilização dessa associação farmacológica tem pouco impacto sobre a microbiota residente em boca e na pele, não constituindo elemento de desequilíbrio ecológico, o que certamente facilitaria a recomposição microbiana associada às superfícies afetadas pelas lesões granulomatosas. Por outro lado, seu uso para tratamento de infecções secundárias sobre essas lesões não ofereceria quaisquer benefícios.

Os pacientes do estudo mostraram-se insatisfeitos com sua saúde bucal conforme o teste OHIP-14. As condições bucais observadas bem como o histórico de ter tido lesões pela PCM podem ter colaborado para a insatisfação com sua saúde bucal. Nesse sentido, a correlação direta observada entre o resultado do OHIP-14

com o índice periodontal reforça a importância de fatores funcionais para a qualidade de vida desses pacientes. Um estudo prévio em pacientes com PCM não encontrou associação entre a auto percepção da saúde bucal e condições bucais presentes (SALDANHA et al., 2021).

Populações com a atividade agrária ou mesmo de pequenas cidades do interior do Brasil apresentam índice periodontal, índice de placa e perda dentária elevados, o que pode refletir a dificuldade de acesso ao atendimento odontológico (CARNEIRO et al., 2008; SCHROEDER; MENDOZA-SASSI; MEUCCI, 2020).

Os valores do Teste OHIP-14 deixam bastante clara a necessidade de proporcionar atendimento odontológico a esse público alvo, já que as más condições de saúde bucal impactam na qualidade de vida e na visão que o paciente tem de si mesmo (MOURA et al., 2014; SALDANHA et al., 2021). É importante proporcionar o acesso ao tratamento odontológico, concomitante ao acompanhamento para o tratamento da PCM que é logo com avaliações frequentes.

Esse estudo apresenta algumas limitações. O pequeno número de pacientes incluídos foi decorrente do fato da baixa frequência da doença e da exclusão de casos com outras comorbidades que pudessem causar periodontite. Outra limitação foi que a quase totalidade dos participantes era tabagista, fator conhecidamente associado à periodontite, no entanto a forte associação entre PCM e tabagismo não permite excluir pacientes com esse hábito. Ainda, um grupo controle sem PCM não foi incluído nas análises.

Os achados do estudo revelam que os indivíduos com PCM em atividade ou prévia sofrem, além das sequelas decorrentes de outros órgãos acometidos pela doença, de más condições de sua saúde bucal, incluindo periodontite em estágios avançados. Estratégias de assistência específicas para saúde bucal desses indivíduos devem ser consideradas prioritárias no Sistema Único de Saúde.

7 CONCLUSÃO

O presente estudo constatou que a condição de saúde bucal dos participantes com PCM avaliados não é adequada, com um índice de placa acima do esperado para idade.

Todos os pacientes apresentavam periodontite, sendo que a maioria (73,3%) com estadiamento avançado (estágios 3 e 4).

Os mais frequentes microrganismos identificados nos sulcos sub gengivais dos pacientes foram os que habitualmente estão associados à periodontite. No entanto alguns microrganismos não comumente associados à doença periodontal, como *F. necrophorum*, foram encontrados nos pacientes do estudo.

Não foi observada associação entre os microrganismos e atividade da PCM bem como estadiamento da periodontite.

Observou-se que apesar do uso prolongado de antimicrobiano como Itraconazol e CMX não houve associação com a prevalência de bactérias pesquisadas. No entanto pacientes que usaram itraconazol apresentaram-se mais colonizados por *Candida* do que os que usaram somente CMX apontando para uma possível indução de resistência da *Candida* a este azólico.

A auto percepção da saúde bucal dos participantes, observado pelo índice OHIP-14 maior do que o esperado, indicou insatisfação dos pacientes com PCM em relação a sua saúde bucal e conseqüentemente qualidade de vida.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, A. et al. ORAL HEALTH-RELATED QUALITY OF LIFE: PORTUGUESE LINGUISTIC AND CULTURAL ADAPTATION OF OHIP-14. **Psicologia, Saúde & Doença**, v. 18, n. 2, p. 374–388, 25 jul. 2017.
- AFONSO, B.; CASTRO, M. Evaluation of oral hygiene knowledge and parent motivation in a Brazilian public education institution. **Arquivos em Odontologia**, v. 50, n. 4, p. 161–169, 30 dez. 2014.
- ANDRADE, U. V. et al. Treatment compliance of patients with paracoccidioidomycosis in Central-West Brazil. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 45, n. 2, p. e20180167, 2019.
- ANSILIERO, R. et al. Pathogenic Microbial Profile and Antibiotic Resistance Associated with Periodontitis. **Indian Journal of Microbiology**, v. 61, n. 1, p. 55–65, mar. 2021.
- ARMITAGE, G. C. Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. **Annals of Periodontology**, v. 4, n. 1, p. 1–6, dez. 1999.
- ASHIMOTO, A. et al. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 11, n. 4, p. 266–273, ago. 1996.
- BAUMGARTNER, J. C. et al. Geographical differences in bacteria detected in endodontic infections using polymerase chain reaction. **Journal of Endodontics**, v. 30, n. 3, p. 141–144, mar. 2004.
- BELLISSIMO-RODRIGUES, F. et al. Endemic paracoccidioidomycosis: relationship between clinical presentation and patients' demographic features. **Medical Mycology**, v. 51, n. 3, p. 313–318, abr. 2013.
- BRANDT, C. et al. A INFLUÊNCIA DO ENSINO DA TÉCNICA RADIOGRÁFICA PERIAPICAL DO PARALELISMO PRELIMINARMENTE AO DA TÉCNICA RADIOGRÁFICA PERIAPICAL DA BISSETRIZ. **Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo**, v. 11, n. 2, p. 131–137, abr. 1997.
- BUI, F. Q. et al. Association between periodontal pathogens and systemic disease. **Biomedical Journal**, v. 42, n. 1, p. 27–35, fev. 2019.
- CARNEIRO, M. C. G. et al. Cárie dentária e necessidade de tratamento odontológico entre os índios Baniwa do Alto Rio Negro, Amazonas. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, n. 6, p. 1985–1992, dez. 2008.
- CASTELLARIN, M. et al. *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. **Genome Research**, v. 22, n. 2, p. 299–306, fev. 2012.
- CHAPPLE, I. L. C. et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. **Journal of Periodontology**, v. 89, p. S74–S84, jun. 2018.
- CORRAINI, P. et al. Periodontal Attachment Loss in an Untreated Isolated Population of Brazil. **Journal of Periodontology**, v. 79, n. 4, p. 610–620, abr. 2008.
- COSTA, A. N. et al. The lung in paracoccidioidomycosis: new insights into old problems. **Clinics**, v. 68, n. 4, p. 441–448, abr. 2013.
- COUTINHO, Z. F. et al. Paracoccidioidomycosis mortality in Brazil (1980-1995). **Cadernos de Saúde Pública**, v. 18, n. 5, p. 1441–1454, out. 2002.

- CURTIS, M. A.; DIAZ, P. I.; VAN DYKE, T. E. The role of the microbiota in periodontal disease. **Periodontology** 2000, v. 83, n. 1, p. 14–25, jun. 2020.
- DE ARRUDA, J. A. A. et al. A multicentre study of oral paracoccidioidomycosis: Analysis of 320 cases and literature review. **Oral Diseases**, v. 24, n. 8, p. 1492–1502, nov. 2018.
- DE CAMARGO, Z. P. Serology of paracoccidioidomycosis. **Mycopathologia**, v. 165, n. 4–5, p. 289–302, abr. 2008.
- DELBONI NUNES, N. E. et al. Paracoccidioidomycosis: Epidemiological and Clinical Aspects in 546 Cases Studied in the State of Espírito Santo, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, n. 3, p. 836–844, 7 set. 2017.
- DENES, E.; BARRAUD, O. Fusobacterium nucleatum infections: clinical spectrum and bacteriological features of 78 cases. **Infection**, v. 44, n. 4, p. 475–481, ago. 2016.
- GAETTI-JARDIM JÚNIOR, E. et al. Occurrence of yeasts, enterococci and other enteric bacteria in subgingival biofilm of HIV-positive patients with chronic gingivitis and necrotizing periodontitis. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n. 2, p. 257–261, jun. 2008.
- GAETTI-JARDIM JÚNIOR, E. et al. Microbiota associated with chronic osteomyelitis of the jaws. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, n. 4, p. 1056–1064, dez. 2010.
- GAETTI-JARDIM JÚNIOR, E.; MONTI, L. M.; GAETTI-JARDIM, E. C. Etiologia, epidemiologia e manifestações clínicas da paracoccidioidomicose. **ARCHIVES OF HEALTH INVESTIGATION**, v. 5, n. 2, 12 maio 2016.
- GÓES, A. M. DE et al. Paracoccidioidomycosis disease (Lutz-Splendore-Almeida): etiology, epidemiology, and pathogenesis. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 24, n. 1, 2014.
- GRIFFITHS, J.; LOPES COLOMBO, A.; DENNING, D. W. The case for paracoccidioidomycosis to be accepted as a neglected tropical (fungal) disease. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 5, p. e0007195, 16 maio 2019.
- GUTIÉRREZ-FLORES, R.; ALBARRÁN-BARROETA, R. EFECTIVIDAD DE LACTOBACILLUS RHAMNOSUS COMO TERAPIA COADYUVANTE EN EL TRATAMIENTO DE LA GINGIVITIS. **Revista Científica ESPECIALIDADES ODONTOLÓGICAS UG**, v. 4, n. 1, p. 1–6, 12 maio 2021.
- HOSHINO, T. et al. PCR detection and identification of oral streptococci in saliva samples using gtf genes. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 48, n. 3, p. 195–199, mar. 2004.
- KAUSS, A. R. et al. Influence of tobacco smoking on the development of halitosis. **Toxicology Reports**, v. 9, p. 316–322, 2022.
- KHAN, M. et al. Antifungal susceptibility testing of vulvovaginal Candida species among women attending antenatal clinic in tertiary care hospitals of Peshawar. **Infection and Drug Resistance**, v. Volume 11, p. 447–456, mar. 2018.
- KHATTRI, S. et al. Adjunctive systemic antimicrobials for the non-surgical treatment of periodontitis. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 11, p. CD012568, 16 nov. 2020.
- KOLENBRANDER, P. E.; LONDON, J. Adhere today, here tomorrow: oral bacterial adherence. **Journal of Bacteriology**, v. 175, n. 11, p. 3247–3252, jun. 1993.

- KWON, T.; LAMSTER, I. B.; LEVIN, L. Current Concepts in the Management of Periodontitis. **International Dental Journal**, v. 71, n. 6, p. 462–476, dez. 2021.
- LI, Y.; LING, J.; JIANG, Q. Inflammasomes in Alveolar Bone Loss. **Frontiers in Immunology**, v. 12, p. 691013, 9 jun. 2021.
- LIGUORI, G. et al. Comparison between multiplex PCR and phenotypic systems for *Candida* spp. identification. **The New Microbiologica**, v. 33, n. 1, p. 63–67, jan. 2010.
- LIMA, J. E. DE O. Cárie dentária: um novo conceito. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**, v. 12, n. 6, p. 119–130, dez. 2007.
- MAIOR, C. M. V. et al. Grau de perda óssea periodontal em pacientes parcialmente dentados, reabilitados com implantes osseointegrados. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 14, n. 2, p. 185, 18 fev. 2016.
- MARCELINO, S. L. et al. Presence of periodontopathic bacteria in coronary arteries from patients with chronic periodontitis. **Anaerobe**, v. 16, n. 6, p. 629–632, dez. 2010.
- MARQUES, A. P. DA C. et al. Evaluation of *Paracoccidioides brasiliensis* Infection by gp 43 Intradermal Test in Rural Settlements in Central-West Brazil. **Mycopathologia**, v. 176, n. 1–2, p. 41–47, ago. 2013.
- MARQUES, S. A. Paracoccidioidomicose: atualização epidemiológica, clínica e terapêutica. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 78, n. 2, p. 135–146, abr. 2003.
- MARY, A. V. Assessing Quality of Life using the Oral Health Impact Profile (OHIP-14) in Subjects with and without Orthodontic Treatment need in Chennai, Tamil Nadu, India. **JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH**, 2017.
- MATTOS, K. et al. An update on the occurrence of *Paracoccidioides* species in the Midwest region, Brazil: Molecular epidemiology, clinical aspects and serological profile of patients from Mato Grosso do Sul State. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 4, p. e0009317, 7 abr. 2021.
- MENDES, R. P. et al. Paracoccidioidomycosis: Current Perspectives from Brazil. **The Open Microbiology Journal**, v. 11, n. 1, p. 224–282, 31 out. 2017.
- MÖLLER, A. J. Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. Methodological studies. **Odontologisk Tidskrift**, v. 74, n. 5, p. Suppl:1-380, 20 dez. 1966.
- MOORE, L. V. H. et al. Bacteriology of Human Gingivitis. **Journal of Dental Research**, v. 66, n. 5, p. 989–995, maio 1987.
- MOTA, M. A. DE L. et al. An autochthonous case of paracoccidioidomycosis in a new area of Ceara State, Northeastern Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 61, p. e58, 2019.
- MOURA, C. et al. Autoavaliação da saúde bucal e fatores associados entre adultos em áreas de assentamento rural, Estado de Pernambuco, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 30, n. 3, p. 611–622, mar. 2014.
- NAIFF, R. D. et al. Paracoccidioidomicose enzoótica em tatus (*Dasybus novemcinctus*) no estado do Pará. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 28, n. 1, p. 19–27, fev. 1986.

- PANIAGO, A. M. M. et al. Paracoccidioidomicose: estudo clínico e epidemiológico de 422 casos observados no Estado de Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 4, p. 455–459, jul. 2003.
- RÖSING, C. K. et al. Periodontal disease and its impact on general health in Latin America. Section IV: Diagnosis. **Brazilian Oral Research**, v. 34, n. suppl 1, p. e022, 2020.
- SALDANHA, K. F. D. et al. Dental disorders and self-perception of oral health in patients with paracoccidioidomycosis. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, p. e11010111557, 4 jan. 2021.
- SAMARANAYAKE, L. P. et al. Oral carriage of Candida species and coliforms in patients with burning mouth syndrome. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 18, n. 4, p. 233–235, abr. 1989.
- SANTOS, W. A. DOS et al. Associação entre tabagismo e paracoccidioidomicose: um estudo de caso-controle no Estado do Espírito Santo, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 1, p. 245–253, fev. 2003.
- SARMENTO TATAGIBA, L. et al. A case of paracoccidioidomycosis due to Paracoccidioides lutzii presenting sarcoid-like form. **Medical Mycology Case Reports**, v. 19, p. 6–8, mar. 2018.
- SCHROEDER, F. M. M.; MENDOZA-SASSI, R. A.; MEUCCI, R. D. Condição de saúde bucal e utilização de serviços odontológicos entre idosos em área rural no sul do Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 25, n. 6, p. 2093–2102, jun. 2020.
- SHANKAR, J. et al. Hormones and the Resistance of Women to Paracoccidioidomycosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 2, p. 296–313, abr. 2011.
- SHIKANAI-YASUDA, M. A. PARACOCCIDIIDOMYCOSIS TREATMENT. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, n. suppl 19, p. 31–37, set. 2015.
- SHIKANAI-YASUDA, M. A. et al. II Consenso Brasileiro em Paracoccidioidomicose - 2017*. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 27, n. esp, nov. 2018.
- SIGNAT, B. et al. Fusobacterium nucleatum in periodontal health and disease. **Current Issues in Molecular Biology**, v. 13, n. 2, p. 25–36, 2011.
- SILVA, C. O. et al. Gingival Involvement in Oral Paracoccidioidomycosis. **Journal of Periodontology**, v. 78, n. 7, p. 1229–1234, jul. 2007.
- SILVEIRA, M. F. et al. Impact of oral health on physical and psychosocial dimensions: an analysis using structural equation modeling. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 30, n. 6, p. 1169–1182, jun. 2014.
- SLADE, G. D. Derivation and validation of a short-form oral health impact profile. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 25, n. 4, p. 284–290, ago. 1997.
- SLOTS, J.; RAMS, T. E. New views on periodontal microbiota in special patient categories. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 18, n. 6, p. 411–420, jul. 1991.
- SPIPKER, T. et al. PCR-based assay for differentiation of Pseudomonas aeruginosa from other Pseudomonas species recovered from cystic fibrosis patients. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 5, p. 2074–2079, maio 2004.

SUTTHIBOONYAPAN, P.; WANG, H.; CHARATKULANGKUN, O. Flowcharts for Easy Periodontal Diagnosis Based on the 2018 New Periodontal Classification. **Clinical Advances in Periodontics**, v. 10, n. 3, p. 155–160, set. 2020.

The New Definition of Oral Health and Relationship between Oral Health and Quality of Life. **Chinese Journal of Dental Research**, v. 20, n. 4, p. 189–192, 4 dez. 2017.

TRAD, H. S. et al. Revisão radiológica de 173 casos consecutivos de paracoccidioidomicose. **Radiologia Brasileira**, v. 39, n. 3, p. 175–179, jun. 2006.

TRINDADE, A. H. et al. Oral paracoccidioidomycosis: Retrospective analysis of 55 Brazilian patients. **Mycoses**, v. 60, n. 8, p. 521–525, ago. 2017.

TURISSINI, D. A. et al. Species boundaries in the human pathogen *Paracoccidioides*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 106, p. 9–25, set. 2017.

VIEIRA COLOMBO, A. P. et al. Periodontal-disease-associated biofilm: A reservoir for pathogens of medical importance. **Microbial Pathogenesis**, v. 94, p. 27–34, maio 2016.

WHALEY, S. G. et al. Azole Antifungal Resistance in *Candida albicans* and Emerging Non-*albicans* *Candida* Species. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 12 jan. 2017.

ZUANAZZI, D. et al. Prevalence of potential bacterial respiratory pathogens in the oral cavity of hospitalised individuals. **Archives of Oral Biology**, v. 55, n. 1, p. 21–28, jan. 2010.