

JANAÍNA COSTA MARANGON DUARTE

**ASPECTOS BIOQUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DA CAVIDADE ORAL DE
CRIANÇAS E JOVENS COM ACOMETIMENTO NEUROLÓGICO E DISFAGIA
OROFARÍNGEA**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Interações Estruturais e Funcionais na Reabilitação da Universidade de Marília para obtenção do título de Mestre em Interações Estruturais e Funcionais na Reabilitação, na área de concentração Bases Estruturais e Funcionais da Reabilitação.

Orientadora

Profa. Dra. Paula Cristina Cola

Coorientador

Dr. Francisco Agostinho Junior

MARÍLIA

2021

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura: Janaína Costa Marangon Duarte

Comitê de Ética da UNIMAR

Protocolo nº: 3.682.759

Data: 04/11/2019

Duarte, Janaína Costa Marangon

Aspectos bioquímicos e microbiológicos da cavidade oral de crianças e jovens com acometimento neurológico e disfagia orofaríngea / Janaína Costa Marangon Duarte. - Marília: UNIMAR, 2021.

57f.

Dissertação (Mestrado Interdisciplinar em Interações Estruturais e Funcionais na Reabilitação – Reabilitação do Sistema Estomatognático) – Universidade de Marília, Marília, 2021.

Orientação: Profa. Dra. Paula Cristina Cola

1. Higiene Bucal
2. Saliva
3. Transtorno de Deglutição
4. Transtorno Neurológico I. Duarte, Janaína Costa Marangon

CDD – 618.928

FOLHA DE APROVAÇÃO

JANAÍNA COSTA MARANGON DUARTE

ASPECTOS BIOQUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DA CAVIDADE ORAL DE CRIANÇAS E JOVENS COM ACOMETIMENTO NEUROLÓGICO E DISFAGIA OROFARÍNGEA

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Interações Estruturais e Funcionais na Reabilitação da Universidade de Marília para obtenção do título de Mestre em Interações Estruturais e Funcionais na Reabilitação, na área de concentração Bases Estruturais e Funcionais da Reabilitação.

Orientadora: Profa. Dra. Paula Cristina Cola

Aprovado em: __/__/____.

Coordenação do Programa de Mestrado em Interações Estruturais e Funcionais na Reabilitação

Considerações

DEDICATÓRIA

“Pois eu tive fome, e vocês me deram de comer; tive sede, e vocês me deram de beber; fui estrangeiro, e vocês me acolheram; necessitei de roupas, e vocês me vestiram; estive enfermo, e vocês cuidaram de mim; estive preso, e vocês me visitaram”. "Então os justos lhe responderão: 'Senhor, quando te vimos com fome e te demos de comer, ou com sede e te demos de beber? Quando te vimos como estrangeiro e te acolhemos, ou necessitado de roupas e te vestimos? Quando te vimos enfermo ou preso e fomos te visitar?' "O Rei responderá: 'Digo a verdade: O que vocês fizeram a alguns dos meus menores irmãos, a mim o fizeram”. (Mateus 25:35-40)

Ame o Senhor, o seu Deus, de todo o seu coração, de toda a sua alma, de todo o seu entendimento e de todas as suas forças'. O segundo é este: 'Ame o seu próximo como a si mesmo'. Não existe mandamento maior do que estes". (Marcos 12:30-31)

Dedico este trabalho de mestrado às crianças do Projeto Amor de Criança, pois, através de seus olhares, consigo enxergar Deus de uma forma extraordinária.

Ao meu amado marido Getúlio, meu amigo, meu companheiro de vida, um homem maravilhoso, de fé, garra e coragem, que tanto me orgulha e me inspira. Com as bênçãos de Deus, formamos nossa família.

À Giovana, minha primogênita, menina doce e amável, que me fez conhecer o maior e o mais lindo amor! A você que, tão pequenina, mostrou-me quão forte eu poderia ser... seus olhinhos azuis são luzes que me ensinam a todo momento. Desculpe a mamãe por todos os momentos de ausência durante o curso de mestrado. Eu te amo, minha menina!

Ao Tomás, meu menino, de uma energia positiva única, dono do abraço e do carinho mais gostoso, me faz sentir a mamãe mais realizada e amada do mundo. Obrigada, filho, por ser exatamente do jeitinho que é! Me perdoe por todos os momentos em que estive ausente desde que você nasceu, em meio a estudo e trabalho. Eu te amo, meu menino.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, que, com seu imenso amor, permitiu que eu chegasse até aqui.

“Os sonhos são como bússolas, indicando os caminhos que seguiremos e as metas que queremos alcançar. São eles que nos impulsionam, nos fortalecem e nos permitem crescer.” Assim são vocês, meus pais, que sempre sonharam os meus sonhos, servindo como bússola que me mostra “o norte”. Minha mãe Marisa, com seu jeito leve e amoroso, tem sempre a palavra certa no momento exato, trazendo calma e conforto. Meu pai Juninho, sempre me mostrando a realidade da vida da forma mais protetora que possa existir. Obrigada por tudo e por serem tão presentes na minha vida. Amor incondicional.

A minha irmã Priscila, minha amiga, por estar sempre ao meu lado, degustando o melhor presente que Deus nos deu, a vida! Que assim seja para sempre.

As minhas tias Meire e Marta, que, mesmo de tão longe, conseguem ser presentes na minha vida e no meu coração de uma forma muito intensa, mostrando que os laços de família nunca se desfazem.

Não poderia deixar de agradecer aos meus sogros, Dr. Getulio e Leda, por serem exemplos de caráter e dedicação à família.

A minha querida orientadora, Profa. Dra. Paula Cristina Cola, por ter prontamente me aceitado como sua aluna e com muito carinho, destreza e humildade me passou seus conhecimentos de uma forma admirável. Ao longo desse tempo, momentos de fraqueza e vontade desistir vieram, mas ali sempre estava ela me encorajando, dizendo que eu seria capaz e que juntas conseguiríamos! Excelente profissional, dedicada, dona de um “coração” enorme e que tenho orgulho e gratidão em dizer que se tornou minha amiga. Levarei você para sempre em meu coração.

Ao meu idolatrado coorientador Dr. Francisco de Agostinho Junior, minha eterna gratidão. Ele me fez enxergar, dentro de mim, um enorme amor pelos cuidados a crianças com necessidades especiais com uma frase que diz tudo: “Não é sobre cura, e sim sobre qualidade

de vida!” Esteve ao meu lado, incansavelmente, no momento de maior medo da minha vida. Admirável é como executa sua missão enviada por Deus, homem de Deus.

Aos colaboradores Prof. Dr. Daniel De Bortoli Teixeira, Profa. Dra. Isabela Bazzo e Prof. Ms. Claudemir Gregório Mendes, sempre disponíveis e solícitos. Com muito zelo, a colaboração de vocês foi fundamental. Excelentes educadores.

Ao meu amigo e colega de turma de mestrado, Luis Fernando Fregatto, sempre companheiro durante as pesquisas. Ser humano iluminado, admiro sua fé em nosso Deus.

A todos os Professores do curso que dividiram conhecimentos e ensinamentos da melhor forma possível.

À Universidade de Marília, onde tive o privilégio de me formar cirurgiã-dentista e hoje sou aluna do curso de mestrado.

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

Ao Dr. Márcio Mesquita Serva, Magnífico Reitor da Universidade de Marília;

À Profa. Regina Lúcia Ottaiano Losasso Serva, Magnífica Vice-reitora da Universidade de Marília;

À Profa. Dra. Fernanda Mesquita Serva, Digníssima Pró-reitora de Pesquisa, Pós-graduação e Ação Comunitária da Universidade de Marília;

Ao Sr. Marco Antônio Teixeira, Digníssimo Pró-reitor Administrativo da Universidade de Marília;

Ao Prof. José Roberto Marques de Castro, Digníssimo Pró-reitor de Graduação da Universidade de Marília;

À Dra. Márcia Mesquita Serva Reis, Diretora Superintendente do Hospital Beneficente UNIMAR;

Ao Dr. Carlos Henrique Bertoni Reis, Diretor técnico do Hospital Beneficente UNIMAR;

À Profa. Dra. Maria Elizabeth da Silva Hernandes Correa, Diretora de Ensino e Pesquisa do Hospital Beneficente UNIMAR;

Ao Prof. Dr. José Pedro Trevisan Novaretti, Diretor Clínico do Hospital Beneficente UNIMAR;

Aos docentes do Programa de Mestrado em Interações Estruturais e Funcionais na Reabilitação;

Às secretárias da Pós-graduação Thaís Helena Camprubi Brunetti e Andréa dos Santos Infante Hermínio, sempre disponíveis e com atendimento profissional.

ASPECTOS BIOQUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DA CAVIDADE ORAL DE CRIANÇAS E JOVENS COM ACOMETIMENTO NEUROLÓGICO E DISFAGIA OROFARÍNGEA

RESUMO

Introdução: Os componentes e o fluxo salivar possuem influência direta na composição da microbiota oral de indivíduos com disfagia orofaríngea, sendo que estudos já demonstraram acúmulo excessivo de cálculo dental supragengival em indivíduos com disfagia. **Objetivo:** Comparar a higiene oral e os aspectos bioquímicos e microbiológicos da cavidade oral em crianças e jovens com acometimento neurológico e disfagia orofaríngea gastrostomizados e não gastrostomizados. **Método:** Participaram deste estudo 40 crianças e jovens com acometimento neurológico e disfagia orofaríngea, 18 do sexo feminino e 22 do sexo masculino, na faixa etária de 2 a 22 anos de idade (média de idade 8,5 anos). Os participantes foram divididos em dois grupos de análise: GRUPO 1 (n=20), composto de indivíduos que usam como via alternativa de alimentação a gastrostomia, e GRUPO 2 (n=20), composto de indivíduos com alimentação por via oral. Foram realizadas a avaliação da higiene oral, o pH e fluxo salivar, e análise por meio da expressão do RNAm pela técnica de Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) de três bactérias: *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*. **Resultados:** O índice de higiene oral total apresentou mediana geral de 2,5 e apresentou diferença estatística significativa entre os dois grupos (Grupo 1: mediana 4 e Grupo 2: mediana 2) ($p=0,0003871$). Houve diferença estatística entre os grupos comparando a presença de cálculo (Grupo 1: mediana 2 e Grupo 2: mediana 0) ($p=0,000001931$). Já para a placa bacteriana não houve diferença estatística entre os grupos ($p=0,2939$). O pH apresentou diferença estatística entre os grupos (Grupo 1: mediana 7,5 e Grupo 2: mediana 6) ($p=0,00002236$), enquanto o fluxo salivar não apresentou diferença estatística entre os grupos (Grupo 1: mediana 0,8 Grupo 2: mediana 0,7) ($p=0,1168$). E, em relação às análises das bactérias, não houve associação entre os grupos e foram presentes em 24 crianças e jovens com *Porphyromonas gingivalis* (Grupo 1: 14 e Grupo 2: 10), 24 com *Tannerella forsythia* (Grupo 1: 14 e Grupo 2: 10) e 19 com *Treponema denticola* (Grupo 1: 10 e Grupo 2: 9). **Conclusão:** As crianças e jovens com acometimento neurológico e disfagia orofaríngea e uso de gastrostomia apresentaram pior índice de higiene oral, maior presença de cálculos e maior pH na saliva. Quanto às bactérias, tanto as crianças quanto os jovens em uso de gastrostomia ou alimentação por via oral, apresentaram na cavidade oral as três bactérias analisadas.

Palavras-chave: Cálculos Dentários, Higiene Bucal, Saliva, Transtorno de Deglutição, Transtorno Neurológico.

BIOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF THE ORAL CAVITY OF CHILDREN AND YOUNG PEOPLE WITH NEUROLOGICAL IMPAIRMENT AND OROPHARYNGAL DYSPHAGIA

ABSTRACT

Introduction: The components and the salivary flow have a direct influence on the composition of the oral microbiota of children and young people with oropharyngeal dysphagia, studies have already demonstrated excessive accumulation of supragingival dental calculus in individuals with enteral nutrition. **Objective:** Comparing the oral hygiene, biochemical and microbiological aspects of the oral cavity in children and young people with neurological involvement and oropharyngeal dysphagia, gastrostomized and non-gastrostomized. **Method:** Forty children and young people with neurological disorder and oropharyngeal dysphagia participated in this study, 18 females and 22 males, aged from 2 to 22 (average age 8.5 years). The participants were divided into two analysis groups: GROUP 1 (n= 20), composed of individuals who use gastrostomy as an alternative feeding method, and GROUP 2 (n= 20), composed of individuals who feed orally. It was made an assessment of their oral hygiene, pH and salivary flow and an analysis by means of RNAm expression by the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique of three bacteria: *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* and *Treponema denticola*. **Results:** The total oral hygiene index has a general median of 2.5 and a statistically significant difference between the two groups (Group 1: median 4 and Group 2: median 2) ($p = 0.0003871$). There was a statistical difference between the groups when comparing the presence of calculus (Group 1: median 2 and Group 2: median 0) ($p = 0.000001931$). As for bacterial plaque, there was no statistical difference between the groups ($p = 0.2939$). There was statistical difference between the groups (Group 1: median 7.5 and Group II: median 6.0) ($p = 0.00002236$) as for the pH, while there was no statistical difference between the groups (Group 1: median 9; Group 2: median 7) ($p = 0.1168$) as for salivary flow. Regarding the analysis of bacteria, there was no association between groups and 24 children and young people had *Porphyromonas gingivalis* (Group 1: 14 and Group 2: 10), 24 had *Tannerella forsythia* (Group 1: 14 and Group 2: 10) and 19 had *Treponema denticola* (Group 1: 10 and Group 2: 9). **Conclusion:** Children and young people with neurological impairment and oropharyngeal dysphagia who use gastrostomy feeding had a worse rate of oral hygiene, greater presence of calculus and higher pH in saliva. As for bacteria, both children and young people who use gastrostomy feeding and the ones who feed orally had the three bacteria analyzed in the oral cavity.

Keywords: Dental Calculus, Deglutition Disorder, Oral Hygiene, Neurological Disorder, Saliva.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - IHOS: avaliação da superfície vestibular dos elementos 11, 31, 16 e 26, e da superfície lingual dos elementos 36 e 46	23
Figura 2 - IHOS: códigos de 0 (zero) a 3 (três), correspondentes à quantidade de placa/ cálculo depositado na superfície dentária.....	24
Figura 3 - Fitas de papel colorimétricas indicadoras de pH (Macherey-Nagel (MN)* ou pH-fix*).....	25
Figura 4 - Introdução da fita na cavidade oral, na região de mucosa jugal direita do paciente.....	25
Figura 5 - Frasco Salivette*, da marca SARSTEDT, contendo em seu interior rolete de algodão estéril.....	26
Figura 6 - Introdução do algodão no interior da cavidade oral do paciente, na região sublingual, com o auxílio de uma pinça clínica de metal estéril.....	27
Figura 7 - Coleta da saliva por meio de swab oral estéril.....	29
Figura 8 - Obtenção do swab oral raspando a face interna das bochechas com swabs estéreis.....	29
Figura 9 - Amostra levada para o interior do tubo.....	30
Figura 10 - Kit comercial DNA isolation kit (Puregene, Gentra Systems, Minneapolis/EUA).....	30
Figura 11 - Centrífuga.....	31
Figura 12 - Transiluminador Hoefer modelo MacroVue UV-20 para verificar a integridade da amostra de DNA.....	31

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Sequência de oligonucleotídeos iniciadores utilizados para a amplificação do GAPDH e bactérias <i>Porphiromonas gingivalis</i> , <i>Tannerella forsythia</i> e <i>Treponema denticola</i>	32
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Mediana e intervalo interquartil do índice de higiene oral, dedritos e cálculo em relação aos grupos I e II34

Tabela 2 - Mediana e intervalo interquartil do pH e fluxo salivar em relação aos grupos I e II.....34

Tabela 3 - Frequência absoluta e relativa (%) da presença e ausência das bactérias *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* nos grupos 1 e 2.....35

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

IHOS – Índice de higiene oral simplificado

PCR – Reação em cadeia pela Polimeras

PC – Paralisia cerebral

pH – Potencial Hidrogeniônico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVO	19
3 MÉTODO	21
3.1 ASPECTOS ÉTICOS	21
3.2 CASUÍSTICA	21
3.3 MÉTODO	21
3.3.1 Índice de Higiene Oral Simplificado	22
3.3.2 pH salivar	24
3.3.3 Fluxo Salivar	26
3.3.4 Reação em cadeia pela polimerase (PCR)	27
3.3.5 Análise estatística	32
4 RESULTADOS	34
5 DISCUSSÃO	37
6 CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS	45
ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética	55
APÊNDICE A - Solicitação de Alteração do Título do Projeto de Pesquisa	57



1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

Os acometimentos neurológicos possuem diferentes origens, congênita ou adquirida, podendo ocorrer em diferentes períodos da vida, desde a fase neonatal até a velhice. A paralisia cerebral (PC), também denominada de encefalopatia crônica não progressiva da infância, é considerada um acometimento neurológico e é consequência de uma lesão cerebral ocorrida durante o período pré-natal, perinatal ou pós-natal, que provoca alterações sensoriais e/ou motoras (REDDIHOUGH; COLLINS, 2003). A PC afeta a qualidade de vida da pessoa e a saúde em geral devido ao complexo quadro clínico apresentado. Essa população caracteriza-se por alteração de tônus muscular, transtornos de comunicação, de deglutição, diminuição da capacidade intelectual e epilepsia (ROSENBAUM *et al.*, 2007; DOUGHERTY, 2009; COLVER; FAIRHURST; PHAROAH, 2014).

Em relação ao acometimento neurológico por causas genéticas, citam-se as síndromes genéticas, que são definidas por qualquer alteração do patrimônio genético, abrangendo todas as alterações gênicas presentes no indivíduo que podem ser transmitidas a gerações futuras, como o aumento ou a diminuição de DNA, seja através de cromossomos inteiros ou frações destes, através de deleções, duplicações ou translocações não equilibradas. As síndromes genéticas são responsáveis por alterações reprodutivas, malformações, retardo mental, entre outros (PINTO JUNIOR, 2002).

Observa-se que são diversos os sinais e sintomas decorrentes dos acometimentos neurológicos, sendo eles desde alterações do desenvolvimento como deficiência mental, déficit de atenção, hiperatividade, dislexia, disfagia dentre outros (ROSENBAUM *et al.*, 2007). Dentre os sintomas, a disfagia orofaríngea neurogênica é um sintoma com prevalência que varia de 43% a 99% nos indivíduos com PC, trazendo prejuízos nutricionais, de hidratação, complicações pulmonares e no prazer alimentar (PINTO *et al.*, 2016). O comprometimento na fase oral e faríngea da deglutição ocorrido pela incapacidade de controlar o alimento na boca por ausência de vedamento labial, alteração na coordenação da língua, reflexos orais e alterações faríngeas ocasiona prejuízos orofaríngeos que comprometerão, por vezes, a eficiência e a segurança da deglutição (BROWN *et al.*, 2008; SUSIN *et al.*, 2012). A avaliação da disfagia orofaríngea nessa população tem sido realizada por métodos clínicos distintos e por método instrumental como a Videofluoroscopia ou a Nasoendoscopia de deglutição (LAGOS-GUIMARÃES *et al.*, 2016).

O fator tempo do trânsito oral do bolo alimentar vem sendo estudado na população com acometimento neurológico (COLA *et al.*, 2020) e a literatura evidencia que nessa população o

tempo do trânsito oral é maior em indivíduos com necessidade de gastrostomia do que em indivíduos sem necessidade de gastrostomia (AFONSO *et al.*, 2018). Os estudos mostram ainda que a gastrostomia favorece o ganho de peso, invertendo ou prevenindo a desnutrição, reduz o tempo de alimentação, facilita a administração de medicamentos, diminui problemas respiratórios e de internações e melhora a qualidade de vida dos cuidadores (GAUDERER, 2002; Oliveira *et al.*, 2010).

Nos indivíduos com acometimento neurológico, outro aspecto importante a ser discutido é a função de autolimpeza oral, que muitas vezes está comprometida. A higiene bucal é realizada de maneira insatisfatória pela dificuldade de coordenação motora desses pacientes. Geralmente, pacientes portadores de acometimento neurológico podem apresentar disfunções orais frequentes, como reflexos orais patológicos, reflexos primitivos patológicos, sialorreia, xerostomia e movimentos anormais de lábios, língua e bochechas, causando danos à saúde oral (DOUGHERTY, 2009; NOVAK *et al.*, 2012; REID *et al.*, 2012; ARVEDSON, 2013).

A disfagia orofaríngea e a higiene oral prejudicada podem afetar o pH e o fluxo salivar, pois a redução do fluxo salivar, concomitantemente à redução do pH intraoral, pode predispor pacientes à colonização bacteriana por *Klebsiella pneumoniae*, enterobactéria responsável por causar pneumonia e infecções hospitalares (AYARS *et al.*, 1982). Alguns estudos já demonstraram que adolescentes com paralisia cerebral apresentaram menor fluxo salivar, portanto, menor atividade enzimática, como da peroxidase, amilase e de proteínas totais da saliva, além de uma menor capacidade tampão e maior concentração de ácido siálico, comparados ao controle, o que poderia aumentar o risco de doenças bucais nessa população (SANTOS *et al.*, 2007; SANTOS *et al.*, 2011).

Outro aspecto importante é que os componentes e o fluxo salivar possuem influência direta na composição da microbiota oral de pacientes com distúrbios nutricionais. A doença periodontal tem alta prevalência em adolescentes com síndrome de Down, além de apresentar efeitos negativos sobre a qualidade de vida desses indivíduos. E tais alterações são potencializadas pela gravidade da doença (LOUREIRO *et al.*, 2007).

A microbiota envolvida nas infecções periodontais é considerada mista, pois diversas espécies de micro-organismos exercem papéis específicos na etiopatogênese dessas alterações (FAVERI *et al.*, 2009). Dentre esses microorganismos, podemos destacar os anaeróbios Gram-negativos: *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Pseudomonas*, *Aggregatibacter*, *Campylobacter* e *Treponema*, particularmente as espécies *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter*

actinomycetemcomitans e *Tannerella forsythia* (FAVERI *et al.*, 2009; RAMSEIER *et al.*, 2009).

Os micro-organismos *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola* são os que apresentam maior relevância no desenvolvimento das doenças periodontais, além de determinar um prognóstico mais reservado no tratamento de sítios periodontais inflamados colonizados por eles (WARA-ASWAPATI *et al.*, 2009; KEBSCHULL; PAPAPANOU, 2011).

Diante do exposto, este estudo tem como hipótese de pesquisa que as crianças e jovens com acometimento neurológico e disfagia orofaríngea e uso de via alternativa de alimentação (gastrostomia) apresentam mais alterações na higiene oral, maior pH e fluxo salivar e maior presença de bactérias na cavidade oral do que crianças e jovens com via oral de alimentação.



2 Objetivo

2 OBJETIVO

Comparar a higiene oral, os aspectos bioquímicos e microbiológicos da cavidade oral em crianças e jovens com acometimento neurológico e disfagia orofaríngea gastrostomizados e não gastrostomizados.



3 Método

3 MÉTODO

3.1 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Marília, UNIMAR, parecer número 3.682.759. Todos os responsáveis pelos indivíduos incluídos no protocolo de estudo tiveram ciência e deram consentimento livre esclarecido.

3.2 CASUÍSTICA

Participaram deste estudo 40 crianças e jovens com acometimento neurológico e disfagia orofaríngea; destes, 26 com diagnóstico de paralisia cerebral e 14 com diagnóstico de síndrome genética, 18 do sexo feminino e 22 do sexo masculino, na faixa etária de 2 a 22 anos de idade (média de 8,5 anos). Os participantes foram divididos em dois grupos de análise: GRUPO 1 (n=20), composto por crianças e jovens que usam como via alternativa de alimentação a gastrostomia, e GRUPO 2 (n=20), composto por crianças e jovens com alimentação por via oral. Os critérios de inclusão foram crianças e jovens com acometimento neurológico e disfagia orofaríngea confirmados nos prontuários de atendimento. Foram excluídos crianças e jovens com condições físicas que impossibilitaram a coleta dos espécimes clínicos, com quadro clínico geral instável, com ausência ou erupção incompleta de elementos dentários de número 11, 31, 16, 26, 36 e 46 (dentição permanente) ou 51, 71, 55, 65, 75 e 85 (dentição decídua) necessários para avaliação e uso de antibiótico contínuo.

A seleção das crianças e jovens ocorreu conforme a presença para atendimento ambulatorial e prévia análise de prontuário confirmando o diagnóstico de disfagia orofaríngea. E assim foram convidados a participar da pesquisa, recebendo explicações sobre os objetivos e o método da coleta. Tais crianças e jovens são acompanhados no Ambulatório de Especialidades do Hospital Beneficente UNIMAR – “Projeto Amor de Criança”.

3.3 MÉTODO

O desenho deste estudo é classificado como primário, prospectivo, transversal, observacional, descritivo e analítico.

O local da coleta foi em consultório odontológico, na clínica de odontologia da Universidade de Marília–Unimar e nas dependências do Ambulatório Amor de Criança,

mantido pela Associação Beneficente Hospital Universitário, localizado na Rua Dr. Próspero Cecílio de Coimbra, 80 – Jd. São Gabriel, na cidade de Marília.

Inicialmente, fez-se a leitura do prontuário do paciente para a confirmação do diagnóstico de acometimento neurológico e disfagia orofaríngea, como também da informação sobre a via de alimentação. O diagnóstico médico é feito por exames de imagem e exames genéticos como Snp Array e Exoma, conforme a necessidade para cada paciente. A avaliação da deglutição é realizada por fonoaudiólogo por meio de avaliação clínica e de exame instrumental, a videofluoroscopia da deglutição. Em seguida foi realizada anamnese com os responsáveis e coletadas informações referentes aos dados pessoais, e clínicas, como visita ao dentista, frequência de escovação, horário da última oferta de alimentação e sobre o uso de medicação contínua.

A avaliação da higiene oral e coleta da saliva foi realizada sempre pelos mesmos dois profissionais, um da área de odontologia e outro de enfermagem, ambos treinados e com experiência na área de atuação. A criança ou jovem foi posicionado na cadeira odontológica da marca Kavo, modelo Unik, ou mesmo na sua própria cadeira de rodas, conforme a necessidade de posicionamento. Durante a avaliação e a coleta, utilizou-se luva estéril, espelho clínico bucal odontológico, sonda exploradora odontológica, sugador plástico descartável, seringa tríplice acoplada à cadeira odontológica com jato de ar e água, luz do refletor da cadeira odontológica e swab.

3.3.1 Índice de Higiene Oral Simplificado

Com o objetivo de qualificação da higiene oral, foi realizada a quantificação do depósito de placa bacteriana e cálculo dental em toda a população amostral envolvida. Essa avaliação foi realizada pelo mesmo profissional da área de odontologia especializado na área de odontopediatria e com experiência de sete anos no atendimento dessa população. Para isso, foi aplicado o Índice de Higiene Oral Simplificado (IHOS), proposto por Greene e Vermillion (1964), no qual se verificou a existência de placa ou cálculo na superfície vestibular dos elementos dentários de números 11 (incisivo central superior direito), 31 (incisivo central inferior esquerdo), 16 (primeiro molar superior direito) e 26 (primeiro molar superior esquerdo), e na superfície lingual dos elementos 36 (primeiro molar inferior esquerdo) e 46 (primeiro molar inferior direito) (Figura 1). Na ausência de um elemento, substituímos por outro do mesmo grupo, ou seja, mesma arcada dentária e mesmo quadrante. Apenas os elementos totalmente erupcionados foram considerados. Em dentição decídua ou mista, avaliou-se a superfície

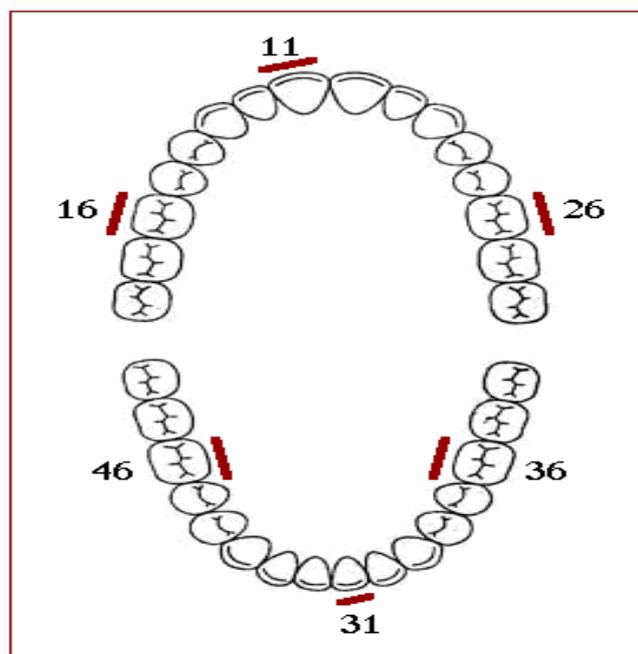
vestibular dos elementos dentários de números 51 (incisivo central superior direito), 71 (incisivo central inferior esquerdo), 55 (primeiro molar superior direito), 65 (primeiro molar superior esquerdo), e superfície lingual dos elementos 75 (primeiro molar inferior esquerdo) e 85 (primeiro molar inferior direito).

A cada superfície selecionada, atribuiu-se um valor de 0 (zero) a 3 (três), correspondente à quantidade de placa bacteriana e cálculo dental depositado na superfície dentária (Figura 2), de acordo com o que se segue:

- Zero: inexistência de placa e/ou cálculo;
- Um: placa e/ou cálculo supragengival presente em até 1/3 da superfície dentária exposta;
- Dois: placa e/ou cálculo supragengival presente em mais de 1/3, porém não mais que 2/3 da superfície dentária exposta;
- Três: placa e/ou cálculo supragengival presente em mais de 2/3 da superfície da coroa dentária, ou uma faixa contínua e espessa de placa e/ou cálculo subgengival.

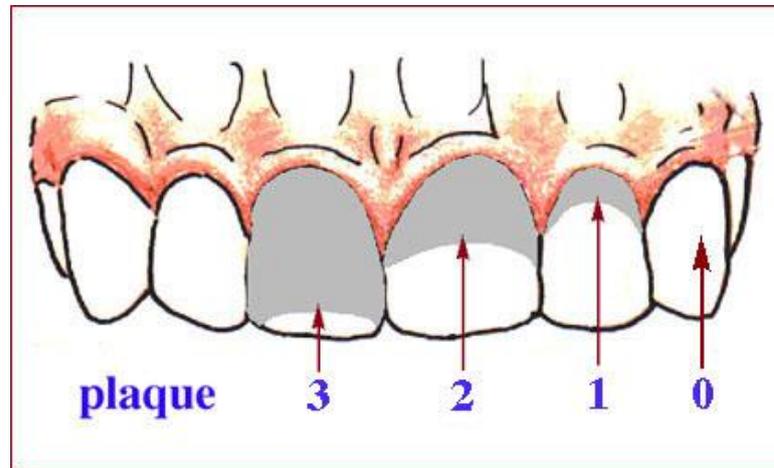
O índice é calculado como sendo o resultado da soma dos valores de cada elemento dentário, dividida pelo total de dentes examinados.

Figura 1 - IHOS: avaliação da superfície vestibular dos elementos 11, 31, 16 e 26 e da superfície lingual dos elementos 36 e 46.



Fonte: Malmo University Oral Health Database.

Figura 2 - IHOS: códigos de 0 (zero) a 3 (três), correspondentes à quantidade de placa/cálculo depositado na superfície dentária.



Fonte: Malmo University Oral Health Database.

3.3.2 pH salivar

Foi realizada a análise do pH salivar através de fitas de papel indicadoras de pH (Macherey-Nagel (MN)* ou pH-fix*), as quais possuem escala de 0 a 14 e graduação de 1 pH, com determinação pelo método colorimétrico, que utiliza uma escala própria para leitura. A fita foi introduzida na cavidade oral, na região de mucosa jugal direita do paciente, e permaneceu por 20 segundos, em seguida foi removida e o resultado foi comparado através da escala (Figura 3 e 4).

Uma única avaliadora fez a leitura do método colorimétrico. Ela foi calibrada, através de repetições em exames prévios à pesquisa. Além disso, as leituras de pH pelo método colorimétrico foram realizadas sempre nas mesmas condições de luminosidade, sob a luz do refletor do equipo odontológico da clínica onde foi realizado o exame (SERRATINE-SILVA, 2009).

Os valores de referência para o pH salivar são:

- pH neutro: =6,5 – 7,0
- pH ácido: < 6,5 – 7,0
- pH básico: > 6,5- 7,0

(GUYTON; HALL, 2011).

Figura 3 - Fitas de papel colorimétricas indicadoras de pH (Macherey-Nagel (MN)* ou pH-fix*).



Fonte: Autoria própria.

Figura 4 - Introdução da fita na cavidade oral, na região de mucosa jugal direita do paciente.



Fonte: Autoria própria.

3.3.3 Fluxo Salivar

Para a coleta da saliva, os cuidadores/responsáveis foram informados de que os indivíduos não poderiam ter ingerido bebidas, alimentos e ter realizado a higiene bucal uma hora antes da coleta (CHAVES NETO *et al.*, 2005).

A coleta foi realizada entre 8:00 e 10:00 horas. Foram utilizados frascos Salivette*, da marca Sarstedt, contendo em seu interior um algodão rolete compacto estéril (Figura 5). Esse algodão foi introduzido no interior da cavidade oral do indivíduo, na região sublingual, com o auxílio de uma pinça clínica de metal estéril, permanecendo por 1 minuto até a completa saturação por saliva, sendo colocado novamente no interior do frasco (SANTOS *et al.*, 2016) (Figura 6). Ao final das coletas matinais, os frascos foram levados para o laboratório São Francisco, que tem parceria com o ambulatório, onde foi realizada a análise de fluxo salivar.

Os frascos foram centrifugados e a saliva acondicionada em um compartimento inferior do frasco, livre de resíduos e devidamente preparado para avaliação. Os resultados de fluxo salivar foram expressos em ml/min.

Figura 5 - Frasco Salivette*, da marca Sarstedt, contendo em seu interior rolete de algodão estéril.



Fonte: Autoria própria.

Figura 6 - Introdução do algodão no interior da cavidade oral do paciente, na região sublingual, com o auxílio de uma pinça clínica de metal estéril.



Fonte: Autoria própria.

3.3.4 Reação em cadeia pela polimerase (PCR)

Foi realizada a coleta da saliva por meio de swab oral (Figura 7) e, a partir deste, foi investigada a expressão do RNAm pela técnica de Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) dos agentes *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*.

- Obtenção do swab oral: após a higienização da boca com 100ml de água, a coleta foi realizada raspando a face interna das bochechas com swabs estéreis, fazendo movimentos circulares por aproximadamente 30 vezes (CUNHA-CORREA, 2016). Esses swabs foram cortados e colocados em microtubos de 2ml com gel em seu interior. As amostras colhidas foram armazenadas em geladeira a 4°C por período de até 7 dias antes da extração de DNA genômico (Figuras 8 e 9).

- Extração de DNA com o Kit comercial DNA isolation kit (Puregene, Gentra Systems, Minneapolis/EUA) (Figura 10): nos microtubos contendo os swabs foram adicionados 300µL de solução de lise. A seguir, foi adicionado 1,5µL de proteinase K (20mg/ml) e 100 µL de solução de precipitação de proteína. Em seguida, foi acrescido 300µL de isopropanol a 100% e 0,5µL de glicogênio (20mg/ml) e os tubos sofreram centrifugação a 15.000rpm/3 minutos (Figura 11). O sobrenadante foi desprezado e o tubo invertido sobre papel absorvente. Foram

adicionados 300µL de etanol a 70% para lavar o DNA. Os tubos permaneceram abertos por 15min para evaporação do etanol residual e, a seguir, o DNA foi dissolvido em 20µL de solução de eluição do DNA.

As amostras de DNA extraídas foram submetidas à eletroforese em gel de agarose 1,5% em TBE (Tris, ácido bórico e EDTA 0,001 M, pH 8,0) contendo brometo de etídio na concentração de 0,5µg/ml de gel e observadas em transiluminador (marca Hoefer, modelo MacroVue UV-20) para verificar a integridade da amostra de DNA (Figura 12). As concentrações das amostras de DNA obtidas foram mensuradas em espectrofotômetro (Ultrospec III, Pharmacia LKB Biochrom Ltd, Cambridge, Inglaterra) no comprimento de onda de 260nm. A relação 260/280 igual a 1,8 foi utilizada para caracterizar a pureza do material. As amostras ficaram armazenadas a 4°C até sua utilização.

Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR): a amplificação do gene constitutivamente expresso gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (GAPDH) foi realizada para controle interno das reações, a fim de confirmar se houve sucesso no processo de extração de DNA. Para isso, o protocolo Invitrogen® foi adotado, onde em um tubo estéril foram adicionados 2,5uL de tampão PCR 10X, 0,75uL de MgCl₂ (50mM), 0,5uL de DNTP Mix (10mM), 0,6uL de oligonucleotídeo iniciador “forward” (2mM), 0,6uL de oligonucleotídeo iniciador “reverse” (2mM), 0,5uL da amostra de DNA, 0,2uL de Taq DNA polimerase (5unidades/uL) e água destilada e autoclavada para completar o volume final de 25uL (Figura 12). A reação foi realizada no termociclador Perkin Elmer GeneAmp PCR System 2400, sob as condições de 94°C por 45 segundos (denaturação), 60°C por 45 segundos (anelamento), 70°C por 1 minuto (extensão) e 70°C por 15 minutos (extensão final), por 25 ciclos (BURATINI *et. al.*, 2005)

O protocolo FIREpol® foi adotado para a amplificação da *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* por PCR. Em um tubo estéril foram adicionados 4uL de Master Mix 5X, 0,6uL de oligonucleotídeo iniciador “forward” (10uM), 0,6uL de oligonucleotídeo iniciador “reverse” (10uM), 2uL da amostra de DNA e água destilada e autoclavada para completar o volume final de 20uL. A reação também foi realizada no termociclador Perkin Elmer GeneAmp PCR System 2400, sob as condições de 94°C por 30 segundos (denaturação), 55°C por 30 segundos (anelamento), 72°C por 1 minuto (extensão) e 72°C por 5 minutos (extensão final).

As sequências dos oligonucleotídeos iniciadores para a amplificação do GAPDH e das bactérias em específico estão apresentadas no Quadro 1 (GUIMARÃES *et. al.*, 2012, BURATINI *et. al.*, 2005).

Figura 7 - Coleta da saliva por meio de swab oral estéril.



Fonte: Autoria própria.

Figura 8 - Obtenção do swab oral raspando a face interna das bochechas com swabs estéreis



Fonte: Autoria própria.

Figura 9 - Amostra levada para o interior do tubo



Fonte: Autoria própria.

Figura 10 - Kit comercial DNA isolation kit (Puregene, Gentra Systems, Minneapolis/EUA).



Fonte: Autoria própria.

Figura 11 - Centrífuga.



Fonte: Autoria própria.

Figura 12 - Transiluminador Hoefler modelo MacroVue UV-20 para verificar a integridade da amostra de DNA.



Fonte: Autoria própria.

Quadro 1 - Sequência de oligonucleotídeos iniciadores utilizados para a amplificação do GAPDH e bactérias *Porphiromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*.

Gene-alvo	Sequência	Fragmento
GAPDH	F 5' TGT TCC AGT ATG ATT CCA CC 3' R 5' TCC ACC ACC CTG TTG CTG 3'	850 pb
<i>P. gingivalis</i>	F 5' AGGCAGCTTGCCATACTGCG 3' R 5' ACTGTTAGCAACTACCGATGT 3'	404 pb
<i>T. forsythia</i>	F 5' GCGTATGTAACCTGCCCCGCA 3' R 5' TGCTTCAGTGTCAGTTATACCT 3'	641 pb
<i>T. denticola</i>	F 5' TAATACCGAATGTGCTCATTTACAT 3' R 5' TCAAAGAAGCATTCCCTCTTCTTCTTA 3'	316pb

pb: pares de bases

As amostras de DNA amplificadas foram submetidas à eletroforese em gel de agarose 1,5% em TBE (Tris, ácido bórico e EDTA 0,001 M, pH 8,0) contendo brometo de etídio na concentração de 0,5µg/ml de gel e observadas em transiluminador (Hoefer, Macro Vue UV-20) para verificar a expressão ou não dos genes analisados.

3.3.5 Análise estatística

Os dados foram previamente analisados em relação à presença de normalidade por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov a 5% de probabilidade. Uma vez não confirmada a presença da distribuição normal das variáveis analisadas, optou-se pela utilização das estatísticas não paramétricas. Desta forma, aplicou-se o teste de Mann-Whitney para a comparação dos grupos em relação a higiene oral, pH e fluxo salivar, sendo apresentados conjuntamente ao valor do teste os valores da mediana e intervalo interquartil (IQR) para cada grupo. Para a análise das bactérias foi utilizado o teste de Qui-quadrado. Para ambos os testes foi utilizado o nível de 5% de probabilidade. Todas as análises estatísticas foram conduzidas utilizando o software R (R CORE TEAM, 2019).



4 Resultados

4 RESULTADOS

Os resultados serão apresentados em três partes, sendo a **Parte I** referente à análise do índice de higiene oral, placa bacteriana e cálculo dental em ambos os grupos e a comparação entre o grupo 1 e o grupo 2. Em seguida, na **Parte II**, apresenta-se a análise do pH e do fluxo salivar em ambos os grupos e entre o grupo 1 e o grupo 2. E, por fim, na **Parte III**, trata-se da descrição e análise das bactérias na cavidade oral e a comparação entre os grupos 1 e 2.

Parte I

Tabela 1 - Mediana e intervalo interquartil do índice de higiene oral, placa bacteriana e cálculo dental em relação aos grupos 1 e 2.

	Grupo 1	Grupo 2	Total	p-valor*
Higiene Oral	4 (1,68)	2 (0,93)	2,5 (2,4)	0,0003871
Placa	2,1 (1,08)	1,8 (0,5)	2 (0,7)	0,2939
Cálculo	2 (0,85)	0 (0,08)	0,55 (2)	0,000001931

*Teste de Mann-Whitney

Na tabela 1, pode-se observar que o índice de higiene oral foi pior no grupo 1 (gastrostomizados) ($p < 0,05$). Em relação à presença de placa bacteriana, não se observou diferença entre os grupos ($p > 0,05$). Já em relação ao cálculo dental, o grupo 1 apresentou maior quantidade de cálculo ($p < 0,05$).

Parte II

Tabela 2 - Mediana e intervalo interquartil do pH e fluxo salivar em relação aos grupos 1 e 2.

	Grupo 1	Grupo 2	Total	p-valor*
pH	7,5 (1,0)	6 (0,62)	6,75 (1,5)	0,00002236
Fluxo Salivar	0,8 (0,5)	0,7 (0,72)	0,7 (0,7)	0,1168

*Teste de Mann-Whitney

Na Tabela 2, pode-se observar que o pH da saliva foi maior no grupo 1 ($p < 0,05$). Já o fluxo salivar não apresentou diferença entre os grupos ($p > 0,05$).

Parte III

Foi avaliada a presença de três bactérias, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, na cavidade oral de 39 crianças e jovens com acometimento neurológico e disfagia, pois em um deles não foi possível a obtenção do material genético por erro técnico.

Tabela 3 - Frequência absoluta e relativa (%) da presença e ausência das bactérias *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* nos grupos 1 e 2.

	<i>Porphyromonas gingivalis</i>		<i>Tannerella forsythia</i>		<i>Treponema denticola</i>	
	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim
G1	5 (26,3%)	14 (73,7%)	5 (26,3%)	14 (73,7%)	9 (47,4%)	10 (52,6%)
G2	10 (50%)	10 (50%)	10 (50%)	10 (50%)	11 (55%)	9 (45%)
Total	15 (38,5%)	24 (61,5%)	15 (38,5%)	24 (61,5%)	20 (51,3%)	19 (48,7%)
p-valor*	0,2339		0,2339		0,8759	

*Teste: Qui-quadrado

Na tabela 3, pode-se observar a presença e ausência das bactérias nos grupos I e II. Foram presentes 24 crianças e jovens com *Porphyromonas gingivalis* (Grupo 1: 14 e Grupo 2: 10), 24 com *Tannerella forsythia* (Grupo 1: 14 e Grupo 2: 10) e 19 com *Treponema denticola* (Grupo 1: 10 e Grupo 2: 9). Não se observou associação entre a presença dessas bactérias e os grupos estudados ($p > 0,05$).



5 Discussão

5 DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo mostraram que o índice de higiene oral é pior nas crianças e jovens com acometimento neurológico (paralisia cerebral ou síndrome genética), disfagia orofaríngea e uso de gastrostomia. Tal achado pode ser explicado pelo fato de que crianças e jovens com acometimento neurológico apresentam déficits que abrangem desde as alterações cognitivas e motoras como também por limitações sociais. (JAWADI *et al.*, 2004; CARVALHO *et al.*, 2011; MORALEZ-CHAVES *et al.*, 2014; ASHIRY *et al.*, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2016; WYNE *et al.*, 2017; MAKKAR *et al.*, 2018).

Este estudo voltou-se para o déficit da deglutição e tal achado confirmou a hipótese deste estudo de que o índice de higiene oral é pior em crianças e jovens com acometimento neurológico em uso de via alternativa de alimentação (gastrostomia) quando comparadas às crianças e jovens com acometimento neurológico e alimentação por via oral. E evidenciou que a variável via de alimentação gastrostomia impactou como aspecto negativo, piorando a higiene oral dessa população. Porém, quando se determina a conduta de via alternativa de alimentação, é com o objetivo de trazer melhoria na saúde da criança e jovem com acometimento neurológico e disfagia. E, diante desse achado, questiona-se por que a via alternativa altera a saúde bucal.

Uma explicação para esse achado é por meio do índice de higiene oral, que permitiu a análise da presença de placa bacteriana e cálculo dental na dentição permanente ou decídua. E os resultados evidenciaram que é maior a presença de cálculo nas crianças e jovens que se alimentam por via alternativa (gastrostomia). Estudos das décadas passadas já traziam fortes evidências sobre o aumento da formação de cálculo dental em pacientes com acometimento neurológico e uso de via alternativa de alimentação (LITTLETON *et al.*, 1970; KLEIN; DICKS, 1984; DICKS *et al.*, 1991; JAWADI *et al.*, 2004).

O aumento de cálculo dental explica a piora no índice de higiene oral nas crianças e jovens com acometimento neurológico, disfagia e uso de via alternativa para alimentação (gastrostomia), pois o aumento do cálculo está associado, entre alguns fatores, à não oferta de alimentos por via oral, já que os alimentos, quando presentes na cavidade oral, permitem o equilíbrio na composição da saliva, como também do pH salivar (HOSHINO *et al.*, 2004; LIMA *et al.*, 2017; SAITO *et al.*, 2018).

Outra explicação é que, em crianças que se alimentam por gastrostomia, a eliminação parcial ou total das forças mecânicas intrabucais, que ocorrem durante a mastigação, permite a deposição de placa bacteriana patogênica e cálculo dental; esse cenário exerce uma influência

negativa nas condições bucais, em particular nos índices de higiene oral em indivíduos com gastrostomia (PREVITALI *et al.*, 2009).

Neste estudo, analisou-se também o pH da saliva e os resultados evidenciaram que as crianças e jovens com acometimento neurológico e uso de gastrostomia apresentaram pH mais básico quando comparadas às crianças e jovens com acometimento neurológico e alimentação por via oral. A literatura também apresenta evidências que corroboram com esse resultado. Estudo realizado com 25 pacientes com paralisia cerebral, 15 em uso de gastrostomia e 10 por via oral, evidenciou também o pH mais básico nos indivíduos em uso de gastrostomia. E concluíram que os parâmetros salivares dos pacientes com paralisia cerebral e submetidos à gastrostomia são significativamente aumentados comparados à saliva de pacientes com alimentação por via oral. E que tal achado pode explicar o acúmulo excessivo de cálculo dental, embora a alimentação seja exclusivamente via gastrostomia (FERREIRA *et al.*, 2016).

Em outro estudo, os autores relataram que o pH da saliva nos indivíduos em uso de via alternativa de alimentação é mais básico devido à ausência de alimentos na cavidade oral. De acordo com a literatura, quando o pH da placa está acima de 5,5, o fluido da placa torna-se supersaturado e tende a depositar mineral, uma situação que ocorre em pacientes que são alimentados por via alternativa (gastrostomia) e sua placa não é exposta a carboidratos fermentáveis (HIDAS *et al.*, 2010).

As evidências em relação ao pH ser mais básico na população com acometimento neurológico e uso de gastrostomia, como já citado acima, sugerem que a ausência de alimentos na cavidade oral pode levar à mudança do pH da saliva. Tal mecanismo pode ser explicado também pela fisiologia da saliva, que apresenta componentes orgânicos e inorgânicos, a parte inorgânica modula o processo de desmineralização e remineralização e capacidade tampão da saliva e seu pH são modulados por produtos de nitrogênio, como amônia e ureia, bicarbonatos e fosfatos (AFRAMIAN *et al.*, 2006, SAITO, 2018).

Já em relação ao fluxo salivar, também analisado neste estudo, não se encontrou diferença entre as crianças e jovens com acometimento neurológico e uso de gastrostomia quando comparados às crianças e jovens com acometimento neurológico e via oral de alimentação. Em ambos os grupos, o fluxo salivar apresentou-se dentro dos parâmetros da normalidade, já que os valores de referência considerados normais para população saudável adulta são 0,25-0,35ml/mim e em crianças uma hipersalivação é considerada quando o fluxo salivar é superior a 1,6ml/min (FEJERSKOV; KIDD, 2003; KAKODKAR *et al.*, 2006).

Na tentativa de discutir tal achado, deparou-se com pouca evidência na análise do fluxo salivar em crianças e jovens com acometimento neurológico e uso de via alternativa de

alimentação. E, na sua maioria, os estudos analisam a quantidade de sialorreia e qual tratamento é mais benéfico para essa população (ERASMUS *et al.*, 2009; HEGDE *et al.*, 2009; REID *et al.*, 2012; DIAS *et al.*, 2016). Uma tese do ano de 2012 comparou o fluxo salivar de pacientes adultos com acometimento neurológico e uso de via alternativa de alimentação e não encontrou diferença no fluxo salivar entre os pacientes com uso de via alternativa e via oral de alimentação (CORREIA, 2012).

Os estudos que analisam o fluxo salivar, na sua maioria, são para correlacionar com a presença da sialorreia. Alguns estudos referem-se ainda à redução na taxa de fluxo salivar e capacidade tampão da saliva, o que leva a supor a possibilidade de comprometimento da glândula salivar na paralisia cerebral espástica. E relatam que a presença de sialorreia não é devido à produção em excesso da saliva, mas sim devido à presença da disfagia orofaríngea, alteração sensorial e disfunção oromotora. Porém, apontam que mais estudos devem ser realizados para investigar a possível disfunção autonômica, hipo-hidratação e/ou comprometimento da função das glândulas salivares em indivíduos com acometimento neurológico (SANTOS *et al.*, 2010, SUBRAMANIAM *et al.*, 2010).

Assim, pode-se dizer que os achados deste estudo corroboram com a literatura em relação ao fluxo salivar não se apresentar aumentado em relação à normalidade, mas, quanto a não haver diferença entre as crianças e jovens com acometimento neurológico com e sem gastrostomia, não encontraram evidências. Contudo, os achados deste estudo, por não haver diferença entre os grupos gastrostomizados e não gastrostomizados, sugerem que o fluxo salivar nessa população não é modificado pela presença ou não da via alternativa de alimentação.

Em relação à análise das bactérias presentes na cavidade oral, os resultados deste estudo evidenciaram que as três bactérias estão presentes na cavidade oral das crianças e jovens com acometimento neurológico sem diferença entre os grupos com gastrostomia e via oral de alimentação. A literatura aponta essas três bactérias geralmente presentes na cavidade oral de crianças saudáveis e com acometimento neurológico, como também na cavidade oral de adultos (PAPAIOANNOU *et al.*, 2009; CARRADA *et al.*, 2016). Tais bactérias são consideradas espécies do chamado “complexo vermelho” e são conhecidas por serem bactérias periodontopatogênicas, agentes causadores da periodontite e altamente associados à sua gravidade. (BODET *et al.*, 2006; NAKA *et al.*, 2009). E há uma tendência de que, na presença das três bactérias, haja relação com a piora do estado de saúde periodontal (MINEOKA *et al.*, 2008). Outro estudo indica que *Porphyromonas gingivalis* é um achado raro na saliva de crianças e adultos jovens periodontalmente saudáveis, mas frequente na saliva de pacientes adultos com periodontite (MÄTTÖ *et al.*, 1997).

Diante do que a literatura já evidenciou, este estudo levantou a hipótese de que as crianças com acometimento neurológico e uso de gastrostomia apresentariam piora na higiene oral e, conseqüentemente, maior presença de tais bactérias devido ao aumento do cálculo dental. Porém, essa hipótese não se confirmou e uma explicação que pode ser levantada é em relação ao número da amostra estudada e também pelo exposto, que mesmo a população sem acometimento neurológico apresenta tais bactérias na cavidade oral. Um estudo do ano de 1997 analisou a microbiota oral em crianças com e sem gastrostomia e não encontrou diferença na presença das bactérias analisadas, entre elas as três bactérias analisadas neste estudo e concluiu que o consumo de alimentos por via oral não é fator determinante para o estabelecimento da microbiota oral de crianças (CHEN *et al.*, 1997).

As evidências científicas relacionadas à análise dessas três bactérias na cavidade oral de crianças e jovens com acometimento neurológico e uso de via alternativa de alimentação (gastrostomia) são escassas. Um estudo de revisão sistemática e metanálise do ano de 2020 apresentou que os estudos envolvendo saúde bucal e paralisia cerebral são voltados para análise do índice de higiene oral, má oclusão e cárie (BENSI *et al.*, 2020). Outro estudo recente analisou a saúde oral em crianças com acometimento neurológico como paralisia cerebral, Síndrome de Down e autismo, mas o método envolveu o índice de higiene oral e cárie, sem avaliação de bactérias na cavidade oral (MAKKAR *et al.*, 2018). Na sua maioria, são estudos que analisam essas três bactérias na cavidade oral de crianças com acometimento neurológico como na Síndrome de Down, nos quais se evidencia que a combinação bacteriana mais frequentemente identificada é a presença do complexo vermelho (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*) (SAKELLARI *et al.*, 2001; MARTINEZ-MARTINEZ *et al.*, 2013).

Encontrou-se na literatura um resumo apresentado em anais de congresso que se aproxima do método utilizado neste estudo. Porém, por ser resumo, não esclarece todo o método utilizado, mas evidencia que indivíduos com acometimento neurológico e uso de via alternativa de alimentação apresentam maior prevalência de microrganismos periodontopatógenos do que pacientes com alimentação por via oral, tornando necessário o estabelecimento de medidas de saúde bucal específicas para esses pacientes (SECAMILLI *et al.*, 2012).

Assim, diante do exposto, nota-se que existem lacunas nas evidências científicas tanto no que está relacionado ao fluxo salivar como nas análises das três bactérias, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, quando se busca comparar crianças e jovens com acometimento neurológico e uso de via alternativa de alimentação. Porém, este estudo trouxe respostas que podem auxiliar tanto na compreensão de que são necessárias

medidas preventivas no cuidado da higiene oral de crianças e jovens com acometimento neurológico e uso de via alternativa de alimentação, como também na confirmação de que crianças e jovens com acometimento neurológico e uso de gastrostomia apresentam pior índice de higiene oral, maior prevalência de cálculo dental e maior pH salivar devido à ausência de alimento na cavidade oral. E tais achados levantam um novo raciocínio, o de que se for possível a introdução de alimentos na cavidade oral, mesmo que para estímulos na deglutição de saliva, proporcionará mudanças na composição da saliva, no pH e, conseqüentemente, na saúde oral da criança e do jovem com acometimento neurológico e uso de via alternativa de alimentação.

Todavia, este estudo apresenta limitações que não permitem responder todas as perguntas. Uma delas é que não houve o grupo de crianças e jovens sem acometimento neurológico, o qual possibilitaria a comparação e melhor compreensão dos achados. E também o número da amostra, sendo maior, pode apresentar outras diferenças significativas. Assim, são necessários estudos futuros que possam discutir mais tais achados.

Apesar das limitações, este estudo trouxe contribuições para o aperfeiçoamento nos cuidados da saúde dessa população, como a atenção odontológica de rotina e também o olhar da equipe multiprofissional, envolvendo médico, fonoaudiólogo, enfermeiro, dentista, nutricionista, na busca de maximizar os tratamentos e oferecer melhora na qualidade de vida tanto das crianças e jovens com acometimento neurológico como também de suas famílias.



6 Conclusão

6 CONCLUSÃO

As crianças e jovens com acometimento neurológico e disfagia orofaríngea e uso de gastrostomia apresentaram pior índice de higiene oral, maior presença de cálculo dental e maior pH salivar. Quanto às bactérias, tanto as crianças e jovens em uso de gastrostomia como aqueles que se alimentam por via oral apresentaram na cavidade oral as três bactérias analisadas.



Referências

REFERÊNCIAS

AFONSO, D. **Tempo de trânsito oral e estado nutricional na criança e adolescente com acometimento neurológico e indicação de gastrostomia**. 2018. 65 f. Dissertação (Mestrado em Fonoaudiologia). Faculdade de Filosofia e Ciências, Universidade Estadual Paulista (UNESP). Marília. 2018.

AFRAMIAN, DJ; DAVIDOWITZ, T; BENOLIEL, R. The distribution of oral mucosal pH values in healthy saliva secretors. **Oral Diseases**, Jerusalem, Israel, v. 12, n. 4, p.3- 420, 2006.

ARAÚJO, DS. **Avaliação da composição Bioquímica e Microbiológica salivar de adolescents com sobrepeso e obesidade**. 75 F. Dissertação (Mestrado em Odontologia)-Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2018.

ARVEDSON, JC. Feeding children with cerebral palsy and swallowing difficulties. **Eur J Clin Nutr**, Inglaterra, v. 67, n.2 p.9-12, dec. 2013.

ASHIRY, EAE.; ALAKI, SM; NOURI, SM. Oral Health Quality of Life in Children with Cerebral Palsy: Parental Perceptions. **The Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, v. 40, n. 5, 2016.

AYARS, GH; ALTMAN, LC; FRETWELL, MD. Effect of decreased salivation and pH on the adherence of Klebsiella species to human buccal epithelial cells. **Infect Immun**, Estados Unidos, v.38, n.1 p.179-182, oct. 1982.

BODET, C; CHANDAD, F; GRENIER, D. Potencial patogênico de *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia*, o complexo bacteriano vermelho associado à periodontite. **Pathologie Biologie**, Quebec, Canadá, v. 55, p. 154-162, Jul. 2007.

BROWN, LC; COPELAND, S; DAILEY, S; DOWNEY, D; PETERSEN, MC; STIMSON, C; DYKE, DCV. Feeding and swallowing dysfunction in genetic syndromes. **Dev Dis Res Rev**, Estados Unidos, v.14, n.2, p.147-157, 2008.

BURATINI, J; TEIXEIRA, AB; COSTA, IB; GLAPINSKI, VF; PINTO, MGL; GIOMETTI, IC; BARROS, CM; CAO, M; NICOLA, ES; PRICE, CA. Expression of fibroblast growth factor-8 and regulation of cognate receptors, fibroblast growth factor receptor-3c and -4, in bovine antral follicles. **Society for Reproduction and Fertility ISSN**, Botucatu/SP, v.130, p. 343-350, 2005.

CARRADA, CF; SCALIONI, FAR; CESAR, DE; DEVITO, KL; RIBEIRO, LC; RIBEIRO, RA. Salivary Periodontopathic Bacteria in Children and Adolescents with Down Syndrome. **PLoS ONE** 11. Juiz de Fora/MG, Oct. 2016.

CARVALHO, RB; MENDES, RF; PRADO JUNIOR, RR, MOITA NETO, JM. Oral health and oral motor function in children with cerebral palsy. **Spec Care Dentist**. v. 31, n. 2, 58-62, 2011.

CHAVES NETO, AH; SASSAKI, KT; NAKAMUNE, ACMS. Protein phosphatase activities in the serum and saliva of healthy children. **RPG Rev Pós Grad**, Araçatuba/SP, v.18, n.02, Abr./Jun. 2011.

CHEN, C; ASHIMOTO, A; SANGSURASAK, S; FLYNN, MJ; SLOTS J. Oral Food Consumption and Subgingival Microorganisms: Subgingival Microbiota of Gastrostomy Tube-Fed Children and Healthy Control. **J Periodontol**. Estados Unidos, v.68, n.12, p: 1163-1168. Dec. 1997.

COLA, PC; AFONSO, D; BALDELINI, CGR; RUBIRA, CJ; AGOSTINHO, F; SILVA, RG. Tempo de trânsito oral na criança com acometimento neurológico indicada a gastrostomia. **Codas**, Marília/SP, v.32, n.2, p.2018-248, 2020.

COLVER, A; FAIRHUSRT, C; PHAROAH, PO. Cerebral palsy, Inglaterra, v.383, n.5, p.1240-9. **Lancet**. Apr. 2014.

CORREIA, ASC. **Saúde bucal de pacientes com desordens neurológicas e nutrição enteral – análise microbiológica, bioquímica e protocolo de prevenção**. 2012. 156 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba. Araçatuba, 2012.

CUNHA-CORREIA, AS; RANIERI, RV; SCHWEITZER, CM; AGUIAR, SMHCÁ; GAETTI, EJJ. Saúde bucal de pacientes com desordens neurológicas. **Arch Health Invest**, Araçatuba/SP, v.5 (Spec Iss 2): p.7-58, 2016.

DIAS, BLS; FERNANDES, AR; MAIA FILHO, HS. Sialorreia em crianças com paralisia cerebral. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 92, n. 6, p. 549-558, Nov/Dec. 2016.

DICKS, JL; BANNING, JS. Evaluation of calculus accumulation in tube-fed, mentally handicapped patients: the effects of oral hygiene status. **Spec Care Dentist**. 11(3):104-6, May-Jun.1991.

DOUGHERTY, NJ. A review of cerebral palsy for the oral health professional. **Dent Clin North Am**, Estados Unidos, v.53, n.2, p.329-38, Apr. 2009.

ERASMUS, EC; HOLLY, K; ROTTEVEEL, LJC; JONGERIUS, PH; VAN DEN HOOGEN, FJ; ROELEVELD, N; ROTTEVEEL, JJ. Babando na paralisia cerebral: hipersalivação ou controle motor oral disfuncional. **Nijmegen Multidisciplinary Drooling Center**, Radboud University Nijmegen Medical Center, Nijmegen, Holanda, v.51, p.454-459, Fev. 2009.

FAVERI, M; FIGUEIREDO, LC; DUARTE, PM; MESTINIK, MJ; MAYER, MP; FERES, M. Microbiological profile of untreated subjects with localized aggressive periodontitis. **J Clin Periodontol**, Guarulhos/SP, v.36, n.9, p.739-49, Sep. 2009.

FEJERSKOV, O; KIDD, E. Dental caries: the disease and its clinical management. **Oxford: Blackwell Munksgaard**, Inc, 2003.

FERREIRA, ADSP; SILVA, HAB; BUZALAF, MAR; KATO, MT; MARTA, SN. Alterações salivares em pacientes submetidos à gastrostomia. **Archives of Health Investigation**, Bauru/SP, v.5, p.92, May. 2016.

GAUDERER, MW. Percutaneous endoscopic gastrostomy and the evolution of contemporary long-term enteral access. **Clin Nutr**, Estados Unidos, v.21, n.2, p.103-10, Apr. 2002.

GREENE, JC; VERMILLION, JR. The simplified oral hygiene index. **J Am Dent Assoc**, Inglaterra, v.68, p.7-13, Jan. 1964.

GUIMARÃES, G; FRANCO, GCN; CORTELLI, JR; COGO, K; COSTA, FO; AQUINO, DR; LUSTOSA, A; CORTELLI, SC. Portadores do HIV apresentam pior condição clínica periodontal e maior prevalência de *Porphyromonas gingivalis* e *Tannerella forsythia*. **Rev Odontol UNESP**, Belo Horizonte/MG, v.41, n.1, p.15-21, Jan-Fev. 2012.

GUYTON, AC; HALL, EJ. **Textbook of Medical Physiology**. Twelfth Edition. Saunders Elsevier, 2011.

HEGDE, AM; PANI, SC. Drooling of saliva in children with cerebral palsy—etiology, prevalence, and relationship to salivary flow rate in an Indian population. **Special Care in Dentistry**, Índia, v. 29, n. 4, p. 163-168, Jun. 2009.

HIDAS, A; COHEN, J; BEERI, M; SHAPIRA, J; STEINBERG, D; MOSKOVITZ, M. Salivary bacteria and oral health status in children with disabilities fed through gastrostomy. **International Journal of Paediatric Dentistry**. Inglaterra, v. 20, n. 3, p: 179-185. May. 2010.

HOLT, S; EBERSOLE, JL. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the ‘red complex’, a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. **Periodontology 2000**, v. 38, n. 1, p. 72-122, Apr. 2005.

HOSHINO, T; KAWAGUCHI, M; SHIMUZI, N; OOSHIMA, T; FUJIWARA. Detecção de T. PCR e identificação de estreptococcus orais em amostras de saliva usando gff genes. **Diagn Microbil Infect Dis**, 48: 195-199, 2004.

JAWADI, AH; CASAMASSIMO, PS; GRIFFEN, A; ENRILE, B; MARCONE, M. Comparison of oral findings in special needs children with and without gastrostomy. **Pediatric Dent**, v. 6, n. 3, p. 283-88, 2004.

KAKODKAR, K; SCHROEDER, JW. Pediatric dysphagia. **Pediatr Clin North Am**, v. 60, n. 4, p. 969-77, 2013.

KEBSCHULL, M; PAPAPANOU, PN. Periodontal microbial complexes associated with specific cell and tissue responses. **J Clin Periodontol**, Estados Unidos, v.38, n.11, p.17-27, Mar. 2011.

KLEIN, FK; DICKS, JL. Evaluation of accumulation of calculus in tube-fed mentally handicapped patients. **J Am Dent Assoc.** 108(3), p.352-4, mar. 1984.

LAGOS-GUIMARÃES, HNC; TEIVE, HAG; CELLI, A; SANTOS, RS; ABDULMASSIH, EMS; HIRATA, GC; GALLINEA, LF. Aspiration Pneumonia in Children with Cerebral Palsy after Videofluoroscopic Swallowing Study. **International archives of otorhinolaryngology.** v.20, n.2, p.132-37, São Paulo, Apr/Jun 2016.

LEONE, CW; OPPENHEIM, FG. Physical and chemical aspects of saliva as indicators of risk for dental caries in humans. **J Dent Educ.** v. 65, n. 10, p.1054–1062, Maryland, March 2001.

LIMA, EDA; FACUNDO, AGLF; CARVALHO, ACLC; SILVA, EB; GOMES, CF; CABRAL, GM. Saliva e Hidratação. Importância da quantidade e da qualidade da saliva para manutenção da condição bucal satisfatória em pacientes com paralisia cerebral. **Revista Campo do Saber**, Cabedelo / PB, v. 3, n. 1, 2017.

LITTLETON, NW; KAKEHASHI, S; FITZGERALD, FJ. Study of differences in the occurrence of dental caries in caucasian and negro children. **J. dent. Res.** v. 49, n. 4, p. 742-51, jul/aug. 1970.

LOUREIRO, ACA; COSTA, FO; COSTA, JE. The impact of periodontal disease on the quality of life of individuals with Down syndrome. **Downs Syndr Res Pract**, Belo Horizonte/MG, v.12, n.1, p.50-4, Jul. 2007.

MAKKAR, H; REYNOLDS, MA; WADHAWAN, A; DAGDAG, A; MERCHANT, AT; POSTOLACHE, TT. Periodontal, metabolic, and cardiovascular disease: Exploring the role of inflammation and mental health. **Pteridines**, EUA, v. 29, n. 1, p. 124-163, fev. 2018.

MARTINEZ-MARTINEZ, RE; LOYOLA-RODRIGUEZ, JP; BONILLA-GARRO, SE; PATIÑO-MARIN, N; HAUBEK, D; AMANO, A; POULSEN, K. Characterization of

Periodontal Biofilm in Down Syndrome Patients: A Comparative Study. **The Journal of Clinical Pediatric Dentistry**. San Luis Potosí, México, v. 37, n. 3, p. 289-95, 2013.

MATSUI, MY; FERRAZ, MJPC; GOMES, FM; HIRAOKA, CM. Alterações sialoquímicas e sialométricas de pacientes com paralisia cerebral: uma revisão de literatura. **Rev. CEFAC**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 159-164, jan./fev. 2011.

MATTO, J; SAARELA, M; ALALUUSUA, S; OJA, V; JOUSIMIES-SOMER, H; ASIKAINEN, S. Detection of *Porphyromonas gingivalis* from Saliva by PCR by Using a Simple Sample-Processing Method. **Journal of Clinical Microbiology**, Helsinki, Finland, v. 36, n. 1, p. 157-160, Jan/1998.

MINEOKA, T; AWANO, S; RIKIMARU, T; KURATA, H; YOSHIDA, A; ANSAI, T; TAKEHARA, T. O desenvolvimento específico do local da doença periodontal está associado a níveis aumentados de *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, e *Tannerella forsythia* na placa subgingival. **J Periodontol** v. 79, n. 4, Apr. 2008.

MORALES-CHÁVEZ, M; RADA-BERROTERAN, A; ARCILA-RAMOS, L. Periodontal status of mentally handicapped school children in Caracas, Venezuela. A cross-sectional study. **J Oral Res**. Venezuela, v.3, n.3, p: 156-161. Jan. 2014.

NAKA, S; YAMANA, A; NAKANO, K; OKAWA, R; FUJITA, K; KOJIMA, A. Distribuição de espécies bacterianas periodontopatogênicas em crianças japonesas com deficiências de desenvolvimento. **BMC Oral Health**, Suita, Japão, v. 9, n.24, Sep. 2009.

NOVAK, I; HINES, M; GOLDSMITH, S; BARCLAY, R. Clinical prognostic messages from a systematic review on cerebral palsy. **Pediatrics**, Austrália, v.130, n.5, p.1285-312, Nov. 2012.

OLIVEIRA, SM; BURGOS, MGPA; SANTOS, EMC; PRADO, LVS; PETRIBÚ, MMV; BOMFIM, FMTS. Gastrointestinal complications and protein-calorie adequacy in intensive care unit enteral nutrition patients. **Rev Bras Ter Intensiva**, Recife/PE, v.22, n.3, p.270-73, 2010.

PAPAIIOANNOU, W; GIZANI, S; HAFFAJEE, AD; QUIRYNEN, M; MAMAI-HOMATA, E; PAPAGIANNOULIS, L. The microbiota on different oral surfaces in healthy children. **Oral Microbiol Immunol**, Atenas, Grécia, v. 24, p. 183–189, Oct 2008.

PINTO, JW. Diagnóstico pré-natal. **Ciência e saúde coletiva**, Campinas/SP, v.7, n.1, p.139-57, 2002.

PINTO, VV; ALVES, LAC; MENDES, FM; CIAMPONI, AL. The nutritional state of children and adolescents with cerebral palsy is associated with oral motor dysfunction and social conditions: a cross sectional study. **BMC neurology**, Estados Unidos, v.16, n.1, p.1, Apr 2016.

PREVITALI, EF; SANTOS, MTBR. Cárie Dentária e Higiene Bucal em Crianças com Paralisia Cerebral Tetraparesia Espástica com Alimentação por Vias Oral e Gastrostomia. **Pesquisa. Bras. odontopediatria clín. Integr.** Brasil, v. 9, n. 1, p: 43-47. Jan/Abr. 2009.

RAMSEIER, CA; KINNEY, JS; HERR, AE; BRAUN, T; SUGAI, JV; SHELBURNE, CA; RAYBURN, LA; TRAN, HM; SINGH, AK; GIANNOBILE, WV. Identification of pathogen and host-response markers correlated with periodontal disease. **J Periodontol**, Estados Unidos, v.80, n.3, p.436-46, Mar. 2009.

R CORE TEAM R. A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**. Vienna, Áustria. 2019.

REDDIHOUGH, DS; COLLINS, KJ. The epidemiology and causes of cerebral palsy. **Aust J Physiother**, Austrália, v.49, n.1, p.7-12. 2003.

REID, SM; MCCUTCHEON, J; REDDIHOUGH, DS; JOHNSON, H. Prevalence and predictors of drooling in 7- to 14-year-old children with cerebral palsy: a population study. **Dev Med Child Neurol**, Austrália, v.54, n.11, p.1032-6, Nov. 2012.

ROSENBAUM, P; PANETH, N; LEVITON, A; GOLDSTEIN, M; BAX, M; DAMIANO, D; DAN, B; JACOBSSON, B. A report: the definition and classification of cerebral palsy. **Dev Med Child Neurol**, Canadá, v.49, n.6, p.480, Jun 2007.

SAITO, CS. **Efeito da gastrostomia na saúde oral e na composição salivar de crianças com paralisia cerebral.** Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Uberlândia. 38f, 2018.

SAKELLARI, D; BELIBASAKIS, G; CHADJIPADELIS, T; ARAPOSTATHIS, K; KONSTANTINIDIS, A. Supraginival and subgingival microbiota of adult patients with Down's syndrome. Changes after periodontal treatment. **Oral Microbiol Immunol**, v. 16, p. 376–382, 2001.

SANTOS, MTR; SIQUEIRA, WL; NICOLAU, J. Amylase and peroxidase activities and sialic acid concentration in saliva of adolescents with cerebral palsy. **Quintessence Int**, São Paulo, v.38, n.6, p.467-72, Jun. 2007.

SANTOS, MT; BATISTA, R; GUARÉ, RO; LEITE, MF; FERREIRA, MC; DURÃO, MS; NASCIMENTO, AO; JARDIM, JR. Salivary osmolality and hydration status in children with cerebral palsy. **J Oral Pathol Med**, São Paulo, v.40, n.7, p.582-6, Aug. 2011.

SECAMILLI, GA; RANIERI, RV; OKAMOTO, AC; GAETTI-JARDIM, JRE; AGUIAR, SMHCAD; CUNHA-CORREIA, AS. Análise microbiológica por cultura e PCR da cavidade oral e orofaringe de pacientes com alimentação enteral. **Archives of health investigation**. v. 1, suppl 1, Out. 2012.

SERRARINE, ACP; SILVA, MRM. Validação de um método simplificado de avaliação do pH salivar em crianças. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr**, João Pessoa/PB, v.9, n.2, p.217-21, Maio/Ago. 2009.

SOCRANSKY, SS; HAFFAJEE, AD; CUGINI, MA; SMITH, C; KENT, RLJ. Microbial complexes in subgingival plaque. **Journal of clinical periodontology**, Boston, Estados Unidos, v. 25, n. 2, p. 134-144, Feb. 1998.

SUBRAMANIAM, P; GIRISH, BKL; RODRIGUEZ, A. Relação dos Fatores de Risco Salivar com a Cárie Dentária em Crianças com Paralisia Cerebral. **The Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, Karnataka, Índia, v. 34, n. 4, p. 355-360, 2010.

SUSIN, FP; BORTOLINI, V; SUKIENNIK, R; MANCOPES, R; BARBOSA, LR. Perfil de pacientes com paralisia cerebral em uso de gastrostomia e efeito nos cuidadores. **Rev CEFAC**, São Paulo, v.14, n.5, p.933-42, 2012.

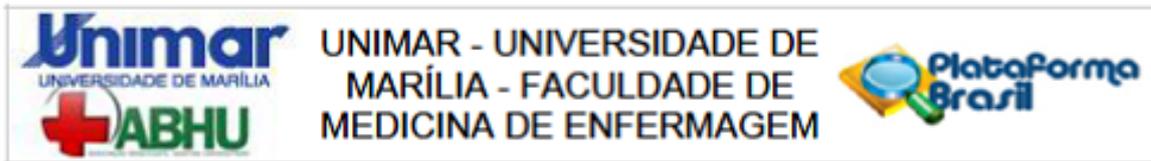
WARA-ASWAPATI, N; PITIPHAT, W; CHANCHAIMONGKON, L; TAWEECHASUPAPONG, S; BOCH, JA; ISHIKA,WA I. Red bacterial complex is associated with the severity of chronic periodontitis in a Thai population. **Oral Dis**, Tailândia, v.15, n.5, p.354-59, Jul. 2009.

WYNE, AH. *et al.* Dental caries and related risk factors in Saudi cerebral palsy children. **Neurosciences**. v. 22, n. 4, 2017.



ANEXO

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da saúde bucal em crianças com distúrbios neurológicos e nutrição enteral

Pesquisador: LIVIA PICCHI COMAR

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 24366419.3.0000.5496

Instituição Proponente: Associação de Ensino de Marília

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.682.759

Apresentação do Projeto:

Serão selecionados pacientes portadores de distúrbios neurológicos, em atendimento no "Projeto Amor de Criança" da UNIMAR, que mantém nutrição via enteral por sonda de gastrostomia. Serão selecionados pacientes portadores de distúrbios neurológicos, em atendimento no "Projeto Amor de Criança" da UNIMAR, que mantém

nutrição via enteral por sonda de gastrostomia. A amostra populacional será dividida em dois grupos de avaliação (n= 20): GRUPO 1- experimental:

pacientes portadores de distúrbios neurológicos recebendo nutrição por via enteral através de sonda de gastrostomia e GRUPO 2- controle:

pacientes com distúrbios neurológicos recebendo alimentação por via oral, com dieta normal triturada ou pastosa. Será realizada a coleta e análise

do fluxo salivar dos participantes por um intervalo de 10 minutos, e assim será calculado o índice do fluxo salivar não estimulado (FSNE). Logo após,

será realizada a aferição do pH salivar e então, a saliva será submetida à análise dos componentes salivares cálcio, fósforo e ácido úrico. Para a

análise da microbiota oral, será investigada a expressão do RNAm pela técnica da Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) de bactérias

específicas da microbiota oral, a partir da extração de DNA da saliva. Será testada a capacidade de amplificação dos fragmentos genéticos específicos para os microorganismos: Porphyromonas

Endereço: Av. Higino Muzzy Filho nº 1001 Bloco - IX - Sala- 935

Bairro: Campus Universitário

CEP: 17.525-902

UF: SP

Município: MARILIA

Telefone: (14)2105-4001

E-mail: cep@unimar.br



APÊNDICE

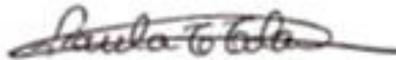
APÊNDICE A - Solicitação de Alteração do Título do Projeto de Pesquisa**Unimar***Universidade de Marília***ALTERAÇÃO DO TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA
DE ESTUDOS CLÍNICOS UNICÊNTRICOS EMULTICÊNTRICOS****DEVE SER DIGITADO**

Declaramos que o Projeto de Pesquisa: **"AVALIAÇÃO DA SAÚDE BUCAL EM CRIANÇAS COM DESORDENS NEUROLÓGICAS E NUTRIÇÃO ENTERAL"**, Aprovado pelo CEP/UNIMAR em 04/11/2019 sob o Protocolo nº 3.682.759, teve seu Título Alterado para **"ASPECTOS BIOQUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DA CAVIDADE ORAL DE CRIANÇAS E JOVENS COM ACOMETIMENTO NEUROLÓGICO E DISFAGIA OROFARÍNGEA"**, sem nenhuma alteração no seu Conteúdo Metodológico da época de apresentação para análise do CEP/UNIMAR.

A presente alteração foi efetuada somente para adequação do Título do Projeto de Pesquisa.

Por ser verdade firmo o presente documento.

Marília, 18 de Dezembro de 2020



Assinatura e Carimbo do Pesquisador Principal
RG 28216288-4
Fone Institucional (14) 2105 - 4000
E-mail paccola@hotmail.com

Paula T. T. Paccola
Fon. Institucional
019-2105-4000