

Frequência de *Campylobacter rectus* de recém-nascidos a idosos

Frequency of *Campylobacter rectus* throughout human lifespan

Camila Borges Fernandes¹

Davi Romeiro Aquino¹

Gilson Cesar Nobre Franco¹

Sheila Cavalca Cortelli¹

José Roberto Cortelli¹

Correspondência: camborges@yahoo.com.br

RESUMO

O objetivo do presente estudo transversal foi verificar a prevalência da bactéria *Campylobacter rectus* em indivíduos dentados e desdentados em diferentes faixas etárias, moradores do Vale do Paraíba. Para isso foram incluídos quarenta recém-nascidos (2,20 ± 1,30 meses), quarenta crianças (9,33 ± 1,99 anos), trinta adultos e idosos dentados (61,7 ± 7,05 anos) e trinta adultos e idosos desdentados (65,8 ± 6,69 anos). Foram coletadas amostras extrassulculares (mucosa da bochecha e dorso da língua) de toda a população; para os grupos dentados, foram também coletadas amostras intrassulculares (sulco ou bolsa periodontal). Todas as amostras foram processadas utilizando-se a reação em cadeia da polimerase. A frequência bacteriana foi analisada estatisticamente utilizando o teste Qui-Quadrado. Todos os grupos etários exibiram a presença da bactéria *C. rectus*, independentemente da presença dental (recém-nascidos 25,64%; crianças 92,50%, adultos e idosos dentados 93,33%; adultos e idosos desdentados 96,67%). Houve diferença estatística quando foram comparadas amostras coletadas do grupo de recém-nascidos com amostras dos demais grupos, para ambos os sítios extrassulculares ($p=0,001$). Ficou evidenciado o impacto da presença de dentes na colonização bacteriana bucal. A partir destes dados torna-se importante elaborar estratégias que possam reduzir a presença de microrganismos periodontopatogênicos, dentre eles o *C. rectus*, a fim de prevenir o desenvolvimento de doenças periodontais.

PALAVRAS-CHAVE: Prevalência. *Campylobacter rectus*. Bactéria. Grupos etários.

ABSTRACT

The aim of this cross-sectional study was to verify the prevalence of *Campylobacter rectus* in dentate and edentulous subjects of different ages living on Vale do Paraíba. The study included forty newborns (2.20 ± 1.30 months), forty children (9.33 ± 1.99 years of age), thirty dentate adults and elderly subjects (61.7 ± 7.05 years of age) and thirty edentulous adults and elderly subjects (65.8 ± 6.69 years of age). Extra-sulcus samples (cheek mucosa and dorsum of the tongue) were obtained from all subjects. In addition, subgingival samples (sulci or periodontal pockets) were collected from dentate subjects. All samples were analyzed using a bacterial DNA-specific polymerase chain reaction. Bacterial frequencies were statistically analyzed using Chi-square tests. All studied groups presented with *C. rectus*, irrespective of the presence of the teeth (newborns 25.64%, children 92.50%, dentate adults and elderly 93.33%, edentulous adults and elderly 96.67%). There was a statistically difference between newborns' samples and samples from all other groups for both extra-sulcus sites ($p=0.001$). The impact of the presence of teeth was confirmed on bucal microbiological colonizations. Therefore, it is important to make strategies to reduce periodontal pathogens, including *C. rectus*, to avoid the development of periodontal diseases.

KEY WORDS: Prevalence. *Campylobacter rectus*. Bacteria. Age groups.

¹ Universidade de Taubaté

INTRODUÇÃO

A doença periodontal é uma patologia predominantemente inflamatória crônica como consequência de inflamação e infecção bucal, que provoca destruição óssea e colágena, podendo até ser relatada como de ocorrência natural com a idade. A destruição periodontal é cumulativa e naturalmente irreversível, tanto que não é claro se a idade influencia a taxa de progressão da doença ou se apenas reflete o acúmulo da doença ao longo do tempo [1].

A periodontite não é considerada uma doença homogênea, mas, complexamente influenciada por susceptibilidades diferentes nos hospedeiros e/ou diversidades na virulência entre os organismos que colonizam os indivíduos [2].

Exames microbianos e clínicos revelam que bactérias específicas Gram-negativas são fatores patogênicos essenciais em vários tipos de doença periodontal. Estudos microbiológicos podem identificar pacientes e sítios periodontais sob atividade da doença e podem ajudar no entendimento das flutuações dos periodontopatógenos após o tratamento [3].

Campylobacter rectus é um patógeno periodontal móvel flagelado, Gram-negativo, microaerófilo, arredondado e não glicolítico [4]. Está presente em grandes números em bolsas periodontais profundas, sendo associado com doença periodontal em adultos e periodontite de progressão rápida [5-7]. Pode ser encontrado em crianças, independentemente da sua condição periodontal, distribuído amplamente pela cavidade bucal ou relacionado a estágios precoces da doença [8]. Segundo Miyamoto et al. [9], a presença de *C. rectus* está correlacionada com a existência de pelo menos uma das bactérias do complexo vermelho (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia*).

Em estudo epidemiológico transversal, Cortelli et al. [10] encontraram que enquanto a prevalência de determinadas espécies bacterianas foi reduzida com a perda do elemento dental, *C. rectus* permaneceu em frequência elevada em indivíduos edêntulos.

Assim, o objetivo do presente estudo foi verificar a prevalência de *C. rectus* em indivíduos em diferentes faixas etárias, dentados ou não.

MATERIAL E MÉTODO

Seleção da Amostra / Critérios de Inclusão e Exclusão

Para fazer parte do estudo, os indivíduos não deveriam apresentar doença sistêmica não controlada, ter feito uso de antibiótico nos seis meses anteriores ao início do estudo, ser imunocomprometido ou necessitar de profilaxia antibiótica para a realização do exame clínico ou microbiano.

Foram incluídos no estudo recém-nascidos com até cento e vinte dias de vida que estiveram em atendimento pediátrico no Hospital Escola da Faculdade de Medicina da Universidade de Taubaté (UNITAU), desde que não tivessem apresentado baixo peso ao nascer, ou nascido pré-termo. Participaram também crianças de seis a 13 anos (dentição mista presente), que não fizessem uso de aparelho ortodôntico, e que não passaram por tratamento periodontal nos 12 meses anteriores ao início do estudo. Também foram incluídos adultos e idosos acima de 55 anos subdivididos em dois grupos, dentados e desdentados, nunca fumantes, desde que não fizessem uso de nenhum tipo de prótese, que se inscreveram no serviço de triagem da Clínica Odontológica da UNITAU. Para compor o grupo dos indivíduos adultos/idosos desdentados, foram incluídos aqueles que assim estivessem, ou seja, desdentados, de um a três anos. E para os indivíduos adultos/idosos dentados, estes não deveriam ter realizado tratamento periodontal nos 12 meses anteriores ao início do estudo e deveriam apresentar no mínimo 16 dentes.

Anamnese

Foi explicado a cada participante, ou ao seu responsável, o objetivo do estudo, cujo projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade de Taubaté, sob o número 109/08. Todos os indivíduos que concordaram em participar do estudo, ou o seu responsável legal, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido. Durante a realização da anamnese, foram coletados os dados pessoais incluindo idade, gênero e as condições de saúde geral.

Exame Clínico, Sítios e Método de Obtenção das Amostras Bacterianas

O exame clínico e a coleta das amostras bacterianas foram realizados de acordo com as características da população de cada grupo. Os dois grupos desdentados, recém-nascidos e adultos/idosos, passaram por exame visual e as coletas bacterianas foram realizadas de sítios extrassulculares: mucosa jugal e dorso da língua com swab de algodão previamente umedecido com tampão Tris-EDTA (TE) (Bio-Rad®, Hercules, CA, EUA). As crianças de seis a 13 anos passaram por exame clínico com registro dos índices de placa visível (IPV) e índice de sangramento gengival (ISG), preconizados por Ainamo e Bay [11], dos sítios méso-vestibulares dos dentes 16, 11, 26, 36, 31 e 46. Em seguida foram realizadas coletas bacterianas extrassulculares (idem aos recém-nascidos e

adultos/ idosos desdentados) e coletas bacterianas intrassulculares, com cone de papel autoclavado nº 30 (Dentsply®, York, PA, EUA) dos mesmos dentes índices. Nos casos de ausência dos dentes determinados, foram obtidas amostras bacterianas intrassulculares dos dentes imediatamente adjacentes. Adultos/idosos dentados realizaram exame clínico periodontal completo com registro da profundidade de sondagem (PS), nível clínico de inserção, além dos IPV e ISG. Foram também realizadas coletas bacterianas extrassulculares (idem aos recém-nascidos e adultos/ idosos desdentados) e coletas bacterianas intrassulculares, com cone de papel autoclavado nº 30 (Dentsply®), dos sítios méso-vestibulares dos dentes previamente examinados que apresentaram as maiores medidas de PS, preferencialmente dentes não contíguos em hemiarcos opostos.

Quando da coleta intrassulcular, cada dente previamente selecionado foi isolado com roletes de gaze esterilizada e a placa bacteriana supragengival removida com algodão esterilizado. O cone de papel foi inserido na porção mais apical do sulco gengival/bolsa periodontal e aí mantido por sessenta segundos [7]. A partir de então, os cones de papel de cada indivíduo foram colocados em um único microtubo (Bio-Rad®) contendo 1 ml de solução de Ringer e mantidos a -20 °C até o seu processamento.

A obtenção dos dados microbianos foi realizada previamente aos procedimentos terapêuticos, quando indicados.

A sequência de passos laboratoriais de extração do DNA bacteriano das amostras, amplificação por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) do DNA extraído das amostras e a verificação através de eletroforese foram realizadas de acordo com Cortelli et al. [10]. O PCR empregado no presente estudo consiste em uma técnica qualitativa, indicando a presença ou ausência do microrganismo estudado.

Como tratamento estatístico dos dados, a frequência bacteriana foi analisada utilizando o teste Qui-Quadrado como auxílio do software BioEstat 5.0 (Belém-PA, Brasil). Os resultados foram considerados significantes com $p < 0,05$.

RESULTADOS

Todos os grupos etários estudados apresentaram *C. rectus*. As características da população quanto à idade e ao gênero encontram-se presentes no Tabela 1.

Tabela 1- Média (m) e desvio padrão (dp) da população estudada, de acordo com idade e gênero

	Recém Nascidos	Crianças	>55 anos Dentados	>55 anos Desdentados	Total
Masculino	24	20	11	14	69
Feminino	16	20	19	16	71
Total	40	40	30	30	140
(m ± dp)	(2,20 ± 1,30 meses)	(9,33 ± 1,99 anos)	(61,7 ± 7,05 anos)	(65,8 ± 6,69 anos)	

Os dois grupos de indivíduos dentados apresentaram perfil periodontal sem doença. Quando foram comparadas as frequências intrassulculares de *C. rectus*, não houve diferença estatística, com valores de 95% e 90% para crianças e adultos / idosos, respectivamente.

As prevalências de *C. rectus* em amostras da mucosa da bochecha e do dorso da língua entre os quatro grupos encontram-se dispostas nas Figuras 1 e 2, respectivamente.

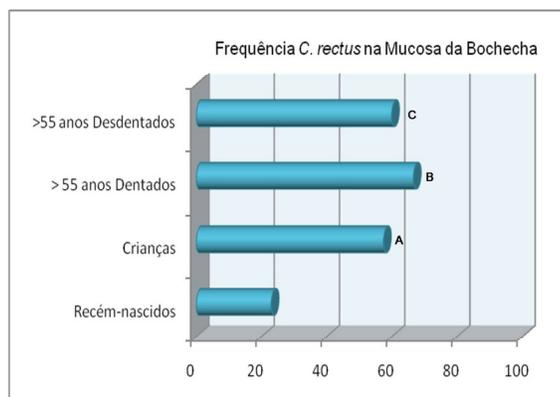


Figura 1- Comparação da presença de *C. rectus* em amostras da mucosa da bochecha. A: Recém-nascidos X Crianças ($p=0,001$); B: Recém-nascidos X >55 anos Dentados ($p=0,001$); C: Recém-nascidos X >55 anos Desdentados ($p=0,001$)

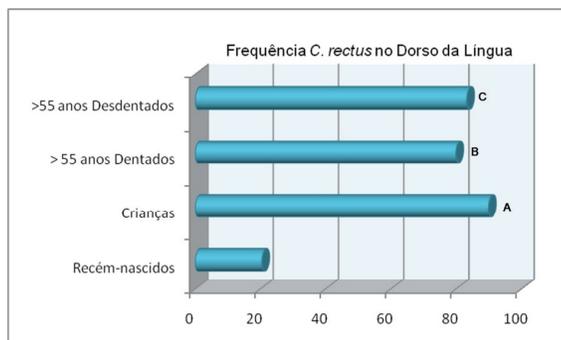


Figura 2- Comparação da presença de *C.rectus* em amostras do dorso da língua. A: Recém-nascidos X Crianças ($p=0,001$); B: Recém-nascidos X >55 anos Dentados ($p=0,001$); C: Recém-nascidos X >55 anos Desdentados ($p=0,001$)

DISCUSSÃO

A cavidade bucal apresenta variados sítios favoráveis à colonização por microrganismos, que podem representar fonte de infecção e reinfecção bacteriana. Sabendo-se que esta colonização inicia-se nos primeiros instantes de vida, quando o recém-nascido entra em contato com o meio externo e com outros indivíduos [12], podendo perdurar até a senilidade mesmo na ausência de elemento dental [10], faz-se necessário o conhecimento da prevalência dos patógenos que podem representar risco de periodontite ou peri-implantite no futuro.

Foi constatada diferença estatística apenas quando se compararam amostras coletadas dos indivíduos recém-nascidos com amostras de participantes dos demais grupos. Este fato evidencia o impacto da presença dental na colonização bacteriana bucal.

Em nosso estudo, todos os grupos etários, independentemente da presença do elemento dental, apresentaram *C. rectus* em todos os sítios analisados. A colonização precoce da cavidade bucal de recém-nascidos e a persistência de microrganismos mesmo após a extração total dos dentes, nos indivíduos com idade superior a 55 anos, confirmam achados anteriormente descritos na literatura de que estas bactérias podem aderir-se aos tecidos moles devido à existência de fímbrias [13] e S-layer [14].

Considerando-se apenas os dois grupos desdentados, os indivíduos com idade avançada apresentaram valores de prevalência superiores de *C. rectus*, com diferença estatística nos dois sítios extrassulculares ($p=0,001$). Cortelli et al. [15] também encontraram maiores taxas de frequência em indivíduos idosos desdentados quando comparados aos recém-nascidos, utilizando-se amostras de dorso da língua e mucosa da bochecha. Estes autores supuseram que as razões para serem encontrados valores mais elevados no grupo de faixa etária mais alta teriam sido fatores tais como a baixa descamação epitelial das mucosas bucais, menor fluxo salivar quando comparado aos recém-nascidos, além do fato das perdas dentárias terem sido em decorrência de periodontite.

Quando da comparação dos sítios extrassulculares entre os recém-nascidos e as crianças de seis-13 anos, *C. rectus* mostrou-se mais prevalente, com diferença estatística para os dois sítios (Figuras 1 e 2) no grupo das crianças dentadas. Este dado confirma o papel da esfoliação dentária e, conseqüentemente, da presença da área sulcular circundando o elemento dental, favorecendo a colonização principalmente de espécies anaeróbias [12], estabelecendo-se também em outros sítios bucais [16].

No presente estudo, *C. rectus* esteve presente em 95% das amostras coletadas em sulco gengival das crianças, ao passo que Kimura et al. [17], também ao pesquisar crianças, observaram uma prevalência desta bactéria em 50% no mesmo sítio de coleta. Esta diferença nos valores pode ser atribuída ao fato de uma diferença na média etária dos indivíduos incluídos nos diferentes estudos. No presente experimento, as crianças eram mais velhas em relação àquelas do estudo de Kimura et al. [17], portanto os nossos indivíduos, assim como seus dentes e áreas subgengivais, tiveram mais tempo para serem colonizados por *C. rectus*, bem como por outras bactérias.

Os dois grupos de indivíduos adultos/ idosos não apresentaram diferença estatística quando os sítios extrassulculares foram comparados, isso pode ter acontecido devido ao fato de os indivíduos desdentados também já terem possuído o elemento dental, e suas espécies bacterianas permaneceram colonizando outros sítios bucais. Este dado contraria alguns achados anteriormente descritos na literatura em que periodontopatógenos não fariam parte da microbiota normal de desdentados [18,19], utilizando-se a cultura como técnica para a detecção de bactérias.

Quando comparamos as frequências de *C. rectus* em amostras dos sítios intrassulculares e extrassulculares dos dois grupos dentados, não encontramos diferença estatística, o que nos leva a crer que esta bactéria pode apresentar o mesmo comportamento na presença de dente, independentemente da idade do indivíduo.

Também quando comparamos as frequências das amostras extrassulculares das crianças de seis-13 anos e indivíduos adultos / idosos desdentados, não encontramos diferença estatística. Este dado confirma o que Danser et al. [20,21] relataram: algumas espécies bacterianas podem colonizar membranas mucosas bucais de

pacientes edêntulos, podendo funcionar como reservatório de bactérias para a colonização de um posterior implante.

CONCLUSÃO

A verificação da presença de *C. rectus* em amostras coletadas de variados sítios bucais de indivíduos com diferentes idades, desde o nascimento até a senilidade, traz contribuições fundamentais para que o profissional cirurgião-dentista elabore estratégias de prevenção que reduzam a presença deste microrganismo, que pode estar associado a presença de outros periodontopatógenos de igual ou até maior virulência. Além disso, a detecção precoce de *C. rectus* pode auxiliar no conhecimento do risco de os indivíduos virem a desenvolver doença em dente natural ou até mesmo em implantes dentários.

REFERÊNCIAS

1. Ebersole JL, Steffen MJ, Reynolds MA, Branch-Mays GL, Dawson DR, Novak KF et al. Differential gender effects of a reduced calorie diet on systemic inflammatory and immune parameters in nonhuman primates. *J Periodontol Res.* 2008; 43:500-507.
2. Surma A, Kubilius R, Sakalauskiene J, Vitkauskienė A, Jonaitis J, Saferis V et al. Lysozyme and microbiota in relation to gingivitis and periodontitis. *Med Sci Monit.* 2009; 15:66-73.
3. Slots J, Ting M. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in human periodontal disease: occurrence and treatment. *Periodontol 2000.* 1999; 20:82-121.
4. Rams TE, Feik D, Slots J. *Campylobacter rectus* in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol.* 1993; 8:230-235.
5. Dzink JL, Tanner AG, Haffajee AD, Socransky SS. Gram negative species associated with active destructive lesions. *J Clin Periodontol.* 1985; 12:648-659.
6. Tempro PJ, Zambon JJ. *Microbiologia oral e imunologia.* 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997.
7. Ávila-Campos MJ, Velásquez-Meléndez G. Prevalence of putative periodontopathogens from periodontal patients and healthy subjects in São Paulo, SP, Brazil. *Rev Inst Med Trop.* 2002; 44:1-5.
8. Hayashi F, Okada M, Soda Y, Miura K, Kozai K. Subgingival distribution of *Campylobacter rectus* and *Tannerella forsythensis* in healthy children with primary dentition. *Arch Oral Biol.* 2006; 51(1):10-14.
9. Miyamoto E, Nakano K, Fujita K, Nomura R, Okawa R, Matsumoto M et al. Bacterial profiles of oral streptococcal and periodontal bacterial species in saliva specimens from Japanese subjects. *Arch Oral Biol.* 2009; 54:374-379.
10. Cortelli JR, Aquino DR, Cortelli SC, Fernandes CB, Carvalho-Filho J, Franco GCN et al. Etiological analysis of initial colonization of periodontal pathogens in oral cavity. *J Clin Microbiol.* 2008; 46(4):1322-1329.
11. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J.* 1975; 25(4):229-235.
12. Könönen E. Anaerobes in the upper respiratory tract in infancy. *Anaerobe.* 2005; 11(3):131-136.
13. Watanabe K, Yamaji Y, Umemoto T. Correlation between cell-adherent activity and surface structure in *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol.* 1992; 7:357-363.
14. Wang B, Kraig E, Kolodrubetz D. Use of defined mutants to assess the role of the *Campylobacter rectus* S-layer in bacterium-epithelial cell interactions. *Infect Immun.* 2000; 68:1465-1473.
15. Cortelli JR, Aquino DR, Cortelli SC, Franco GCN, Fernandes CB, Roman-Torres CV et al. Detection of periodontal pathogens in oral mucous membranes of edentulous individuals. *J Periodontol.* 2008; 79:1962-1965.
16. Tanaka S, Minami M, Murakami Y, Ogiwara T, Seto K, Shoji M et al. The detection of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in tooth, tongue and buccal mucosa plaques in children, using immunoslot blot assay (IBA). *J Clin Pediatr Dent.* 2006; 30(3):251-256.
17. Kimura S, Ooshima T, Takiguchi M, Sasaki Y, Amano A, Morisaki I et al. Periodontopathogenic bacterial infection in childhood. *J Periodontol.* 2002; 73:20-26.
18. Könönen E, Asikainen S, Alaluusua S, Könönen M, Summanen P, Kanervo A et al. Are certain oral pathogens part of normal oral flora in denture-wearing edentulous subjects? *Oral Microbiol Immunol.* 1991; 6(2):119-122.
19. Danser MM, van Winkelhoff AJ, de Graaf J, van der Velden U. Putative periodontal pathogens colonizing oral mucous membranes in denture-wearing subjects with a past history of periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1995; 22:854-859.
20. Danser MM, van Winkelhoff AJ, de Graaf J, Loos BJ, van der Velden U. Short-term effect of full-mouth extraction on periodontal pathogens colonizing the oral mucous membranes. *J Clin Periodontol* 1994; 21:484-489.
21. Danser MM, van Winkelhoff AJ, van der Velden U. Periodontal bacteria colonizing oral mucous membranes in edentulous patients wearing dental implants. *J Periodontol.* 1997; 68:209-216.