

Classe *Mollicutes* na boca de pacientes com dependência química

Class Mollicutes in the mouth of drug addiction patients

Clase Mollicutes en la boca de los pacientes con dependencia química

Ana Cláudia **OKAMOTO**¹
 Nathália **DIAS**¹
 Francisco Isaac Nicolas **CIESIELSKI**¹
 Robson Varlei **RANIERI**¹
 Christiane Marie **SCHWEITZER**²
 Elerson **GAETTI-JARDIM JÚNIOR**¹

¹*Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica, Faculdade de Odontologia, UNESP-Univ. Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araçatuba-SP, Brasil*

²*Departamento de Matemática, Faculdade de Engenharia, UNESP-Univ. Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Ilha Solteira-SP, Brasil*

Resumo

A dependência química está entre os maiores problemas de saúde pública em âmbito mundial, não apenas pelas dimensões do problema, mas também pela severidade dos danos produzidos, criando condições favoráveis para microrganismos oportunistas, como a classe *Mollicutes*. Esse estudo objetiva avaliar a presença das principais espécies desse grupo no biofilme subgingival de pacientes com dependência química, comparando-os com indivíduos não dependentes. Para tanto, foram obtidos dados referentes às condições de saúde sistêmicas, socioeconômicas, consumo de medicamentos, uso de drogas lícitas ou ilícitas de 72 pacientes com dependência química mantidos em clínica de desintoxicação e 100 pacientes não dependentes, que constituíram o grupo controle. Foram realizados exames clínicos intra e extrabuciais e foram coletadas amostras de biofilme subgingival, por meio de cones de papel absorvente esterilizados. A presença dos diferentes gêneros e espécies da classe *Mollicutes* foi avaliada por meio de PCR utilizando-se de iniciadores e condições de amplificação específicas para cada microrganismo. A análise dos resultados foi realizada por meio do teste de Qui-Quadrado para as comparações com três ou mais variáveis e pelo teste de Mann-Whitney, com significância de 5%. Das espécies e gêneros avaliados, *Mycoplasma salivarium* mostrou correlação com inflamação gengival nos dois grupos de pacientes e foi mais frequente entre os dependentes químicos.

Descritores: Placa Dentária; Tenericutes; Transtornos Relacionados ao Uso de Substâncias; Periodontite.

Abstract

Drug addiction is one of the biggest public health problems worldwide, not only by the dimensions of the problem, but also by the severity of the damage, creating favorable conditions for opportunistic microorganisms such as class *Mollicutes*. This study aims to evaluate the presence of the main species and genera of this group in the subgingival biofilm of drug addiction patients, comparing them with non-dependent subjects. For this purpose, data on systemic health conditions, socioeconomic characteristics, drug addiction from 72 patients with drug addiction kept in rehab clinics and 100 non-dependent patients who formed the control group were obtained. Intra and extraoral clinical examinations were performed and samples of subgingival plaque were collected through sterile absorbent paper cones. The presence of different genera and species of the class *Mollicutes* was evaluated by PCR using the specific primers and conditions for each microorganism. The statistical analysis was performed using the Chi-square test for comparisons of three or more variables and the Mann-Whitney test, with significance level of 5%. Out of species and genera evaluated, *Mycoplasma salivarium* showed correlation with gingival inflammation in both patient groups and was more frequently detected among drug addiction patients.

Descriptors: Dental Plaque; Tenericutes; Substance-Related Disorders; Periodontitis.

Resumen

La dependencia química es uno de los mayores problemas de salud pública en todo el mundo, no sólo por las dimensiones del problema, sino también por la gravedad de los daños causados, la creación de condiciones favorables para microorganismos oportunistas como la clase *Mollicutes*. Este estudio tiene como objetivo evaluar la presencia de las principales especies de este grupo microbiano en el biofilme subgingival de pacientes con dependencia química, su comparación con los individuos no dependientes. Los datos sobre las condiciones de salud sistémicas, condición socioeconómica, el consumo de drogas, las drogas lícitas o ilícitas para 72 pacientes con dependencia química mantenidos en rehabilitación y 100 pacientes no dependientes formaron el grupo control. Exámenes clínicos intra y extraorales se realizaron y muestras de biofilm subgingival fueron recolectados por medio de conos de papel absorbente estériles. La presencia de diferentes géneros y especies de la Clase *Mollicutes* se evaluó por PCR utilizando los primers específicos y las condiciones de amplificación para cada microorganismo. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de Chi-cuadrado para la comparación de tres o más variables y la prueba de Mann-Whitney, con nivel de significancia del 5%. De las especies y géneros evaluados *Mycoplasma salivarium* mostró correlación con la inflamación gingival en ambos grupos de pacientes y fueron más frecuentes entre los pacientes con dependencia química.

Descritores: Placa Dental ; Tenericutes; Trastornos Relacionados con Sustancias; Periodontitis.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas observou-se um vertiginoso aumento no consumo de drogas com efeitos psicotrópicos, algumas lícitas, como tabaco ou álcool, outras ilícitas, como a cocaína, heroína, crack, solventes, ecstasy, dentre outras, tornando-se um sério problema de saúde pública²⁰. As causas desse fenômeno são complexas e envolvem aspectos genéticos, sociais, educacionais, econômicos e de saúde pública²⁰, embora a reação da sociedade ao fenômeno tenha variado ao longo do tempo e também dependa do tipo de droga.

A despeito dos severos e amplos efeitos dessas drogas sobre os indivíduos dependentes, pouca atenção a esse fenômeno tem sido dada pelos profissionais de saúde, o que limita a abrangência das campanhas de conscientização e prevenção, que também constituem parte das estratégias de promoção de saúde, em seu sentido mais amplo, estimulando a mudança de hábitos nocivos, como o consumo de tabaco e drogas consideradas ilícitas, cujo tráfico e consumo estão também associados à violência e redução da expectativa de vida nos grandes centros urbanos⁶.

No longo prazo, o consumo de drogas pode reduzir a motivação para desempenhar as tarefas do cotidiano, como os hábitos de higiene oral, além de afetar o reparo tecidual e a resposta imunológica às infecções, sem considerar aqui os efeitos pronunciados sobre o sistema cardiovascular. Como agravante, o perfil emocional do paciente que faz uso de drogas alucinógenas está sujeito a alterações negativas, posto que a dependência psíquica, a dependência orgânica e as crises de abstinência provocam irritação, insônia, perda do apetite, alterações na higiene bucal e dieta²³.

Dentre as enfermidades que assolam a boca de dependentes destaca-se a periodontite, que por vezes assume um curso mais agressivo nesses indivíduos². Essas doenças são de natureza infecciosa, mas sofrem a influência de inúmeros fatores modificadores, que

podem vir a afetar as condições de saúde sistêmicas, impondo maior risco de enfermidades inflamatórias, doenças cardiovasculares e infecciosas, como as pneumonias, notadamente em função da grande capacidade dos principais microrganismos periodontais induzirem inflamação, com destaque para o papel dos anaeróbios obrigatórios Gram-negativos¹⁸, por vezes associados a microrganismos da classe *Mollicutes*, a qual vem sendo envolvida em processos inflamatórios persistentes e generalizados, além de enfermidades nos tratos respiratório e genitourinário, complicações neurológicas^{4, 25}.

Além dessa ocorrência, *Mycoplasma salivarium* e outros microrganismos do grupo podem estar associados às infecções bucais, incluindo doença periodontal, por facilitar infiltração, acúmulo ou retenção de células inflamatórias no tecido conjuntivo gengival^{4, 21}, também tendo sido detectados de primatas não humanos com periodontite²¹. Entretanto, poucos dados estão disponíveis sobre os efeitos que a dependência exerce sobre a distribuição bucal desses microrganismos, embora a mucosite ligada à dependência química seja bastante frequente e esses microrganismos tenham o potencial e induzir quadros inflamatórios severos.

Em função da problemática do consumo de drogas sobre as condições periodontais desses pacientes, o presente estudo objetiva avaliar a existência de correlações entre o consumo de drogas lícitas e ilícitas (crack, êxtase, cocaína, heroína, LSD, maconha) e a distribuição de diferentes gêneros e espécies da classe *Mollicutes* no biofilme subgengival, em relação a um grupo controle de indivíduos não dependentes.

MATERIAL E MÉTODO

• POPULAÇÃO ESTUDADA

Este estudo foi aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de

Araçatuba-UNESP (parecer 82186).

A amostra de pacientes com dependência química foi constituída de 72 indivíduos de ambos os sexos, em sua maioria jovens com idade variando de 18 a 35 anos, mantidos em regime de internato para desintoxicação e dois centros especializados, nos municípios de Araçatuba e Santa Fé do Sul, estado de São Paulo.

Foram incluídos na amostra todos os pacientes que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e estavam para iniciar o tratamento. Todos os exames clínicos e coletas de espécimes foram realizados dentro do período de 7 dias após o ingresso dos pacientes em ambiente de desintoxicação. Os pacientes dependentes apresentavam registro médico sobre o histórico de uso de drogas, não utilizaram antimicrobianos ou fármacos capazes de alterar o fluxo salivar ou foram submetidos a tratamento odontológico nos seis meses que precederam o estudo. Os portadores do vírus HIV foram excluídos do estudo.

O grupo controle foi constituído de 100 pacientes de ambos os sexos, na mesma faixa etária e não dependentes de drogas lícitas ou ilícitas. Os demais critérios de inclusão ou exclusão são os mesmos descritos acima para os pacientes com dependência química. A seleção dos pacientes do grupo controle, do conjunto daqueles que apresentam características compatíveis, foi realizada através de um sistema de busca parametrizada.

Dados médicos e psicológicos foram obtidos a partir de informações fornecidas pela equipe de saúde e por meio de formulários padronizados aplicados por assistentes sociais.

• EXAME CLÍNICO E RADIOGRÁFICO BUCAL

Os exames clínicos periodontais foram realizados por um único examinador, utilizando-se os critérios do Periodontal Screening and Recording (PSR). O exame radiográfico foi realizado no momento inicial do tratamento para dependência

química, nas clínicas de recuperação e desintoxicação. O aparelho radiográfico utilizado foi o modelo Spectro II, 70 Kvp, 10 mamp (*Dabi-atlante*).

• COLETA DOS ESPÉCIMES CLÍNICOS

As amostras do biofilme supragengival foram removidas por meio de curetas esterilizadas e transferidas para criotubos contendo água ultrapura. Os espécimes do biofilme subgengival foram obtidos com o uso de cones de papel absorvente esterilizados, que permaneciam por 30 segundos no interior dos sulcos gengivais ou bolsas periodontais, e eram transferidos para criotubos contendo água ultrapura e enviados ao laboratório para extração do DNA microbiano.

• DETECÇÃO, POR PCR DOS MICRORGANISMOS ALVO

O DNA das amostras clínicas nos criotubos com água Milli Q foi extraído através do “kit” QIamp DNA Mini Kit (QIagen, Hilden, Alemanha), segundo as especificações do fabricante, e o DNA obtido foi mantido a -80°C, até as reações de amplificação.

As concentrações de DNA bacteriano serão determinadas em espectrofotômetro ($A_{260\text{ nm}}$). A presença dos gêneros *Ureaplasma*, *Acholeplasma*, *Mycoplasma* e suas espécies foram realizadas segundo metodologia utilizada previamente por Neto et al.²¹. As reações de amplificação foram realizadas em aparelho de PCR (Perkin Elmer, GeneAmp PCR System 2400) programado para: 1 ciclo de 94°C (5 min.); de 30 a 36 ciclos de 94°C (1 min.), temperatura de anelamento de cada iniciador por um tempo que variou de 1min. a 2 min., 72°C (1 min.) e 1 ciclo de 72°C (5 min.), para a extensão final da cadeia de DNA. Em todas as reações foram utilizadas, como controle positivo, DNA de cepas de referência dos microrganismos estudados, fornecidas pelo Laboratório de *Mycoplasmas*, ICB-USP. Os produtos da amplificação pelo PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose (1%), corados com brometo de etídio (0,5 µg/ml) e fotografados sobre

transiluminador de luz UV, com câmara Kodak (Electrophoresis Documentation and Analyses System 120). Como padrão de peso molecular foi utilizado o marcador 1Kb DNA ladder (Gibco, SP).

• ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste de Qui-Quadrado foi utilizado para avaliar a significância dessas possíveis associações com três ou mais variáveis e o teste de Mann-Whitney foi empregado para as avaliações dicotômicas. A análise foi realizada no Departamento de Matemática da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira-UNESP. O nível de significância adotado foi de 5%.

RESULTADOS

Entre os pacientes com dependência química examinadas, 35 apresentavam gengivite, 22 tinham periodontite crônica, 15 eram periodontalmente saudáveis. Dos pacientes do grupo controle, 44 eram portadores de gengivite, 22 apresentavam periodontite crônica, enquanto 34 eram periodontalmente saudáveis. Quanto aos padrões de consumo de drogas dos dependentes, anteriormente à sua internação, sendo que apenas sete pacientes (9,7%) eram dependentes de uma única droga (álcool) enquanto os demais utilizavam diversas drogas concomitantemente, mostrando padrões de dependência bastante peculiares e pessoais, sendo que o tabaco foi consumido por 84,7% dos dependentes e a cocaína foi utilizada por 48,6% deles, enquanto o crack foi utilizado por 72,2% dos mesmos. Além desses compostos ainda merece consideração o consumo de bebidas alcoólicas (69,4%), maconha (44,4%), ácido lisérgico (LSD; 23,6%) e “ecstasy” (18,1%), quase sempre em associações.

Na Tabela 1 são apresentadas as condições de higiene bucal de dependentes e não dependentes, sendo que não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos (teste de Mann-Whitney, $p=0,63$), predominando aqueles com higiene oral moderada ou precária.

Os dados microbiológicos são apresentados na Tabela 2. A ocorrência da classe *Mollicutes* foi maior entre os dependentes químicos, independentemente da condição periodontal (teste de Qui-Quadrado, $p=0,009$ a $p=0,036$). Entre os dependentes, observou-se maior distribuição entre aqueles que eram portadores de gengivite e periodontite crônica, em relação aos saudáveis. Não foram observadas diferenças na distribuição desses microrganismos entre os pacientes com perda óssea e aqueles que apresentavam apenas inflamação gengival.

Quando os resultados são analisados segundo as diferentes espécies e gêneros estudados, observa-se que a ocorrência dos gêneros *Acholeplasma* e *Ureaplasma* foi semelhante entre todos os gêneros, incluindo as espécies *A. laidlawii* e *U. urealyticum*, as quais foram raramente detectadas. Para o gênero *Mycoplasma* observam-se as mesmas características relatadas para a classe *Mollicutes*, sendo que a espécie *M. salivarium* representa a grande maioria das amostras positivas para esse gênero e para a classe *Mollicutes* como um todo, sendo notadamente mais frequente nas amostras de pacientes com dependência química (teste de Qui-quadrado, $p= 0,01$). *M. salivarium* se mostrou associado à presença de sangramento gengival e não foram observadas diferenças entre os pacientes com perda óssea e aqueles que se mostravam portadores de gengivite, tanto no grupo com dependência química quanto no grupo controle.

Em função da baixa frequência de detecção, a ocorrência das demais espécies do gênero *Mycoplasma* não mostrou diferenças entre dependentes químicos e não dependentes, nas diversas condições de saúde periodontal.

DISCUSSÃO

A complexidade da ecologia microbiana do biofilme ainda necessita ser compreendida, sendo frequentes os microrganismos capazes de induzir quadros inflamatórios locais ou mesmo à distância,

colaborando para o estabelecimento de enfermidades como as artrites, doenças respiratórias e cardiovasculares^{1, 12, 17}. Os membros da classe *Mollicutes* estão entre as menores bactérias com metabolismo próprio e não possuem parede celular, mas apresentam notável capacidade de induzir quadros inflamatórios persistentes e danosos ao hospedeiro¹⁶. Entretanto, pouco se conhece sobre a

ocorrência desses microrganismos na cavidade de pacientes com dependência, onde a mucosite ligadas aos agentes químicos é uma realidade frequente. Para a classe *Mollicutes* essa realidade é proeminente, uma vez que a maioria dos seus membros não se desenvolve adequadamente nos meios de cultura tradicionais, superados que são por patógenos de crescimento menos exigente¹⁹.

Tabela 1. Condições de higiene bucal de dependentes químicos e grupo controle, segundo sua condição clínica periodontal

Higiene	Ocorrência N (%)					
	Dependentes químicos (N=72)			Grupo controle (N=100)		
	PG ¹	PP ²	PS ³	PG	PP	PS
Excelente	1 (2,9)	1 (4,5)	2 (13,3)	2 (4,5)	0 (0,0)	4 (11,8)
Boa	6 (17,1)	1 (4,5)	1 (6,7)	4 (9,1)	2 (9,1)	5 (14,7)
Moderada	18 (51,4)	7 (31,8)	12 (80,0)	18 (40,9)	6 (27,3)	18 (52,9)
Precária	10 (28,6)	13 (59,1)	0 (0,0)	20 (45,5)	14 (63,6)	7 (20,6)

¹Pacientes com gengivite: dependentes N= 35, controle N= 44;

²Pacientes com periodontite: dependentes N= 22, controle N= 22;

³Pacientes periodontalmente saudáveis: dependentes N= 15, controle N= 34.

Tabela 2. Ocorrência dos microrganismos alvo no biofilme subgengival de pacientes dependentes químicos e no grupo controle, de acordo com a condição periodontal.

Microrganismo	Grupo Experimental N (%)					
	Dependentes químicos			Grupo controle		
	PG ¹	PP ²	PS ³	PG	PP	PS
<i>Acholeplasma</i> spp.	2 (5,7)	1 (4,5)	0 (0,0)	1 (2,3)	1 (4,5)	0 (0,0)
<i>Mycoplasma</i> spp.	20 (57,1)	15 (68,1)	5 (33,3)	19 (43,2)	13 (59,1)	6 (17,6)
<i>Ureaplasma</i> spp.	0 (0,0)	1 (4,5)	0 (0,0)	2 (4,5)	2 (9,1)	0 (0,0)
<i>A. laidlawii</i>	0 (0,0)	1 (4,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (4,5)	0 (0,0)
<i>M. hominis</i>	2 (5,7)	1 (4,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (4,5)	0 (0,0)
<i>M. orale</i>	2 (5,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (6,8)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>M. pneumoniae</i>	2 (5,7)	1 (4,5)	0 (0,0)	1 (2,3)	1 (4,5)	0 (0,0)
<i>M. salivarium</i>	20 (57,1)	15 (68,1)	5 (33,3)	18 (40,9)	12 (54,5)	6 (17,6)
<i>U. urealyticum</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (4,5)	0 (0,0)
Total <i>Mollicutes</i> ⁴	22 (62,9)	15 (68,1)	5 (33,3)	19 (43,2)	12 (54,5)	7 (20,6)

¹Pacientes com gengivite: dependentes N= 35, controle N= 44; ²Pacientes com periodontite: dependentes N= 22, controle N= 22;

³Pacientes periodontalmente saudáveis: dependentes N= 15, controle N= 34; ⁴Cada amostra pode ser positiva para mais de um microrganismo alvo.

Esse desconhecimento se exacerba quando verificamos que microrganismos da ordem *Mollicutes*, como os micoplasmas, são capazes de afetar a resposta inflamatória e imunológica do hospedeiro,

produzir proteases, hemolisinas, superantígenos, fatores ativadores de neutrófilos e linfócitos, podendo afetar a expressão de mediadores relevantes para os processos de reparo e para a reação inflamatória^{3, 7, 16}.

Em pacientes com graus variados de debilidade orgânica, como os dependentes, o possível papel desses microrganismos na relação saúde-doença necessita ser explorada.

Os resultados do presente estudo sugerem um possível papel para esses microrganismos no desenvolvimento da inflamação gengival nos pacientes portadores de periodontite ou gengivite, entre os indivíduos do grupo controle e dependentes químicos, mas não foram observadas associações com perda óssea, não tendo sido observadas diferenças significativas entre pacientes com gengivite e periodontite. Existem evidências ainda insuficientes de que esses microrganismos, particularmente *M. salivarium*, poderiam participar do desenvolvimento das doenças periodontais^{15, 28}, sendo que Engel & Kenny⁵ detectaram esse microrganismo em 87% dos pacientes com periodontite e de apenas 32% dos indivíduos saudáveis, mas essa diferença pode ser consequência das vantagens metabólicas usufruídas por esse microrganismo na presença do quadro inflamatório e não a causa dessas enfermidades periodontais. Essa associação com enfermidades periodontais sugere que a classe *Mollicutes* possa vir a ser utilizada como um indicador salivar da condição de periodontite crônica¹⁴, embora os resultados do presente estudo e os dados de Holt et al.¹¹ e Kaufman et al.¹³ suportem que *M. salivarium* teria uma associação direta com gengivite e não perda óssea.

Microrganismos do gênero *Mycoplasma* são frequentes na cavidade bucal humana, principalmente *M. salivarium* e *M. orale*, mas esse último foi raramente detectado no presente estudo. Essas duas espécies ainda são frequentes no biofilme microbiano, mas seu papel ecológico ainda não está claro^{15, 27, 28}. Os resultados do presente estudo não evidenciaram quaisquer relações entre microrganismos da classe *Mollicutes* e as condições de saúde sistêmica dos pacientes, mas sim com a inflamação do periodonto de revestimento.

Dentre os membros da classe *Mollicutes*, apenas *M. salivarium* foi detectado com alguma frequência. Esse microrganismo é raramente associado a processos infecciosos, ao contrário de *M. pneumoniae*, mas vem sendo ligado a abscessos na cavidade bucal, artrites^{1, 10} e amigdalites²⁶. As atividades metabólicas de *M. salivarium* podem levar a danos aos tecidos do hospedeiro e permitem a evasão da fagocitose, além de induzir a liberação de IL-6, IL-8, IL-1, TNF- α a partir de fibroblastos e monócitos do sangue periférico. No estudo de Watanabe et al.²⁸, *Mycoplasma* spp. foi detectado em 97% das amostras de saliva, com elevadas contagens de unidades formadoras de colônia, sendo que 64% dos isolados eram das espécies *M. salivarium*, *M. orale* e *M. hominis*.

No presente estudo, *M. hominis* foi raramente detectado, mas a relação de *M. salivarium* com inflamação gengival também foi observada por Watanabe et al.²⁸. Embora algumas evidências sugiram que *M. salivarium* poderia estar ligado com quadros de periodontite em indivíduos imunocomprometidos, os dados da Tabela 2 não dão suporte a essa abordagem nos pacientes com dependência química ou do grupo controle.

A ocorrência de *M. pneumoniae* na orofaringe de uma população está diretamente ligada a disseminação entre membros da comunidade e ocorrência de infecções respiratórias²⁴. Além desse aspecto, várias espécies desse gênero, como *M. pneumoniae*, *M. fermentans* e *M. hominis* vem sendo estudados por uma possível relação com a síndrome da fadiga crônica²² e a cavidade bucal poderia atuar como reservatório para os mesmos. Entretanto, os dados da Tabela 2 evidenciam que esse agente infeccioso foi raramente observado, não dando respaldo a uma participação mais ativa da boca como reservatório, pelo menos nos grupos humanos estudados. Outras espécies dessa classe, como *U. urealyticum*, por vezes considerado o mais

virulento dos *Mollicutes*, pela produção de enzimas proteolíticas, hemolisinas, fosfolipase C, e urease, capaz de liberar amônia, a qual tem atividade citotóxica¹⁶, que estão envolvidas em infecções como a corioamnionite, comumente ligada ao nascimento de crianças prematuras⁹, além de mediastinites, pleurites e pericardites, por vezes fatais⁸. Contudo, essas espécies foram raramente detectadas na população estudada, independentemente do grupo e condição periodontal.

CONCLUSÃO

Os resultados sugerem que o consumo de drogas, lícitas e ilícitas, já que o tabaco e o álcool quase sempre se encontram associados a esquemas de uso de outros agentes, como cocaína e crack, cria condições favoráveis à colonização do biofilme subgingival por alguns microrganismos da classe *Mollicutes*, notadamente *M. salivarium*, que também se mostrou associado a inflamação dos tecidos do periodonto de revestimento.

REFERÊNCIAS

1. Al-Ghizawi GJ; Kadhim MA. Isolation and identification of some *Mycoplasma* spp. from septic arthritis in Basrah city. Aust J Bas Appl Sci. 2011; 5: 1188 - 1192.
2. Amaral CSF, Luiz RR, Leão ATT. The relationship between alcohol dependence and periodontal disease. J Periodontol. 2008; 79: 993-998.
3. Bendjennat M, Blanchard A, Loutfi M, Montagnier L, Bahraoui E. Role of *Mycoplasma penetrans* endonuclease P40 as a potential pathogenic determinant. Infect Immun. 1999; 6: 4456-4462.
4. Dong L, Shibata KI, Sawa Y, Hasebe A, Yamaoka Y, Yoshida, S. et al. Transcriptional activation of mRNA of intercellular adhesion molecule 1 and induction of its cell surface expression in normal human gingival fibroblasts by *Mycoplasma salivarium* and *Mycoplasma fermentans*. Infect Immun. 1999; 67: 3061-3065.
5. Engel LD, Kenny GE. *Mycoplasma salivarium* in human gingival sulci. J Periodont Res. 1970; 5: 163-171.
6. Fernández-Montalvo J, López-Goñi JJ, Arteaga A. Violent behaviors in drug addiction: differential profiles of drug-addicted patients with and without violence problems. J Interp Viol. 2012; 27: 142-157.
7. Ferreira, H. B.; Castro, L. A. A preliminary survey of *M. hyopneumoniae* virulence factors based on comparative genomic analysis. Gen Mol Biol. 2007; 30: 245-255.
8. García-de-la-Fuente, C. Miñambres E, Ugalde E, Sáez A, Martínez-Martínez L, Fariñas MC. Post-operative mediastinitis, pleuritis and pericarditis due to *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* with a fatal outcome. J Med Microbiol. 2008; 57: 656-657.
9. Goldenberg, R. L.; Andrews, W. W.; Hauth, J. C. Choriodecidual infection and preterm birth. Nutr. Rev. 2002; 60: S19-S25.
10. Grisold AJ, Hoenigl M, Leitner E, Jakse K, Feierl G, Raggam RB et al. Submasseteric abscess caused by *Mycoplasma salivarium* infection. J Clin Microbiol. 2008; 46: 3860-3862.
11. Holt RD, Wilson M, Musa S. Mycoplasmas in plaque and saliva of children and their relationship to gingivitis. J Periodontol. 1995; 66: 97-101.
12. Johnson SM, Bruckner F, Collins D. Distribution of *Mycoplasma pneumoniae* and *Mycoplasma salivarium* in the synovial fluid of arthritis patients. J Clin Microbiol. 2007; 45: 953-957.
13. Kaufman E, Lamster IB. Analysis of saliva for periodontal diagnosis. A review. J Clin Periodontol. 2000; 27: 453-465.
14. Khashu H, Baiju CS, Bansal SR, Chhillar A. Salivary biomarkers: a periodontal overview. J

- Oral Health Comm Dent. 2012; 6: 28-33.
15. Kumagai K, Iwabuchi T, Hinuma Y, Yuri K, Ishida N. Incidence, species, and significance of *Mycoplasma* species in the mouth. *J Infect Dis*. 1971; 123:16-21.
 16. Larsen B, Hwang J. *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, and adverse pregnancy outcomes: a fresh look. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2010; 2010: 1-7.
 17. Lockhart PB, Bolger Af, Papapanou PN, Osinbowale O, Trevisan M, Levison ME et al. Periodontal disease and atherosclerotic vascular disease: does the evidence support an independent association? A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2012; 125: 2520-2544.
 18. Martelli FS, Stori S, Mengoni A, Martelli M, Rosati C, Fanti E. Bacterial colonization patterns of periodontal pockets in different ages. *Ig Sanita Pubbl*. 2012; 68: 49-68.
 19. Mishra AK, Dufour H, Roche P-H, Lonjon M, Raoult D, Fournier PE. Molecular revolution in the diagnosis of microbial brain abscesses. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014. DOI 10.1007/s10096-014-2166-z.
 20. Moeller, F. G. Sex, stress, and drug cues in addiction. *Am J Psych*. 2012; 169: 351-353.
 21. Neto RL, Marques LM, Guimarães MAS, Yamaguti M, Oliveira RC, Gaetti-Jardim Jr E et al. Frequency of different human *Mollicutes* species in the mucosa of the oropharynx, conjunctiva, and genitalia of free ranging and captive capuchin monkeys (*Cebus* spp.). *Amer J Primatol*. 2013; 9999: 1-6.
 22. NIJS J, Nicolson GL, De Becker P, Coomans D, De Meirleir K. High prevalence of *Mycoplasma* infections among European chronic fatigue syndrome patients. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2002; 34: 209-214.
 23. Nogueira Filho GR, Tramontina VA, Pereira SLJ, Sallum EA, Nociti Jr FH, Toledo S. et al. O fumo como fator de risco à doença periodontal. *Rev. Peridont*. 1997; 6: 20-23.
 24. Paju S, Scannapieco FA. Oral biofilms, periodontitis, and pulmonary infections. *Oral Dis*. 2007; 13: 508-512.
 25. Störmer M, Vollmer T, Henrich B, Kleesiek K, Dreier J. Broad-range real-time PCR assay for the rapid identification of cell-line contaminants and clinically important *Mollicute* species. *Int J Med Microbiol*. 2008; 299: 291-300.
 26. Tully, J. G. Current status of the *Mollicute* flora of humans. *Clin Infect Dis*. 1993; 17: 2-9.
 27. Uchida, A. Isolation and enumeration of mycoplasmas in dental plaques. *Bull Tokyo Med Dent Univ*. 1981; 28: 117-123.
 28. Watanabe, T.; Matsuura, M.; Seto, K. Enumeration, isolation, and species identification of mycoplasmas in saliva sampled from the normal and pathological human oral cavity and antibody response to an oral *Mycoplasma* (*Mycoplasma salivarium*). *J Clin Microbiol*. 1986; 23: 1034-1038.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

Elerson Gaetti-Jardim Júnior

Faculdade Odontologia de Araçatuba, UNESP
egaettij@foa.unesp.br

Submetido em 15/07/2014

Aceito em 31/07/2014