

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Odontologia

**Avaliação da viscosidade e fluxo salivar em relação a condição periodontal e
os níveis de compostos sulfurados voláteis**

Maiza Luiza Vieira Silva

Belo Horizonte
2014

Maiza Luiza Vieira Silva

Avaliação da viscosidade e fluxo salivar em relação a condição periodontal e os níveis de compostos sulfurados voláteis

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Odontologia.

Área de concentração: Estomatologia

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Alves de Mesquita

Co-orientadora: Prof.^a Dra. Tânia Mara Pimenta Amaral

Co-orientador: Prof. Dr. Fernando de Oliveira Costa

Belo Horizonte
2014



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DA ALUNA MAIZA LUIZA VIEIRA SILVA

Realizou-se, no dia 03 de junho de 2014, às 14:00 horas, 3403, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de dissertação, intitulada *Avaliação da viscosidade e fluxo salivar em pacientes com doença periodontal e a relação com os níveis de compostos sulfurados voláteis*, apresentada por MAIZA LUIZA VIEIRA SILVA, número de registro 2012753510, graduada no curso de ODONTOLOGIA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em ODONTOLOGIA, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). Ricardo Alves de Mesquita - Orientador (UFMG), Prof(a). Tania Mara Pimenta Amaral – Coorientadora (Faculdade de Odontologia da UFMG), Prof(a). Tarcilia Aparecida da Silva (UFMG), Prof(a). Alcione Maria Soares Dutra Oliveira (Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais).

A Comissão considerou a dissertação:

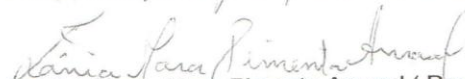
Aprovada

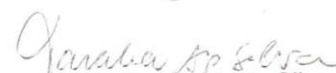
Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.
Belo Horizonte, 03 de junho de 2014.

Elizabeth Soares Teles Noronha - Secretário(a)



Prof(a). Ricardo Alves de Mesquita (Doutor)


Prof(a). Tania Mara Pimenta Amaral (Doutora)


Prof(a). Tarcilia Aparecida da Silva (Doutora)


Prof(a). Alcione Maria Soares Dutra Oliveira (Doutora)

Confere com o original
03.06.2014


Elizabeth Soares Teles
Secretária do Colegiado do Programa
de Pós-Graduação em Odontologia-PO/UFMG
SIAPE 0321131



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



FOLHA DE APROVAÇÃO


Avaliação da viscosidade e fluxo salivar em pacientes com doença periodontal e a relação com os níveis de compostos sulfurados voláteis

MAIZA LUIZA VIEIRA SILVA

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA, como requisito para obtenção do grau de Mestre em ODONTOLOGIA, área de concentração ESTOMATOLOGIA.

Aprovada em 03 de junho de 2014, pela banca constituída pelos membros:


Prof(a). Ricardo Alves de Mesquita - Orientador
UFMG



Prof(a). Tania Mara Pimenta Amaral - Coorientadora
Faculdade de Odontologia da UFMG


Prof(a). Tarcilia Aparecida da Silva
UFMG


Prof(a). Alcione Maria Soares Dutra Oliveira
Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

Belo Horizonte, 3 de junho de 2014.

Confere com o original
03/06/2014


Elizabete Soares Tales
Secretária do Colegiado do Programa
de Pós-Graduação em Odontologia-POUFGG
SLAPE 0321131

À Deus que me conduziu na concretização deste trabalho com a sua sabedoria e misericórdia.

À minha família e ao Diego que souberam compreender meus momentos de abdicação, aos pacientes e todas as pessoas que contribuíram, direta ou indiretamente, por meio de orações, para que este estudo fosse possível.

AGRADECIMENTOS

Agraço a *Deus*, primeiramente, pelo dom da vida e por ter me permitido o convívio com pessoas muito especiais. Obrigada Senhor, pela proteção e apoio durante à minha caminhada!

Aos meus pais *Hélio* e *Marilda* que não mediram esforços para que eu pudesse me dedicar exclusivamente ao Mestrado. Obrigada pelo exemplo de vida e caráter!

Ao meu grande companheiro e amigo *Diego*, que se fez presente em gestos e palavras que tornaram menos árdua a conclusão dessa etapa em minha vida. Obrigada pela dedicação!

Aos meus irmãos, Marcus e Jordão e suas respectivas esposas Nayara e Mariana e sobrinhos, Vinícius, Miguel e Luís, por tornarem pequenos momentos muito especiais. Obrigada pelas experiências compartilhadas e carinho!

Ao meu orientador de projeto de mestrado Professor *Vagner Rodrigues dos Santos*, grande pesquisador, pela atenção, disponibilidade e experiência compartilhada. Muito obrigada por tornar possível a realização dessa conquista!

Ao meu orientador Professor *Ricardo Alves de Mesquita* pelo exemplo de profissionalismo, pelos ensinamentos e, principalmente, pela confiança depositada. Os seus conselhos foram muito importantes neste trabalho!

À minha coorientadora professora *Tânia Mara Pimenta Amaral* que, com as suas orientações, os seus conselhos, dedicação e disponibilidade tornou possível a obtenção dos resultados e a concretização deste trabalho. Muito obrigada pelo meu crescimento pessoal e profissional!

Ao meu coorientador Professor *Fernando de Oliveira Costa*, agradeço as substanciais colaborações na área de Periodontia. Seus conselhos foram fundamentais neste trabalho!

Aos meus colegas e amigos do mestrado, em especial, *Rejane, Ana Paula, Tálita, Alfonso, Tahyna, Marcela, Camila, Luciene, Jaqueline, Rodrigo, Filipe* e *Thaís* pelas ajudas mútuas nos momentos compartilhados! Agradeço as colaborações em trabalhos realizados e momentos de descontração!

À aluna de iniciação científica e amiga *Renatha*, pela grande ajuda nos atendimentos aos pacientes e coleta de dados! Muito obrigada pelo apoio e amizade!

À aluna do doutorado em Química *Meiriane* e a sua orientadora *Hallen Daniel Rezende Calado*, pela disponibilidade e colaboração fundamental para a obtenção dos resultados da viscosidade salivar laboratorial! Muito obrigada pelos ensinamentos e parceria!

Aos professores do Departamento de Clínica, Patologia e Cirurgia da FO-UFMG, *Tarcília Aparecida da Silva, Maria Cássia Ferreira Aguiar, Maria Auxiliadora do Carmo e Ricardo Gomez*, referências como pessoas e profissionais! Obrigada pelos aprendizados!

Aos funcionários do Colegiado da Pós-graduação da FO-UFMG, *Laís e Beth*, pela disponibilidade e gentileza. Agradeço a ajuda e manifestações de amizade!

Aos funcionários da Biblioteca, CME, CASEU e Ortodontia da FO-UFMG pela ajuda na busca de conhecimento científico. Muito obrigada pela disposição e apoio!

À empresa Radio Imagem que disponibilizou o aparelho OralChomaTM e permitiu a obtenção do exame de halimetria. Agradeço o apoio!

À empresa CONEST, em especial, à *Ana Cláudia* pela realização e orientação das análises estatísticas dos dados. Agradeço a disponibilidade e o aprendizado!

*É preciso diminuir a distância entre o que se diz
e o que se faz, até que num dado momento, a tua
fala seja a tua prática.*

*Paulo Freire
(1921-1997)
Educador e Filósofo brasileiro*

RESUMO

Objetivo: Embora haja vários relatos na literatura acerca da composição da saliva, são escassas as pesquisas científicas que investigam as propriedades físicas da saliva. A finalidade deste estudo foi avaliar a viscosidade e o fluxo salivar na condição periodontal e avaliar a associação destes parâmetros com os compostos sulfurados voláteis. **Materiais e Métodos:** Estudo transversal no qual cento e vinte e quatro indivíduos foram divididos em periodontalmente saudável, gengivite, periodontite leve-moderada e periodontite avançada, de acordo com parâmetros periodontais. Viscosidade salivar clínica, viscosidade laboratorial da saliva estimulada, pelo reômetro de Brookfield DV-III, fluxo salivar e parâmetros periodontais de profundidade de sondagem, nível de inserção clínico e sangramento à sondagem foram avaliados. Mensurou-se as concentrações de compostos sulfurados voláteis pelo método de cromatografia gasosa, OralChromaTM. Os resultados foram analisados por meio do programa SPSS versão 17.0, com nível de confiança de 95%. **Resultados:** Viscosidade salivar clínica foi negativamente correlacionada com parâmetros periodontais, exceto sangramento à sondagem. Hipossalivação foi positivamente correlacionada com os parâmetros periodontais, concentrações de sulfidreto (H_2S) e metilmercaptana (CH_3SH). Concentrações mais elevadas de H_2S foram observadas em grupos periodontite avançada e gengivite. H_2S e altas concentrações de CH_3SH foram positivamente correlacionados com parâmetros periodontais. **Conclusão:** As propriedades físicas da saliva, baixa viscosidade e fluxo, estão correlacionadas com a doença periodontal e com altas concentrações de H_2S e CH_3SH . Além disso, a hipossalivação sob estímulo está correlacionada com a concentração de H_2S e CH_3SH . Apoio: FAPEMIG (APQ-01835-13).

Palavras-chave: Saliva. Viscosidade. Doença periodontal. Compostos sulfurados.

ABSTRACT

SILVA, Maiza Luiza Vieira. **Evaluation of viscosity and salivary flow in patients with periodontal disease and relationship with levels of volatile sulfur compounds**. 2014. 81f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Odontologia, Belo Horizonte, 2014.

Aim: Although there are several reports in the literature on the composition of saliva, there are few studies investigating physical properties of saliva. The purpose of this study was to evaluate viscosity and salivary flow and in patients with periodontal disease and elucidate the association with the volatile sulfur compounds. **Materials and Methods:** A cross-sectional study in which 124 subjects were divided into periodontally healthy, gingivitis, slight-moderate periodontitis and advanced periodontitis, according to the periodontal parameters. Clinical salivary viscosity, viscosity laboratorial of stimulated saliva, by DV-III Brookfield rheometer, salivary flow rate and periodontal parameters of probing depth, clinical attachment level and bleeding on probing were evaluated. The concentrations of volatile sulfur compounds by gas chromatographic method, OralChroma™ (Abilit, Osaka), were mensured. **Results:** The results were statistically analyzed using SPSS version 17.0, at a confidence level of 95%. Clinical salivary viscosity was negatively correlated with periodontal parameters, except bleeding on probing. Hyposalivation was positily correlated with periodontal parameters, sulfhydryde (H₂S) and methylmercaptan (CH₃SH). Higher concentrations of H₂S were observed in advanced periodontitis and gingivitis groups. H₂S and high concentrations of CH₃SH were positively correlated with periodontal parameters. **Conclusion:** Physical properties of saliva, low viscosity and flow, are correlated with periodontal disease, as well as high concentrations of H₂S and CH₃SH. Support: FAPEMIG (APQ-01835-13).

Keywords: Saliva. Viscosity. Periodontal disease. Sulfur compounds.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1:	Aparelho Oral Chroma™	36
FIGURA 2:	Sialogogo mecânico (hiperboloide)	37
FIGURA 3:	Análise da viscosidade salivar clínica.....	38
FIGURA 4:	Reômetro de Brookfield interligado ao termostato.....	39

LISTA DE TABELAS

TABELA 1:	Análise comparativa da viscosidade salivar laboratorial.....	38
-----------	--------------------------------------------------------------	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAP	Academia Americana de Periodontia
BANA	N-benzoyl-Dl-arginine-2-naphthylamide
CDC	Centros Americanos para Controle de Doenças e Prevenção
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CSV	Compostos Sulfurados Voláteis
FO	Faculdade de Odontologia
ISL	índice de saburra lingual
LSD	<i>Least Significance Difference</i>
NIC	Nível de inserção clínico
PIC	Perda de inserção clínica
ppb	partes por bilhão
PS	Profundidade de sondagem
SS	Sangramento à sondagem
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VSL	Viscosidade salivar laboratorial

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	<i>Saliva</i>	19
2.1.1	Viscosidade salivar	20
2.1.2	Fluxo salivar	20
2.2	<i>Saburra lingual</i>	21
2.3	<i>Doenças periodontais</i>	22
2.3.1	Aspectos conceituais e classificatórios da doença periodontal.....	22
2.3.2	Indicadores clínicos da doença periodontal	23
2.3.3	Epidemiologia das doenças periodontais	24
2.4	<i>Compostos sulfurados voláteis</i>	25
2.4.1	Compostos sulfurados voláteis, a viscosidade e o fluxo salivar.....	26
2.4.2	Compostos sulfurados voláteis e doença periodontal	27
3	OBJETIVOS	31
3.1	<i>Objetivo geral</i>	31
3.2	<i>Objetivos específicos</i>	31
4	MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1	<i>Seleção da amostra</i>	33
4.1.1	Critérios de inclusão	33
4.1.2	Critérios de exclusão.....	34
4.2	<i>Desenho do estudo</i>	34
4.3	<i>Parâmetros clínicos periodontais</i>	34
4.4	<i>Halimetria com Oral ChromaTM</i>	35
4.5	<i>Índice de saburra lingual</i>	36
4.6	<i>Sialometria</i>	36
4.7	<i>Avaliação da viscosidade salivar clínica</i>	37
4.8	<i>Avaliação da viscosidade salivar laboratorial</i>	38
4.9	<i>Análise estatística</i>	39
5	RESULTADOS	41
5.1	<i>Artigo</i>	41
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	62

7	CONCLUSÕES	65
	REFERÊNCIAS	66
	ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG	75
	ANEXO B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	76
	ANEXO C - Ficha Clínica	77
	ANEXO D - Periodontograma	80
	ANEXO E - Recomendações pré-halimetria	81

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A saliva é um dos mais complexos e importantes fluidos do corpo, que supre um largo espectro de necessidades fisiológicas. A saliva além de umedecer os tecidos moles e duros da cavidade bucal, facilitando a fala, mastigação e deglutição, participa no controle da quantidade de água do organismo. Na saliva encontram-se componentes orgânicos e inorgânicos, que podem variar qualitativamente e quantitativamente, importantes para manter o estado de higidez dos tecidos bucais (Fábian *et al.*, 2012; Gabryel-Porowska *et al.*, 2014). Há vários trabalhos na literatura a respeito da composição da saliva, porém, há uma escassez de pesquisa científica que investiga a secreção salivar e conseqüentemente a viscosidade salivar.

A eficácia da saliva como um lubrificante depende da sua viscosidade (Waterman, 1988). A lubrificação da saliva é essencial para a saúde bucal e facilita os movimentos da língua e dos lábios auxiliando a deglutição. Hirotsu *et al.* (2006) observaram que o baixo fluxo somado à alta viscosidade salivar prejudicam as defesas bucais e pode ocasionar queda acentuada dos níveis de oxigênio. Além disso, Hirotsu *et al.* (2008) verificaram que o conjunto das duas alterações pode ser um fator de risco para a doença periodontal.

A diminuição do fluxo salivar resulta em um aumento da concentração de proteínas (Yarata *et al.*, 1999) e na acumulação de debris, placas e bactérias (Antoniazzi *et al.*, 2009). A hipossalivação, também, diminui a capacidade de autolimpeza e favorece a proliferação de bactérias anaeróbias gram-negativas envolvidas na formação de odoríferos na cavidade bucal (Calil e Marcondes, 2006).

As propriedades reológicas da saliva, como a viscosidade, solubilidade, a elasticidade e a adesividade dependem da presença de mucinas (Veerman, 1989). As mucinas são secretadas pelas glândulas salivares maiores e menores. Kleinberg (1996) demonstrou que o aumento da concentração de mucina na saliva favorece a fixação de matéria orgânica e de microrganismos, predispondo à formação da saburra lingual e conseqüentemente a exalação de odores da boca. Segundo Koshimune *et al.* (2003), o fluxo salivar menor do que 0,1 ml/min é um dos principais fatores que influenciam positivamente o acúmulo de saburra lingual.

Quirynen *et al.* (2009) evidenciaram a saburra lingual como a principal fonte para o desenvolvimento de halitose que tem como causa a formação de compostos sulfurados voláteis (CSV). De acordo com a literatura, a halitose causa embaraço social, emocional e

psicológico que, por sua vez, provoca detrimento da autoestima, autoimagem, autoconfiança e por consequência a ansiedade emocional e exclusão social (Ciçek *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2004).

A produção de CSV pelas bactérias presentes na saliva e no biofilme da saburra lingual é responsável pelos odorívetores capazes de estimular as células olfativas. Os CSV, representados em cerca de 90% pela união de sulfidreto (H_2S), metilmercaptana (CH_3SH) e dimetilsulfeto ($(CH_3)_2SH$) são os principais gases responsáveis pela halitose e estão presentes também nos pacientes com doença periodontal (Tonzetich, 1977).

Os compostos sulfurados voláteis podem ser mensurados com os monitores de sulfetos e com o método físico de separação dos gases, cromatografia gasosa, que é utilizado para análise quantitativa e qualitativa das espécimes químicas. A cromatografia gasosa possui a capacidade de identificar e quantificar, separadamente, os diferentes CSV, tais como H_2S e CH_3SH envolvidos também na doença periodontal (Murata *et al.*, 2002; van der Broek *et al.*, 2008). A associação entre a doença periodontal e os níveis de CSV tem sido estudada na literatura, porém há poucos estudos que utilizam a cromatografia gasosa (Tsai *et al.*, 2008; Pham *et al.*, 2011).

Sabe-se que a saliva desempenha um papel importante na manutenção da saúde bucal e se tem investigado acerca das propriedades bioquímicas e interações de mucinas e outras proteínas salivares com microrganismos e a doença periodontal (Baughan *et al.*, 2000; Sánchez *et al.*, 2011; Sánchez *et al.*, 2013). No entanto, a avaliação da viscosidade e do fluxo salivar na doença periodontal relacionada à identificação dos compostos sulfurados voláteis não é bem documentada na literatura. Diferentes patógenos periodontais encontrados em amostra da saburra lingual produzem altos níveis de H_2S e CH_3SH (Tonzetich e McBride, 1981; Nakano *et al.*, 2002; Kishi *et al.*, 2012). Dessa forma, a avaliação da condição salivar relacionada com as concentrações de CSV torna-se relevante como importante marcador para o diagnóstico da doença periodontal, para políticas de saúde pública e adicionalmente fornecer indícios científicos para futuros estudos.

REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Saliva

A saliva, responsável por diversas atividades fisiológicas, é um dos mais complexos e importantes fluidos corporais. Os componentes proteicos e íons tornam a solução, composta por 99% de água, viscoelástica, capaz de lubrificar, ser agente antimicrobiano, impedir a dissolução dos dentes, auxiliar a digestão e facilitar o sabor dos alimentos (Carpenter, 2013). O valor da saliva como método de diagnóstico é um campo emergente na periodontia e de diversos pesquisadores que visam a possibilidade de um exame complementar (Sánchez *et al.*, 2012; Ranganath *et al.*, 2012; Salminen *et al.*, 2014). Uma grande vantagem do teste de saliva é a facilidade com que as amostras de diagnóstico podem ser recolhidas pelos profissionais da saúde, além de não oferecer risco à integridade dos tecidos bucais do paciente (Giannobile *et al.*, 2009; Saygun *et al.*, 2011). Segundo Giannobile (2012), a avaliação da saliva pode oferecer um futuro promissor para o diagnóstico das doenças periodontais e monitorar os resultados do tratamento.

Segundo Zhang *et al.* (2009), a utilização da saliva como biomarcador para doença periodontal pode auxiliar na avaliação de sua presença ou do risco para o seu desenvolvimento. Alguns poucos estudos utilizaram os microrganismos salivares para identificar o estado ou a presença da doença periodontal. Entre esses, verificou-se que pacientes com doença periodontal avançada apresentam elevados índices de periodontopatógenos na saliva (Ramseier *et al.*, 2009). Saygun *et al.* (2011) sugeriram que a quantidade salivares de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Prevotella intermedia* podem identificar a presença de periodontites.

Os estudos tornam-se ainda mais escassos para a avaliação e determinação do envolvimento das glicoproteínas e enzimas salivares na doença periodontal. O estudo realizado por Sánchez *et al.* (2012) sugere que em processos inflamatórios tem-se um incremento de mucinas e amilase pelas glândulas, a fim de aumentar o potencial de proteção da saliva, e essas retornam à taxa normal de secreção após a resolução da inflamação. Além disso, esses autores verificaram associação positiva entre as concentrações de mucinas, amilases salivares e a profundidade de sondagem e o nível de inserção clínica.

2.1.1 Viscosidade salivar

A viscosidade salivar pode ser compreendida como a resistência oferecida pela saliva ao escoamento. A viscosidade de um líquido depende das forças de atração intermoleculares apresentadas e do grau de fricção entre as diferentes camadas moleculares que se movem paralelamente no interior do fluido (Chimenos-Krustner e Marques-Soares, 2002). Sabe-se que essa propriedade da saliva, se deve à presença de mucina, que, por sua vez, é responsável pela ação lubrificante. A viscosidade salivar das glândulas submandibular e sublingual é mais elevada que a da glândula parótida, especialmente sob estímulo (Zussman *et al.*, 2007).

A saliva possui uma organização macromolecular sensível à concentração de cálcio que media ligações cruzadas entre as mucinas de alto peso molecular e aumenta a viscosidade salivar (Raynal *et al.*, 2003). Os níveis de cálcio podem estar modificados nos pacientes com doença periodontal e as alterações quantitativas na composição química da saliva podem ser relevantes para o diagnóstico e a progressão dessa patologia (Koss *et al.*, 2009).

Demonstrou-se em estudos que a viscosidade salivar aumentada está associada com um aumento de cárie dentária em ratos (Biesbrock *et al.*, 1992) e a presença de erosão dentária em pacientes que sofrem de bulimia (Milosevic e Dawson, 1996). Poucos estudos relacionaram as propriedades físicas da saliva com a doença periodontal (Hirotsu *et al.*, 2006; Hirotsu *et al.*, 2008; Almeida *et al.*, 2013). No estudo realizado por Almeida *et al.* (2013), a viscosidade da saliva foi maior no grupo de pacientes com doença periodontal comparado ao grupo de indivíduos periodontalmente sadio.

2.1.2 Fluxo salivar

Os componentes antimicrobianos constituintes da saliva, tais como IgA, IgG, IgM, lisozima, lactoperoxidase, lactoferrina, mucinas e histidinas, bem como a ação de limpeza da saliva a torna um mecanismo de defesa contra patógenos orais. A secreção salivar diária varia entre 1,0 e 1,5 L (Amaral *et al.*, 2012). O fluxo salivar em repouso é influenciado pelo gênero, mulheres salivam menos, idade e número de dentes perdidos (López *et al.*, 1995; Caplan e Hunt, 1996; Flink *et al.*, 2008).

Em uma situação em que o fluxo salivar é diminuído, a limpeza bacteriana torna-se reduzida e a homeostase microbiana torna-se desequilibrada (Syrjälä *et al.*, 2011). A hipossalivação pode causar xerostomia, alterar o sabor dos alimentos e tornar simples atos,

como a mastigação e a fala, difíceis. Esses sintomas podem afetar significativamente a qualidade de vida dos indivíduos.

Com a diminuição do fluxo salivar, causado por doenças sistêmicas, ingestão de vários medicamentos ou radioterapia após câncer de cabeça e pescoço, tem-se um aumento da viscosidade salivar, diminuição do pH e alterações nas composições de proteínas salivares (Tschoppe *et al.*, 2010). As superfícies da mucosa oral em pacientes com xerostomia pode reter MUC5B, mucina de alto peso molecular, e outras proteínas salivares (Pramanik *et al.*, 2010). O baixo fluxo salivar já foi relacionado positivamente com a presença de um número reduzido de elementos dentários (Flink *et al.*, 2008), no entanto, foi fracamente associado à diminuição da probabilidade de ter dentes com bolsas periodontais (Syrjälä *et al.*, 2011). Assim, a relação entre o fluxo salivar e a doença periodontal ainda permanece incerta.

2.2 Saburra lingual

A formação de saburra lingual é um fenômeno normal e ocorre, na maioria das vezes, nas regiões média e posteriores da língua com diferentes cores e espessuras (Mantilha Gómez *et al.*, 2001). A saburra lingual é constituída de bactérias, grande quantidade de células epiteliais descamadas, metabólitos do sangue, restos de alimentos e leucócitos de bolsas periodontais (Quirynen *et al.*, 2009). Esse biofilme é facilitado pelos numerosos microambientes formados pela anatomia do dorso lingual.

O grau de saburra lingual é um fator importante na formação da halitose em pacientes periodontalmente saudáveis e com periodontite (Bosy *et al.*, 1994). O estudo realizado por Van Tornout *et al.* (2013) analisou os possíveis fatores relacionados à presença de saburra lingual em 96 pacientes com queixa de halitose. Os resultados mostraram que a presença de saburra lingual estava fortemente relacionada aos fatores relacionados com a higiene bucal. Alguns estudos enfatizam que medidas de limpeza da língua reduzem a carga microbiana odorífera (Pham *et al.*, 2011; Kamaraj e Bhushan, 2014).

A saburra lingual é utilizada na tradicional medicina chinesa para diagnóstico das condições patológicas e funções fisiológicas, no entanto, a sua objetividade e reprodutibilidade tem sido questionada (Ye *et al.*, 2014). O exame pode ser afetado por algumas circunstâncias tais como fonte de luz, condições do examinador e postura do paciente (Lu *et al.*, 2012).

2.3 Doenças periodontais

A doença periodontal caracterizada pela gengivite, apresenta-se como uma inflamação da porção marginal da gengiva, induzida pelo biofilme bacteriano (McClanahan *et al.*, 2001). Essa doença possui caráter reversível, após a remoção dos fatores locais, e possui como sinais clínicos o edema, eritema e sangramento.

A forma invasiva da doença periodontal, periodontite, causa a degeneração do osso alveolar (Jain *et al.*, 2008). Essa doença, apesar de ser uma doença inflamatória, causada principalmente pelas bactérias do biofilme subgengival, é, também, mediada pela resposta imune do hospedeiro (Tariq *et al.*, 2012). Além disso, é modulada por outros fatores, tais como higiene bucal precária, carga viral, diabetes, tipo de dieta, fatores socioeconômicos e comportamentais (Persson, 2006).

A periodontite trata-se de um estado inflamatório crônico irreversível que progride com a perda de fibras colágenas, a migração apical do epitélio, a formação de bolsas periodontais e a reabsorção do osso alveolar. Quando não tratada, essa doença causa mobilidade e perda dentária (Offenbacher, 1996).

2.3.1 Aspectos conceituais e classificatórios da doença periodontal

O *World Workshop* em Periodontia realizado em 1989 classificou as doenças periodontais em periodontite do adulto, periodontite de início precoce, periodontite associada aos fatores sistêmicos, periodontite ulcerativa necrosante e periodontite refratária. No entanto, uma nova classificação foi proposta em 1999 pela Academia Americana de Periodontia (AAP). Segundo Armitage (2000), o principal motivo desta nova classificação decorreu das deficiências geradas pela anterior que, por sua vez, não incluía alterações gengivais, gengivites e vinculava o acometimento da doença à idade do paciente e as taxas de progressão da doença.

Dessa forma, a doença periodontal passou a ser dividida em dois grandes grupos, gengivites e periodontites. As gengivites foram subclassificadas em gengivites associadas ou não ao biofilme bacteriano. As periodontites, por outro lado, foram subclassificadas em crônicas, agressivas, como manifestação de doenças sistêmicas, doenças periodontais necrosantes, abscessos periodontais, lesões periodonto-endodônticas e deformidades, condições adquiridas ou de desenvolvimento (Armitage, 2000).

A mais nova classificação das doenças gengivais reconhece fatores sistêmicos na modificação da expressão clínica da gengivite provocada por placa bacteriana. Incluiu-se, assim, alterações do sistema endócrino, discrasias sanguíneas, medicamentos e desnutrição. A lesão gengival não induzida por placa é subdividida em de origem bacteriana específica, origem viral, de origem fúngica, de origem genética, manifestação de condições sistêmicas, lesões de trauma, reações de corpo estranho e nenhuma outra específica (Armitage, 2000).

A periodontite crônica é considerada inespecífica para as características histopatológicas e não está relacionada com a idade de início da doença. Essa periodontite caracteriza-se por apresentar taxa de progressão lenta, irritantes locais compatíveis com a severidade da doença e maior ocorrência em adultos (Wiebe e Putnis, 2000).

A periodontite agressiva ocorre em indivíduos geralmente saudáveis, com tendência à agregação familiar, cujas manifestações clínicas caracterizam-se por rápida perda de inserção e destruição óssea, que não condizem com a quantidade de biofilme bacteriano. A periodontite como manifestações de doenças sistêmicas inclui a dificuldade de aderência de leucócitos, hipofosfatasia, defeitos crônicos dos leucócitos e neutropenias cíclicas (Kinane, 1999).

As doenças periodontais necrosantes incluem gengivite ulcerativa necrosante e a periodontite ulcerativa necrosante em um único grupo de doenças. Essas lesões podem ser manifestações de problemas sistêmicos, como a infecção pelo HIV. A razão para a não classificação das mesmas em manifestações sistêmicas se justifica, segundo Armitage (2000), em outros fatores predisponentes como o estresse e o fumo.

A categoria abscessos periodontais constitui-se do abscesso gengival, periodontal e pericoronário. As lesões periodontais-endodônticas remetem-se aos envoltimentos de polpa e periodonto e justifica-se pelas particularidades clínicas. Finalmente, a adição da categoria relacionada às deformidades e condições sistêmicas incluem alterações de fatores locais associados aos dentes, restaurações, deformidades mucogengivais e trauma oclusal. Essa nova categoria, segundo Wiebe e Putnis (2002), refere-se aos importantes fatores modificadores da susceptibilidade do indivíduo.

2.3.2 Indicadores clínicos da doença periodontal

Entre os parâmetros clínicos tradicionais utilizados para avaliar as condições clínicas dos tecidos periodontais está o sangramento provocado pela sondagem, a profundidade de

sondagem, o nível de inserção, o índice de placa e o exame por imagem para avaliação de perda óssea alveolar (Polson e Goodson, 1985).

O sangramento à sondagem, sinal de inflamação, tem sido incorporado aos diversos sistemas de indexação para a avaliação das condições periodontais. A medida de profundidade de sondagem, por sua vez, representa a distância, em milímetros, da margem gengival ao fundo do sulco ou bolsa periodontal realizado com o auxílio de uma sonda periodontal (Lindhe, 1999). O nível de inserção clínico (NIC), por outro lado, expressa a distância em milímetros entre a junção cimento esmalte ao fundo da bolsa ou sulco periodontal.

Segundo a Academia Americana de Periodontia (AAP, 2000ab), o diagnóstico de periodontite deve se dar por meio de um exame periodontal completo em que pelo menos um sítio na cavidade bucal possua nível de inserção clínica maior ou igual a 4 mm e profundidade de sondagem maior ou igual a 4 mm. **Quanto à sua extensão, a doença é classificada em crônica, mais de 30% de sítios acometidos, e agressiva, mobilidade e migração dos incisivos e primeiros molares permanentes (Susin e Albandar, 2005).** Para se determinar a fase em que o dano se encontra, 1 a 2 mm de perda clínica de inserção é considerada periodontite leve, 3 a 4 mm de perda clínica de inserção, doença periodontal moderada e 5 mm ou mais de perda de inserção, doença periodontal avançada.

2.3.3 Epidemiologia das doenças periodontais

A gengivite é considerada uma doença de caráter universal que, segundo o estudo realizado por Li *et al.* (2010), afeta 93,9% dos americanos. Diferentes critérios tem sido utilizados em pesquisas para avaliação da presença de periodontite. Segundo estudo realizado por Costa *et al.* (2009) utilizaram definições de periodontite comparadas em relação à sensibilidade, especificidade e valores preditivos positivos e negativos. Neste estudo as taxas de prevalência e extensão da periodontite apresenta variabilidade, de 13,8% a 65,3% e de 9,7% a 55,6%, respectivamente. Os autores verificaram que a definição de Page e Eke (2007) para periodontite é pela presença de pelo menos dois sítios interproximais com nível de inserção clínico (NIC) ou profundidade de sondagem (PS) maior ou igual a 4 mm, não no mesmo dente. Essa definição foi considerada como padrão-ouro.

De acordo com os resultados recentes apresentados pelos Centros Americanos para Controle de Doenças e Prevenção (CDC), cerca de metade dos americanos com idade de 30 anos ou mais apresentam doença periodontal (Eke *et al.*, 2012). Estimou-se que 47,2%, ou 64,7 milhões de adultos americanos tenham periodontite distribuída entre leve (8,7%),

moderada (30%) ou avançada (8,5%). Aos 65 anos ou mais, no entanto, essas taxas de prevalência aumentam para 70,1%, sendo 64% com periodontite moderada ou avançada. Além disso, os resultados também indicam que a doença periodontal é maior em homens do que em mulheres (56,4% e 38,4%, respectivamente) e afeta mais os mexicano-americanos (66,7%). Outros segmentos com altas taxas de prevalência incluem os fumantes (64,2%), a população que vive abaixo do nível de pobreza federal (65,4%) e a parcela da população com menos de um ensino médio (66,9%). No que se refere à extensão da doença, 56% da população adulta possui 5% ou mais de sítios com NIC ≥ 3 mm e 18% apresenta 5% ou mais de sítios com PS ≥ 4 mm.

2.4 Compostos sulfurados voláteis

A produção de compostos sulfurados voláteis (CSV) e cadeias curtas de ácidos graxos, como os ácidos butírico, propiônico, valérico e diaminas (cadaverina e putrescina), pelas bactérias presentes na saliva, biofilme e saburra lingual, é responsável pelos odoríferos, capazes de estimular as células olfativas (Goldberg *et al.*, 1994). Em estudo realizado com 2000 pacientes com halitose, a maior parte da origem dos gases foi atribuída à cavidade bucal (75,8%), causada principalmente pela presença de saburra lingual (43,3%) ou a combinação de gengivite e periodontite (18,2%) (Quirynen *et al.*, 2009). Nesse estudo, a pseudo-halitose ou halitofobia, sensação de ter halitose apesar de ser não diagnosticada, e a origem extra-oral foi encontrada em 16% e 4% dos pacientes, respectivamente. O $(\text{CH}_3)_2\text{S}$ é, também, relacionado com a halitose de origem extra oral, que incluem condições do trato respiratório superior e inferior, distúrbios gastrointestinais e neurológicas, além de outras alterações sistêmicas e algumas drogas (van den Broek *et al.*, 2007).

Alguns estudos mostraram que a cavidade bucal contribui em cerca de 80-90% na prevalência da halitose (Miyazaki *et al.*, 1995; Tangerman e Winkel, 2007). No Brasil, a prevalência da halitose foi estimada em 15% e acomete três vezes mais homens que mulheres e acima de 20 anos de idade (Nadanovsky *et al.*, 2007).

A cromatografia gasosa apresenta a capacidade de identificar e quantificar, separadamente, os níveis dos CSV envolvidos na formação do mal odor bucal. Esse método de diagnóstico de halitose é considerado o mais objetivo e sensível (van der Broek *et al.*, 2008). Além disso, os compostos voláteis presentes na saliva incubada e do fluido gengival podem ser analisados por meio desse método físico. Segundo Murata *et al.* (2002), as vantagens desse método, o torna o mais indicado para a utilização em pesquisas.

2.4.1 Compostos sulfurados voláteis, a viscosidade e o fluxo salivar

É de conhecimento geral que o metabolismo de algumas bactérias da cavidade bucal é a principal causa da halitose, processo em os CSV são formados. O H_2S , a CH_3SH e o $(CH_3)_2SH$, produzidos, principalmente, pelas bactérias anaeróbicas gram-negativas, são os mais importantes CSV dessa condição (Krespi *et al.*, 2006; Bollen e Beikler *et al.*, 2012).

Alguns estudos destacam a importância da saliva no processo de formação dos CSV. As proteínas totais salivares podem estar alteradas qualitativamente e quantitativamente em indivíduos com halitose e desempenhar um papel importante na etiopatogenia da doença periodontal (Rocha *et al.*, 2012; Salazar *et al.*, 2013). As glicoproteínas salivares podem estar relacionadas com a geração dos CSV, tais como CH_3SH e H_2S (Takehara *et al.*, 2010). A quantidade total de proteínas foram significativamente correlacionadas com os níveis de CH_3SH e a razão entre CH_3SH/H_2S (Sopapornamorn *et al.*, 2007).

Kleinberg *et al.* (1996) demonstraram que o aumento da concentração de mucina na saliva favorece a fixação de matéria orgânica e de microrganismos, predispondo a formação da saburra lingual e, conseqüentemente, a exalação de odores da boca. A diminuição do fluxo salivar pode resultar em um aumento da concentração de proteínas (Yarat *et al.*, 1999) e afetar as condições orais, levando ao acúmulo de detritos, placa bacteriana e proliferação de bactérias anaeróbicas gram-negativas (Kleinberg *et al.*, 1996; Calil e Marcondes, 2006; Antoniazzi *et al.*, 2009). Esse processo pode resultar na produção de CSV (Takehara *et al.*, 2010).

No estudo realizado por Takehara *et al.* (2010) observou-se associação entre a quantidade total de proteínas salivares, taxa de fluxo salivar reduzida e níveis de CH_3SH em indivíduos com halitose. Além disso, esse estudo evidenciou que as proteínas salivares podem ser uma das fontes do mal odor bucal e acelerar os níveis de CSV.

No entanto, alguns autores verificaram que não há correlação significativa entre o fluxo salivar e a formação de CSV (Miyazaki *et al.*, 1995; Koshimune *et al.*, 2003). Em indivíduos que apresentavam hipossalivação grave, menor que 0,1 ml/min, entretanto, observou-se correlação positiva na formação da saburra lingual (Koshimune *et al.*, 2003). A relação entre o fluxo salivar e a formação dos compostos sulfurados voláteis, assim, ainda não está bem estabelecida em estudos clínicos.

2.4.2 Compostos sulfurados voláteis e doença periodontal

Algumas bactérias oriundas da saliva (Takeshita *et al.*, 2010), biofilmes subgingivais de pacientes com periodontite (De Boever *et al.*, 1994), assim como da língua (Kazor *et al.*, 2003), produzem substâncias odoríferas *in vitro*. As bactérias periodontopatógenas, tais como *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola* são altamente capazes de produzir os CSV (Ratcliff e Johnson, 1999; Nakano *et al.*, 2002; Kishi *et al.*, 2012).

Em alguns estudos, altos níveis de CSV tem sido encontrados ocasionalmente em indivíduos periodontalmente saudáveis (Bosy *et al.*, 1994; Hinode *et al.*, 2003). Por outro lado, o mau odor oral tem mostrado relação significativa com o estado periodontal em estudos clínicos e epidemiológicos (Takeuche *et al.*, 2010; Kishi *et al.*, 2012).

Bosy *et al.* (1994) associaram halitose, medidas da doença periodontal e atividade da enzima tripsina-like de patógenos periodontais na língua de 127 indivíduos atendidos na Clínica de Avaliação de Halitose em Toronto, no Canadá. A análise dos dados revelou que a halitose, moderada a severa em teste organoléptico, foi detectada em ambos os indivíduos periodonticamente saudáveis ou doentes.

Figueiredo *et al.* (2002) analisaram a relação entre os níveis de CSV e a presença de *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis* e *Bacteroides forsythus*, espécies altamente associadas com a doença periodontal, na placa subgingival de 41 pacientes com e sem periodontite. A presença dessas espécies e os valores de CSV foram significativamente maiores em indivíduos com profundidade de sondagem maior que 3 mm.

Lee *et al.* (2003) investigaram a relação entre as concentrações de CSV na saburra lingual e saúde periodontal em 40 indivíduos em Seul, na Coreia do Sul. Esse estudo demonstrou que a saburra lingual é o fator primário na indução da halitose e que sua remoção é a principal responsável pela redução dos níveis desses gases, mesmo em indivíduos que apresentam a doença periodontal.

Tanaka *et al.* (2004) verificaram que indivíduos com halitose apresentam altas proporções de *Tannerella forsythia* que contribuem para a origem da halitose. Faveri *et al.* (2006), por sua vez, avaliaram o efeito da ausência de higienização da língua sobre a microbiota de seu dorso. Um aumento significativo na contagem dos periodontopatógenos *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythensis*, *Prevotella intermedia* e *Prevotella nigrescens*, foi associado ao aumento dos níveis de CSV.

John e Vandana (2006) investigaram a relação entre os parâmetros clínicos, toxinas ligadas à halitose e graus de halitose em 20 pacientes com periodontite crônica com PS entre 5 a 7mm. Esses autores não encontraram correlação entre essas variáveis.

Haraszthy *et al.* (2007) identificaram, pela primeira vez, as bactérias não cultiváveis, além das cultiváveis, presentes no dorso da língua de oito indivíduos com halitose e cinco sem halitose. Os resultados desse experimento sugerem que os indivíduos com halitose são afetados por espécies de bactérias específicas, tais como *Solobacterium moorei*, gram-positiva, não encontradas nos indivíduos sem essa condição.

Tsai *et al.* (2008), em um ensaio clínico, investigaram a relação entre os parâmetros periodontais e os níveis de CSV em 27 pacientes diagnosticados com periodontite moderada. Além disso, avaliaram a melhoria das halitoses relatadas como severa, por meio da limpeza da língua, tratamento periodontal não cirúrgico constituído de raspagem e alisamento radicular, remoção de restauração não satisfatória e instrução de higiene oral, e utilização de bochecho com clorexidina associada ao cetílico peridíneo. Os resultados revelaram que não foi encontrada relação significativa entre os parâmetros clínicos periodontais com CSV e que a limpeza da língua foi capaz de reduzir, em mais de 50%, os CSV.

Takeushi *et al.* (2010) investigaram a relação entre a halitose e a doença periodontal por meio de cromatografia gasosa, teste organoléptico, graus de saburra lingual e parâmetros periodontais. Os resultados mostraram que os parâmetros periodontais e níveis de CSV aumentam de acordo com o grau de halitose e estão correlacionados significativamente com os parâmetros periodontais. Além disso, os autores observaram que os parâmetros de halitose diminuíram significativamente com o tratamento periodontal, como instrução de higiene bucal, raspagem e alisamento radicular e cirurgia periodontal, realizado em 89 pacientes.

O estudo realizado por Pham *et al.* (2011), em 102 pacientes com periodontite e 116 com gengivite, indicou que o tratamento periodontal convencional e a limpeza da língua contribuem para a redução da halitose. Somente a limpeza da língua, no entanto, apresenta uma abordagem primária para reduzir a halitose em pacientes com gengivite. Não foi verificado, associação significativa entre os níveis de CSV e os parâmetros clínicos periodontais.

Kishi *et al.* (2012) observaram uma relação significativa entre os níveis de CSV, colonização de bactérias periodontopatogênicas na saburra lingual e amostra do biofilme de primeiros e segundos molares. A análise dos resultados associou, especificamente, a colonização de *Porphyromonas gingivalis*, seguida de *Prevotella intermedia* e *Treponema denticola* com a concentração dos CSV.

Makino *et al.* (2012) realizaram o primeiro estudo longitudinal para investigar a associação entre os níveis de CSV do ar bucal e a progressão da doença periodontal. Para isso, foram avaliados 241 pacientes dentados, não fumantes e com 70 anos de idade, durante três anos. Os resultados revelaram associação significativa entre a progressão da doença periodontal, aumento nos níveis de CSV, número de remanescentes dentais e a perda de inserção clínica máxima na população dentada idosa. Esses resultados sugerem que as medidas de CSV podem ser usadas para o diagnóstico da progressão da doença periodontal.

Apatzidou *et al.* (2013) analisaram a associação entre a detecção de halitose e a condição periodontal em pacientes não fumantes por meio de monitor portátil de sulfeto, além da quantidade de *Fusobacterium nucleatum* e *Porphyromonas gingivalis* no dorso lingual desses indivíduos por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR). Evidenciou-se que pacientes com doença periodontal apresentam maior risco para halitose comparado aos indivíduos saudáveis. Além disso, foi observado que a porção posterior do dorso da língua é uma importante fonte de compostos odoríferos. A *Porphyromonas gingivalis*, residente na língua dos pacientes periodontais podem desempenhar um papel chave na produção do mal odor de origem bucal.

Sabe-se que os níveis de metilmercaptana são maiores em pacientes com periodontite (Yaegaki e Sanada, 1992). No entanto a relação entre a doença periodontal e a halitose ainda não está bem estabelecida. A diferença entre os dispositivos de medição dos níveis de CSV, dos parâmetros adotados para avaliação clínica periodontal e entre o número de pacientes estudados, segundo Takeuche *et al.* (2010), podem afetar as diferenças observadas na correlação entre as doenças periodontais e a halitose.

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 *Objetivo geral*

Avaliar a relação entre o fluxo e a viscosidade salivar e os compostos sulfurados voláteis nos pacientes de acordo com a condição clínica periodontal.

3.2 *Objetivos específicos*

- Mensurar as concentrações de sulfidreto (H_2S), metilmercaptana (CH_3SH) e dimetilsulfeto ($(CH_3)_2SH$) em indivíduos com diferentes condições periodontais.
- Correlacionar o fluxo salivar em repouso e estimulado com os níveis de CSV.
- Correlacionar a viscosidade salivar clínica e laboratorial com os níveis de CSV.

MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Seleção da amostra

Foram incluídos na amostra 124 indivíduos de 27 anos ou mais atendidos na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e no Exército Brasileiro no período de julho a dezembro de 2013. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP-UFMG) sob parecer n. 274.671 (ANEXO A). Todos os pacientes foram convidados a participar do estudo por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO B).

Utilizou-se amostra de conveniência. Todos os resultados foram considerados significativos para uma probabilidade de significância inferior a 5% ($p < 0,05$), tendo, portanto, pelo menos 95% de confiança nas conclusões apresentadas.

Os pacientes foram divididos em quatro grupos: Grupo 1 ($n = 34$), periodontalmente sadio; Grupo 2 ($n = 26$), gengivite; Grupo 3 ($n = 31$), periodontite leve-moderada; Grupo 4 ($n = 33$), periodontite avançada, conforme os critérios de inclusão.

4.1.1 Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo indivíduos que apresentaram os seguintes critérios de elegibilidade para cada um dos seguintes grupo estudados:

- Grupo 1: Periodontalmente saudáveis
 - Menos de 10% de sítios com sangramento à sondagem (SS) e nenhum sítio com profundidade de sondagem (PS) > 3 mm (Apatzidou *et al.*, 2013).
- Grupo 2: Gengivite
 - Diagnóstico clínico de gengivite.
 - Mais de 10% dos sítios com SS e PS < 4 mm.
- Grupo 3: Periodontite leve-moderada
 - Pacientes com parâmetros clínicos de periodontite leve ou moderada.
 - Periodontite leve foi definida como a presença de pelo menos dois sítios interproximais com PS ≥ 4 mm e nível de inserção clínico (NIC) ≥ 3 mm no mesmo sítio (AAP, 2000b).

- Periodontite moderada foi definida como a presença de PS até 6 mm com NIC >4 mm no mesmo sítio (AAP, 2000b).
- Grupo 4: Periodontite avançada
 - Diagnóstico clínico de periodontite avançada.
 - PS > 6 mm e NIC > 4 mm no mesmo sítio (AAP, 2000a).

4.1.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo, os indivíduos que apresentaram pelo menos uma das seguintes condições:

- menos de 14 dentes presentes;
- tabagista ou ex-fumantes em abstinência há menos de dois anos (Tomar e Asma, 2000);
- uso de antibiótico nos últimos seis meses;
- tratamento periodontal nos últimos seis meses (John e Vandana, 2006);
- pacientes com síndrome da imunodeficiência humana (AIDS), diabetes, insuficiência renal crônica, cirrose hepática e carcinomas da via aero digestiva (John e Vandana, 2006);
- grávidas e lactantes (John e Vandana, 2006);
- pacientes que não completaram os exames (ANEXO C, “Ficha Clínica” e ANEXO D, “Periodontograma”);
- próteses totais e/ou parciais, grandes cavidades de cárie ou presença de lesões dos tecidos bucais (Apatzidou *et al.*, 2013);
- pacientes que se recusaram a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

4.2 Desenho do estudo

Foi realizado um estudo clínico transversal com grupos de comparação.

4.3 Parâmetros clínicos periodontais

A higiene bucal foi avaliada por meio do índice de placa, proposto por Quigley e Hein (1962) e modificado por Turesky 1970. Um escore de 0 a 5 foi utilizado para avaliar as superfícies não restauradas vestibular e lingual dos elementos de todos os incisivos centrais, caninos e primeiros molares. Em que 0, significa a ausência de placa; 1, flocos separados de placa no margem cervical do dente; 2, uma fina e continua faixa de placa acima de 1 mm na

margem cervical do dente; 3, faixa maior que 1 mm, mas que cobre menos de um terço da coroa do dente; 4, presença de placa que cobre pelo menos um terço, mas menos que dois terços da coroa do dente; 5, placa que cobre pelo menos dois terços ou mais da superfície do dente. Não foi utilizado a sonda periodontal ou substância evidenciadora para a realização desse exame.

Parâmetros periodontais, como PS (distância da margem gengival ao fundo do sulco ou bolsa periodontal), NIC (distância da junção cimento-esmalte até o fundo do sulco ou bolsa periodontal) e SS (classificada como: -, sem sangramento ou +, sangramento dentro de 30 segundos após a sondagem), foram avaliados em seis sítios por dente (mésio, médio, e disto-vestibular; mésio, médio, e disto-lingual) para todos os dentes, excluindo os terceiros molares (Eke *et al.*, 2012). Para a medição em cada sítio, uma sonda periodontal PCPUNC 15 (Hu-Friedy®) foi posicionado paralela ao longo eixo do dente por um único examinador previamente treinado e calibrado. Medidas de PS foram registradas e repetidas dentro de um intervalo de uma semana para 10% dos indivíduos selecionados ao acaso a partir da amostra final (N = 124). Os dados foram testados através de teste não paramétrico de kappa (medições intra-examinador). Os resultados mostraram valores satisfatórios de kappa ponderado para PS de 0,82.

4.4 Halimetria com Oral Chroma™

A concentração dos compostos sulfurados voláteis foi mensurada pelo OralChroma™ (Abilit, Osaka, Japão) (Figura 1). Os participantes foram solicitados a não comer alimentos que contivessem temperos fortes como alho, cebola e pimenta, não beber bebidas alcoólicas e não usar anti-sépticos bucais 24 horas antes da medição, não realizar a higiene bucal quatro horas antes e não comer e beber por uma hora antes do exame, segundo o ANEXO E, “Recomendações Pré-Halimetria”. Previamente ao exame, os pacientes foram orientados a realizar bochecho com solução de cisteína (16 g/100 mL), aminoácido rico em enxofre e substrato para a ação de bactérias anaeróbias proteolíticas (Tozentich, 1977), e manter a boca fechada por dois minutos. Uma seringa descartável de 1 mL de capacidade foi, então, inserida na cavidade bucal do paciente e mantida entre os lábios por três minutos. Em seguida, o êmbolo foi puxado e empurrado lentamente por três vezes antes de ser removido da boca do paciente. Um volume de 0,5 ml de ar foi injetado na entrada da OralChroma™ conforme orientações do fabricante. As concentrações de H₂S, CH₃SH e (CH₃)₂SH foram obtidas automaticamente em partes por bilhão (ppb) e os valores foram anotados. Valores iguais ou

superiores aos limiares de percepção para os gases H_2S , CH_3SH e $(CH_3)_2SH$, 112 ppb, 26 ppb e 8 ppb, respectivamente, foram considerados altos. Cada cromatograma foi visualmente revisado antes que os resultados foram aceitos (Tangerman e Winkel 2008).



FIGURA 1: Aparelho Oral Chroma™.

4.5 Índice de saburra lingual

Utilizou-se o índice de saburra lingual (ISL), preconizado por Shimizu *et al.* (2007). De acordo com esse índice, a superfície da língua é dividida em nove partes em que cada uma é avaliada segundo uma escala de 0 a 2, na qual 0 corresponde a ausência de saburra lingual, 1 significa a presença de saburra lingual com papilas linguais visíveis e 2, por sua vez, corresponde a uma saburra lingual espessa com papilas linguais não visíveis. O resultado obtido, por meio da somatória dos valores de cada uma das nove partes, foi, então, dividido por 18 e, em seguida, multiplicado por 100 para se obter o índice final (0-100%).

4.6 Sialometria

Realizou-se sialometria em repouso sob estímulo. Para a coleta de saliva, o paciente permaneceu dois minutos sem executar movimentos de mastigação, deglutição e fala, sentado com o tronco voltado para frente. Para sialometria em repouso, o paciente foi orientado a depositar toda a saliva formada na boca durante cinco minutos em um tubo graduado a fim de

se verificar a quantidade de saliva em mililitros (ml). O fluxo salivar foi obtido por meio da divisão dos mililitros totais de saliva coletadas por 5, obtendo-se, assim, o resultado em ml/min. Para sialometria sob estímulo, o paciente foi orientado a mastigar o sialogogo mecânico (hiperbolóide) (Figura 3) e prosseguir de acordo com os procedimentos descritos anteriormente (Amaral *et al.*, 2012). Os valores utilizados como parâmetro para a secreção salivar ideal em repouso e estimulada foram acima de 0,3 ml/min e igual ou maior que 1,0 ml/min, respectivamente (Ericsson e Hardwick, 1978; Falcão *et al.*, 2014).



FIGURA 2: Sialogogo mecânico (hiperbolóide).

4.7 Avaliação da viscosidade salivar clínica

Para avaliação da viscosidade salivar clínica (Falcão, 2005), o paciente sentado, com os olhos abertos foi instruído a succionar a mucosa jugal bilateralmente de modo a acumular a saliva produzida pelas glândulas salivares maiores e menores sobre a língua. Após o acúmulo de saliva, foi mensurado o comprimento do “fio” salivar por meio da tração bi digital (Figura 3). Esse procedimento foi realizado três vezes a fim de se calcular a média do comprimento do “fio” salivar. Ao final, a média das três medidas coletadas do “fio” salivar na unidade em milímetros foi anotada na ficha do paciente.



FIGURA 3: Análise da viscosidade salivar clínica.

4.8 Avaliação da viscosidade salivar laboratorial

Para a realização da viscosidade salivar laboratorial (VSL), foi realizado um estudo piloto com 17 amostras de saliva. Para isso, a VSL foi obtida antes do congelamento à -20°C , com dois dias e 14 dias de congelamento. Como resultados, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as três avaliações (Tabela 1).

TABELA 1: Análise comparativa da viscosidade salivar laboratorial.

	Medidas descritivas				*p
	Mínimo	Máximo	Média	Desvio-padrão	
Antes do congelamento	1,17	2,42	1,54	0,31	
Depois do congelamento	1,19	1,89	1,53	0,23	
Diferença	-0,72	0,74	0,01	0,37	0,928

*Teste t de Student para amostras pareadas.

Nesse sentido, com o operador em silêncio, o paciente foi orientado a se sentar com os olhos abertos e depositar toda a saliva produzida em resposta a estimulação, com o auxílio de um sialogogo mecânico, até completar a marca de 16 ml da saliva estimulada no tubo graduado. As amostras de saliva foram, então, mantidas à -20°C até no máximo 14 dias. Posteriormente, a mensuração foi conduzida no reômetro de Brookfield modelo DV-III (Figura 5) à 37°C e taxa de cisalhamento de 160 s^{-1} (Balmer e Hirsch, 1978).



FIGURA 4: Reômetro de Brookfield interligado ao termostato.

4.9 *Análise estatística*

A avaliação da normalidade entre os quatro grupos (periodontalmente saudável, gengivite, periodontite leve-moderada e periodontite avançada) foi realizada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Utilizou-se a técnica de Análise de Variância com um fator para as comparações entre grupos em relação às variáveis de interesse. Nos casos em que a análise indicou a existência de alguma diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos, realizou-se as comparações múltiplas de médias segundo o teste LSD para verificar entre quais grupos realmente estava a diferença (Montgomery, 1991).

Na impossibilidade de utilização do teste paramétrico t de student, a comparação entre dois grupos independentes em relação a uma variável de interesse foi realizada utilizando-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Nesse sentido, na impossibilidade de utilização do teste Análise de Variância (ANOVA), paramétrico, utilizou-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis para a comparação entre três ou mais grupos independentes em relação à uma variável de interesse (Conover, 1980). A análise de Correlação de Pearson, por outro lado, foi utilizada como uma forma de avaliar a relação entre duas variáveis de interesse (Johnson e Bhattacharyya, 1986). Além disso, realizou-se análise multivariada para tentar explicar as possíveis influências sobre o comportamento de algumas variáveis.

Para a análise dos resultados, utilizou-se o software estatístico SPSS versão 17.0 para Windows. Todos os resultados foram considerados significativos para uma probabilidade de significância inferior a 5% ($p < 0,05$), tendo, portanto, pelo menos 95% de confiança nas conclusões apresentadas.

RESULTADOS

5 RESULTADOS

Os resultados são apresentados na forma de artigo científico.

5.1 *Artigo*

Relation of volatile sulfur compounds with viscosity, salivary flow and periodontal status

*Maiza LV Silva¹, Fernando O Costa¹, Renatha D Miranda¹, Meiriane CF Soares², Hallen DR Calado², Mara CL Amorim³, Tânia MP Amaral¹, Ricardo A Mesquita¹

¹Department of Oral Pathology Surgery. School of Dentistry, Universidade Federal de Minas Gerais. Av. Antônio Carlos, 6627. Belo Horizonte, MG, Brazil

²Department of Chemistry. Institute of Exact Sciences, Universidade Federal de Minas Gerais. Av. Antônio Carlos, 6627. Belo Horizonte, MG, Brazil.

³Dentist. 4th Military Region Command. Av. Raja Gabaglia, 450. Belo Horizonte, MG, Brazil.

Running title: Saliva and periodontal disease.

Keywords: saliva; viscosity; periodontal disease; sulfur compounds

Correspondent address:

Tânia Mara Pimenta Amaral
Avenida Presidente Antônio Carlos, 6627
School of Dentistry, Department of Oral Pathology Surgery
CEP: 31270-100
taniapamaral@uol.com.br <mailto:cbbrasileiro@gmail.com>
Telephone and Fax Number: 0055-31-3409 2489

Conflict of Interest and Sources of Funding Statement

The authors declare that there are no conflicts of interest in this study. This work was supported by *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)*, Brazil (APQ-01835-13).

Abstract

Aim: To evaluate the relation of volatile sulfur compounds with viscosity, salivary flow and periodontal status. **Materials and Methods:** It was selected 124 subjects divided in groups periodontally healthy, gingivitis, mild-moderate chronic periodontitis and advanced chronic periodontitis. Periodontal parameters (probing depth, clinical attachment level and bleeding on probing), clinical salivary viscosity, laboratorial viscosity of stimulated saliva, salivary flow rate were evaluated. The concentrations of volatile sulfur compounds by gas chromatographic method, was measured. **Results:** Clinical salivary viscosity was negatively correlated with probing depth and clinical attachment level. Hyposalivation had positive correlation with periodontal parameters, sulfhydryde (H_2S) ($p = 0.036$) and methylmercaptan (CH_3SH) concentration ($p = 0.013$). Higher concentrations of H_2S were observed in advanced chronic periodontitis and gingivitis groups ($p < 0.001$). H_2S concentration and high concentrations of CH_3SH were positively correlated with periodontal parameters. **Conclusion:** Physical properties of saliva, viscosity and flow are correlated with periodontal status, as well as with H_2S and CH_3SH release.

Clinical relevance

Scientific rationale for study: Saliva has been subject of recent studies. Evaluation of viscosity and salivary flow in periodontal disease related to identification of volatile sulfur compounds, however, it is not well documented.

Principle findings: Low viscosity salivary and hyposalivation is related to periodontal disease. Hyposalivation is associated with bleeding on probing and higher values of sulfhydryde and methylmercaptan. Periodontally disease subjects can be distinguished from periodontally healthy subjects by hyposalivation and higher concentrations of H_2S .

Practical implications: The hyposalivation and high concentrations of H_2S and CH_3SH may be markers for periodontal disease.

Introduction

Saliva is an important and complex fluid. It is composed of organic and inorganic substances, which may vary qualitatively and quantitatively (Fábián et al. 2012; Gabryel-Porowska et al. 2014). The protein and ion components make a solution that is 99% water into a viscoelastic solution capable of to lubricate, be antimicrobial, prevent dissolution of teeth,

aid digestion, and facilitate the taste (Carpenter 2013). Also, the value of saliva as a diagnostic non-invasive method has increased in the last decade (Salazar et al. 2013; Salminen et al. 2014).

The viscosity and flow resistance, depends on the intermolecular attraction and on the degree of friction between different molecular layers moving in parallel within the fluid (Chimenes-Krustner & Marques-Soares 2002). Saliva is a non-Newtonian fluid that shows no deformation rates proportional to the applied shear stress (Schwarz 1987), thus determining its viscosity is not a simple topic (Hirotoimi et al. 2008). This and other rheological properties of saliva as solubility, elasticity and adhesion, depend on the presence of mucin (Veerman et al. 1989). The viscoelasticity of saliva of the sublingual and submandibular salivary glands is greater than the parotid gland (Zussman et al. 2007). Saliva has a macromolecular organization sensitive to the concentration of free calcium that binds to a specific site mucin MUC5B and causes an increase in molecular weight and intrinsic viscosity of saliva (Raynal et al. 2003).

Gender, age and number of missing teeth influence unstimulated salivary flow (Lopez et al. 1995; Flink et al. 2008). The reduction in salivary flow, hyposalivation, changes the composition and increase concentration of salivary proteins (Yarat et al. 1999; Tschoppe et al. 2010). It facilitates the accumulation of debris, forming tongue coating, plaque and proliferation of gram-negative anaerobic bacteria (Kleinberg et al. 1996; Antoniazzi et al. 2009) and can lead to the production of volatile sulfur compounds (VSC) (Takehara et al. 2010).

VSC is represented about 90% by sulfhydryde (H_2S), methylmercaptan (CH_3SH) and dimethyl sulfide ($(CH_3)_2SH$) and are responsible to mouth odor (Tonzetich 1977). The tongue coating, the main cause of oral halitosis (Quiryneen et al. 2009), is correlated with increased the levels of H_2S and CH_3SH (Hinode et al. 2003). The gas chromatographic method is considered the most objective and sensitive to assess CSV (Tangerman & Winkel et al. 2007).

The assessment of salivary flow and viscosity related to the VSC concentration and if these parameters are influenced by periodontal disease is not well-established actually. In this context, it is possible that saliva and concentrations of CSV becomes relevant as an important marker for the diagnosis of periodontal disease and provide scientific evidence for future studies. So, the objective of this study was to evaluate the relation of volatile sulfur compounds with viscosity, salivary flow and periodontal status.

Materials and Methods

Patients and periodontal status

This cross-sectional study includes data from 124 consecutive adults eligible individuals, 61 men and 63 women, with mean age of 41.25 years (27-63 years). These individuals were recruited from dental care service at the Universidade Federal de Minas Gerais and fourth Military Region Command, between June 2013 and December 2013. The clinical inclusion criteria were (i) periodontally healthy individuals having < 10% of sites with bleeding on probing (BOP) and no sites with probing depth (PD) > 3 mm (Apatzidou et al. 2013), (ii) patients with gingivitis presenting with BOP >10% of sites and PD < 4 mm, (iii) patients with mild-moderate chronic periodontitis presented at least two interproximal sites with PD \geq 4 mm and clinical attachment level (CAL) \geq 3 mm at the same site or with PD \leq 6 mm and CAL > 4 mm at the same site (AAP 2000b) and (iv) patients with advanced chronic periodontitis presenting PD > 6 mm and CAL > 4 mm at the same site (AAP 2000a). Individuals who had less than 14 teeth; smokers and ex-smokers abstinent for at least two years (Tomar & Asma 2000); with HIV infection, diabetes, chronic kidney failure, liver cirrhosis and carcinoma of the digestive tract; use of the full and/or partial dentures; with oral pathologies; use of antibiotics; periodontal treatment six months prior to enrollment; pregnancy or lactation and patients who did not complete the clinical examination or who refused to sign the Instrument of Consent were excluded. The Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais (UFMG) approved this study. In the initial clinical examination, participants were instructed not to eat foods that contained strong spices such as garlic, onion and pepper, do not drink alcoholic beverages, do not use mouthwash for 24 hours, do not perform oral hygiene for 4 hours and do not eat and drink for one hour before the examinations.

Clinical Parameters

Periodontal parameters

The oral hygiene was assessed by the plaque index (PI), as proposed by the Quigley and Hein (1962) and modified by Turesky (1990). Probing depth, clinical attachment level and bleeding on probing were assessed using a University of North Carolina (UNC)-15 periodontal probe (Hu-Friedy®, Chicago, IL, USA) at six sites per tooth on all teeth,

excluding third molars (Eke et al. 2012). A single trained and calibrated examiner assessed all subjects. Measurements of PD were recorded and repeated within a 1-week interval for 10% subjects randomly selected from the final sample (N = 124). Data were tested through nonparametric Kappa test (intra-examiner measurements). The results showed satisfactory values of weighted kappa for PD of 0.82.

Tongue coating

It was used tongue coating index recommended by Shimizu et al. (2007). The tongue surface was divided into 9 portions and each was evaluated on a scale from 0 to 2, where 0 corresponds to no tongue coating; 1- presence of tongue coating with visible tongue papillae and 2- thick tongue coating with no visible lingual papillae. The result of the sum of the values of the nine part was divided by 18 and multiplied by 100 to obtain the final index (0-100%).

Volatile sulfur compounds (VSC)

The portable gas chromatograph (OralChromaTM; Abilit Corporation, Osaka City, Japan), able to measure the concentration in ppb (parts per billion) of H₂S, CH₃SH and (CH₃)₂S in a volume of 0.5 ml of air intraoral, was used according to the manufacturer's instructions. Prior to assessment, the patient was instructed to gargle 10 ml of 16% cysteine discard and keep lips clenched for 3 minutes. The thresholds of perception of H₂S, CH₃SH and (CH₃)₂SH gases are 112 ppb, 26 ppb, 8 ppb, respectively. Equal to or larger than these values were considered high. Every chromatogram was visually reviewed before the results were accepted (Tangerman & Winkel 2008).

Salivary parameters

Salivary parameters were performed with the patient seated and open eyes. Clinical salivary viscosity was measured with the patient instructed to suck the buccal mucosa bilaterally in order to accumulate saliva produced by the major and minor salivary glands on the tongue. The length of the salivary "wire" was measured by bidigital traction using a ruler. It was considered the average of three measurements in centimeters.

Sialometry was held in the morning with the patient instructed to remain two minutes without performing movements of chewing, swallowing and speaking. Salivary flow was

obtained by saliva in the mouth during 5 minutes and deposited in a graduated tube. The salivary flow rate was determined in ml/minute. For stimulated saliva, the patient used a mechanical sialogogue (hyperboloid) in accordance to the procedures described previously (Amaral et al. 2012). Values ≤ 0.3 ml for unstimulated saliva and < 1.0 ml for stimulated saliva were considered as hyposalivation (Ericsson & Hardwick 1978; Falcão et al. 2014).

The patient completed 16 ml with stimulated saliva for assessment of laboratorial salivary viscosity by a rheometer Brookfield model DV- III (Brookfield Engineering Laboratories Inc., Stoughton, MA, USA) at 37°C and shear rate of 160 s⁻¹ (Balmer and Hirsch 1978). The result was obtained in unit centipoise (cp).

Statistical analysis

The assessment of normality between groups was performed by Kolmogorov-Smirnov test. Comparisons between the groups regarding the variables was performed using the technique of analysis of variance with a factor. In cases where the analysis indicated the existence of a significant difference ($p < 0.05$) between groups, it was performed multiple comparisons of means according to least significance difference (LSD) test.

To compare two independent groups with respect to a variable of interest it was used the Student's T test and nonparametric Mann-Whitney test. Likewise, for comparison between three or more independent groups with respect to a variable of interest, it was used the analysis of variance test (ANOVA) or the Kruskal-Wallis test. Correlations was determined by Pearson correlation. Multivariate analysis was used to explain the possible influences on the behavior of some variable.

Software SPSS version 17.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) was used. All results were considered significant at a probability of less than 5% of significance ($p < 0.05$).

Results

One hundred and twenty four subjects were classified in periodontally healthy (27.41%), gingivitis (20.96%), mild-moderate chronic periodontitis (25.00%) and advanced chronic periodontitis (26.61%). The mild-moderate and advanced chronic periodontitis groups were composed by older individuals than gingivitis and periodontally healthy groups ($p < 0.001$). Although the group with gingivitis has been prevalent in women and periodontally healthy group of men, no significant influence was established. A percentage of

ex-smokers was higher in the advanced periodontitis group ($p = 0.025$). The clinical profile of the groups are presented summarized in Table 1.

Concerning to VSC, it was observed a significant statistically difference between groups regarding to H_2S concentration ($p < 0.001$). Higher mean concentrations of this gas were found in groups of advanced chronic periodontitis and gingivitis. Regarding salivary parameters, mild-moderate chronic periodontitis and gingivitis groups followed by advanced chronic periodontitis group presented higher significant percentage of patients with low salivary flow unstimulated and stimulated, respectively (Table 1).

The periodontal condition of the samples is detailed in Table 2. There was a significant statistically decrease in the number of teeth ($p = 0.014$) and a greater percentage of affected sites incrementally according with severity of periodontal disease ($p < 0.001$).

Table 3 shows the relationship between tongue coating index, plaque index, VSC and salivary parameters. Clinical salivary viscosity showed a significant and negative correlation with tongue coating index and periodontally affected sites except the percentage of sites with BOP. The hyposalivation in unstimulated salivary flow was positively associated with affected periodontally sites. Hyposalivation in stimulated salivary flow, in turn, was associated with the highest concentration of H_2S , CH_3SH and the percentage of sites with BOP. In order to clarify the influence of flow and bleeding on probing in clinical salivary viscosity, it was used linear regression, however, the analysis showed no significant result.

The relationship between tongue coating index, plaque index, VSC and periodontal parameters are presented in Table 4. Positive correlation between the plaque index, concentration of H_2S , CH_3SH and periodontal condition was established. Pearson rank correlation coefficients varied between 0.19 and 0.28 and were all significant ($p < 0.05$). The concentrations of $(CH_3)_2S$ showed no differences in the periodontal condition.

Table 5 shows the correlation between tongue coating index, plaque index, number of teeth and concentrations of VSC. Gas concentrations were not significantly correlated with tongue coating index. The concentration of CH_3SH and high concentration of this gas showed significant statistically and negative correlation with the number of teeth present.

Discussion

In this study, the evaluated groups were homogeneous regarding gender and showed significant differences in relation to age, smoking status, concentration of H_2S and salivary

flow. Tobacco is a modulator of periodontal disease whose prevalence increases with age (Tomar & Asma 2000; Costa et al. 2009).

High levels of VSC was found in periodontally healthy individuals, attributed to the presence of tongue coating (Bosy et al. 1994; Hinode et al. 2003). Moreover, VSC showed a significant relationship with periodontal status in clinical and epidemiological studies (Yaegaki & Sanada 1992; Figueiredo et al. 2002; Takeuchi et al. 2010; Kishi et al. 2013). In our study, higher concentrations of H₂S were found in subjects with advanced chronic periodontitis and gingivitis, however, no relation to tongue coating index was significant. This result suggests that the tongue coating composition, including gram-negative anaerobic bacteria and substrates containing sulfur compounds, are more critical for the production of oral malodor than presence of tongue coating only (Lee et al. 2003).

Clinical and laboratorial viscosity salivary no showed significant correlation between the groups. Saliva samples were collected throughout the morning and was probably influenced by the circadian rhythm. However, the viscosity of stimulated saliva did not seem fluctuate throughout the day (Meurman & Rantonen 1998). Saliva has a complex rheological behavior, therefore, the technique used to evaluate laboratorial viscosity of stimulated saliva may have influenced the viscosity values. In this study, it was used the maximum shear rate value obtained during the speech in the oral cavity (Balmer 1978).

The relationship between the physical properties of saliva, periodontal disease and the presence of VSC remains uncertain because the studies are scarce (Crow & Ship 1995; Hirotsu et al. 2006; Hirotsu et al. 2008; Van Tornout et al. 2013). According to our results, hyposalivation of unstimulated and stimulated saliva was related to worsening of periodontal condition and the latter was also related to increased of sulfhydryde and methylmercaptan concentration. These findings can be explained by the loss of innate defense mechanisms such as cleaning the oral cavity by saliva and possibly by decrease of immunoglobulin A secretion that prevent bacterial adhesion and colonization (Hinode et al. 2003). The reduction in the salivary flow could also increase viscosity salivary related to concentration of salivary proteins aggravated by the presence of periodontal disease. Periodontal inflammation may activate the sympathetic nervous system and induce an increase in the rate of secretion of mucin and amylase from the salivary glands (Sánchez et al. 2011) which, in turn, return the normal secretion rate after resolution of the inflammatory process (Sanchez et al. 2013).

Largest spinnbarkeit salivary, capability to draw a thread of a fluid (Inoue et al. 2008), and reduced salivary flow can be high risk factors and contribute to the progression of periodontal disease (Hirotsu et al. 2006; Hirotsu et al. 2008). Although some studies

positively correlate viscosity and spinnbarkeit (Brofeldt & Mygind 1987; Gohara et al. 2004), the study by Puchelle et al. (1983) showed a strong negative correlation for this association to assess the sputum of patients with chronic bronchitis. According to Inoue et al. (2008), spinnbarkeit and viscosity salivary are rheological properties different, the first attributed to the higher concentration of mucin MUC5B and the latter to MUC7. The surfaces of the oral mucosa in patients with xerostomia may retain MUC5B and other salivary proteins (Pramanik et al. 2010). The degradation of mucins has been reported as a cause of generation of VSC *in vitro* study (Sterer & Rosenberg 2006). In this study the ability to form wire by saliva was referred to clinical viscosity salivary. However, no relationship was significant between viscosity and levels of volatile sulfur compounds. Studies with larger samples should be conducted to elucidate this relationship.

The reduction of clinical salivary viscosity was related to worsening of periodontal condition and an increase tongue coating index according to our results. As there is no gold standard to describe the presence of tongue coating, multiple methods are used (Kamaraj et al. 2014; Van Tornout et al. 2013). It is also known that the low viscosity can cause xerostomia related to the low concentration of mucin in addition to making the mucosa more susceptible to physical, chemical and microbial aggression (Mandel 1987). It is necessary therefore to investigate the physical properties along the quantity and quality of salivary glycoproteins.

The percentage of periodontally affected sites was correlated with the concentration of H₂S, the correlation, however, it was weak, showing that periodontal parameters are not only sufficient to explain the behavior of the concentration of this gas. Although the relationship between volatile sulfur compounds and the presence of tongue coating is well established (Tsai et al. 2008; Von Tornout et al. 2013) no significant association was observed in this study, as well as by other authors (Lee et al. 2003; Kamaraj et al. 2014). This study has some limitations. It was not measured the quantity and neither evaluated the composition of tongue coating. Instead, the thickness of the tongue coating was evaluated and scored visually on the tongue dorsum as the study by Pham et al. (2011).

It is known that untreated periodontal disease causes alveolar bone resorption, dental mobility and, therefore, the tooth loss (Giannobile et al. 2009; Saygun et al. 2011). Previous studies have shown that levels of CH₃SH are higher in patients with periodontitis (Coil et al. 1992; Yaegaki & Sanada 1992). Our findings suggest that the reduction in the number of teeth was related with increased levels of CH₃SH. Different periodontal pathogens produce volatile sulfur compounds such as H₂S and CH₃SH (Tonzetich & McBride 1981; Nakano et al. 2002; Kishi et al. 2012). These bacteria can be derived from the saliva (Takeshita et al. 2010),

subgingival biofilms from patients with periodontitis (De Boever et al. 1994; Figueiredo et al. 2002) and tongue dorsum (Kazor et al. 2003). Thus, it is recommendable to use the method of gas chromatography, that is able to identify specific VSC also involved in periodontal disease.

Conclusion

The physical properties of salivary flow and clinical viscosity are correlated with periodontal disease, as well as H₂S and CH₃SH. The hyposalivation and high concentrations of H₂S and CH₃SH may be markers for periodontal disease. The overall association with the chemical and biological analysis is necessary since the isolated clinical parameters were not sufficiently able to determine the influence of flow and viscosity salivary behavior in relation to periodontal disease and VSC. In this context, and future perspectives, saliva composition analysis can be evaluated together with the physical properties of the saliva.

Acknowledgements

The authors thanks to Teacher Denise Pinheiro Falcão da Rocha for help with development of the technical evaluation of clinical salivary viscosity. This work was supported by the *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais* (FAPEMIG), n° APQ-01835-13, Brazil.

References

- AAP - American Academy of Periodontology. (2000a) Parameter on chronic periodontitis with advanced loss of periodontal support. *Journal of Periodontology* **71**, 856-858.
- AAP - American Academy of Periodontology. (2000b) Parameter on chronic periodontitis with slight to moderate loss of periodontal support. *Journal of Periodontology* **71**, 852-855.
- Amaral, T.M., Campos, C.C., Moreira dos Santos, T.P., Leles, C.R., Teixeira, A.L., Teixeira, M.M., Bittencourt, H. & Silva, T.A. (2012) Effect of salivary stimulation therapies on salivary flow and chemotherapy-induced mucositis: a preliminary study. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology* **113**,628-637.
- Antoniuzzi, R.P., Miranda, L.A, Zanatta, F.B., Islabão, A.G., Gustafsson, A., Chiapinotto, G.A. & Oppermann, R.V. (2009) Periodontal conditions of individuals with Sjögren's syndrome. *Journal of Periodontology* **80**, 429-435.

- Apatzidou, A.D., Bakirtzoglou, E., Vouros, I., Karagiannis, V., Papa, A. & Konstantinidis, A. (2013) Association between oral malodour and periodontal disease-related parameters in the general population. *Acta Odontologica Scandinavica* **71**, 189-95.
- Balmer, R.T. & Hirsch, S.R. (1978) A.I.Ch.E. *Symposium Series on Biorheology* **181**, 125-129.
- Bansal, M., Khatri, M. & Taneja, V. (2013) Potential role of periodontal infection in respiratory diseases - a review. *Journal of Medicine and Life* **15**, 244-248.
- Bosy, A., Kulkarni, G.V., Rosenberg, M. & McCulloch, C.A. (1994) Relationship of oral malodor to periodontitis: evidence of independence in discrete subpopulations. *Journal of Periodontology* **65**, 37-46.
- Brofeldt, S. & Mygind, N. (1987) Viscosity and spinability of nasal secretions induced by different provocation tests. *American Review of Respiratory Disease* **136**, 353-356.
- Calil, C.M. & Marcondes, F.K. (2006) Influence of anxiety on the production of oral volatile sulfur compounds. *Life Sciences* **79**, 660-664.
- Carpenter, G.H. (2013) The secretion, components, and properties of saliva. *Annual Review of Food Science and Technology* **4**, 267-276.
- Chimeno-Kustner, E. & Marques-Soares, M.S. (2002). Burning mouth and saliva. *Oral medicine* **7**, 244-253.
- Coil, J.M. & Tonzetich, J. (1992) Characterization of volatile sulphur compounds production at individual gingival crevicular sites in humans. *Journal of Clinical Dentistry* **3**, 97-103.
- Costa, F.O., Guimarães, A.N., Cota, L.O., Pataro, A.L., Segundo, T.K., Cortelli, S.C. & Costa, J.E. (2009) Impact of different periodontitis case definitions on periodontal research. *Journal of Oral Science* **51**, 199-206.
- Crow, H.C. & Ship, J.A. (1995) Are gingival and periodontal conditions related to salivary gland flow rates in healthy individuals? *Journal of the American Dental Association* **126**, 1514-1520.
- De Boever E.H., De Uzeda, M. & Loesche, W.J (1994). Relationship between volatile sulfur compounds, BANA-hydrolyzing bacteria and gingival health in patients with and without complaints of oral malodor. *Journal of Clinical Dentistry* **4**, 114-119.
- Eke, P.I., Dye, B.A., Wei, L., Thornton-Evans, G.O., Genco, R.J.; CDC Periodontal Disease Surveillance workgroup: James Beck (University of North Carolina, Chapel Hill, USA), Gordon Douglass (Past President, American Academy of Periodontology), Roy Page (University of Washin. (2012) Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010. *Journal of Dental Research* **91**, 914-20.
- Ericsson, Y. & Hardwick, L. (1978) Individual diagnosis, prognosis and counselling for caries prevention. *Caries Research* **12**, 94-102.

- Fábián, T.K., Hermann, P., Beck, A., Fejérdy, P. & Fábián, G. (2012) Salivary defense proteins: their network and role in innate and acquired oral immunity. *International Journal of Molecular Sciences* **13**, 4295-4320.
- Falcão, D.P., Leal, S.C., Vieira, C.N., Wolff, A., Filgueira Galdino Almeida, T., Nunes, F. de P., de Amorim, R.F. & Bezerra, A.C. (2014) Sialometry of Upper Labial Minor Glands: A Clinical Approach by the Use of Weighing Method Schirmer's Test Strips Paper. *The ScientificWorld Journal* **2014**, 268634.
- Figueiredo, L.C., Rosetti, E.P., Marcantonio, E. Jr., Marcantonio, R.A. & Salvador, S.L. (2002) The relationship of oral malodor in patients with or without periodontal disease. *Journal of Periodontology* **73**, 1338-1342.
- Flink, H., Bergdahl, M., Tegelberg, A., Rosenblad, A. & Lagerlöf, F. (2008) Prevalence of hyposalivation in relation to general health, body mass index and remaining teeth in different age groups of adults. *Community Dentistry and Oral Epidemiology* **36**, 523-531.
- Gabryel-Porowska, H., Gornowicz, A., Bielawska, A., Wójcicka, A., Maciorkowska, E., Grabowska, S.Z. & Bielawski, K. (2014) Mucin levels in saliva of adolescents with dental caries. *Medical Science Monitor* **18**, 72-77.
- Giannobile, W.V., Beikler, T., Kinney, J.S., Ramseier, C.A., Morelli, T. & Wong, D.T. (2009) Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease: current state and future directions. *Periodontology 2000* **50**, 52-64.
- Gohara, K., Ansai, T., Koseki, T., Ishikawa, M., Kakinoki, Y., Shibuya, K., Nishihara, T. & Takehara, T. (2004) A new automatic device for measuring the spinnbarkeit of saliva: the Neva Meter. *Journal of Dentistry* **32**, 335-338.
- Hinode, D., Fukui, M., Yokoyama, N., Yokoyama, M., Yoshioka, M. & Nakamura, R. (2003) Relationship between tongue coating and secretory-immunoglobulin A level in saliva obtained from patients complaining of oral malodor. *Journal of Clinical Periodontology* **30**, 1017-1023.
- Hirotsu, T., Yoshihara, A., Ogawa, H., Ito, K., Igarashi, A. & Miyazaki, H. (2006) A preliminary study on the relationship between stimulated saliva and periodontal conditions in community-dwelling elderly people. *Journal of Dentistry* **34**, 692-698.
- Hirotsu, T., Yoshihara, A., Ogawa, H., Ito, K., Igarashi, A. & Miyazaki, H. (2008) Salivary spinability and periodontal disease progression in an elderly population. *Archives of Oral Biology* **53**, 1071-1076.
- Inoue, H., Ono, K., Masuda, W., Inagaki, T., Yokota, M. & Inenaga, K. (2008) Rheological Properties of Human Saliva and Salivary Mucins. *Journal of Oral Biosciences* **50**, 134-141.
- Kazor, C.E., Mitchell, P.M., Lee, A.M., Stokes, L.N., Loesche, W.J., Dewhirst, F.E. & Paster, B.J. (2003) Diversity of bacterial populations on the tongue dorsa of patients with halitosis and healthy patients. *Journal of Clinical Microbiology* **41**, 558-563.
- Kishi, M., Ohara-Nemoto, Y., Takahashi, M., Kishi, K., Kimura, S., Aizawa, F. & Yonemitsu, M. (2013) Prediction of periodontopathic bacteria in dental plaque of periodontal

healthy subjects by measurement of volatile sulfur compounds in mouth air. *Archives of Oral Biology* **58**, 324-330.

Kleinberg, I.; Codipilly, D.P.M. & Globerman, D.Y. (1996) Oxygen depletion by oral microbiota and its role in oral malodour formation. In: Steenberghe, D. & Rosenberg, G. M. *Bad breath a multidisciplinary approach*. 1st edition, p. 95-109, Belgium: Leuven University Press.

Koshimune, S., Awano, S., Gohara, K., Kurihara, E., Ansai, T. & Takehara, T. (2003) Low salivary flow and volatile sulfur compounds in mouth air. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology* **96**, 38-41.

Lee, C.H., Kho, H.S., Chung, S.C., Lee, S.W. & Kim Y.K. (2003) The relationship between volatile sulfur compounds and major halitosis-inducing factors. *Journal of Periodontology* **74**, 32-37.

López Jornet, P. & Bermejo Fenoll, A. (1995) Sialometry of 156 healthy subjects. Physiologic factors which influence non-stimulated saliva secretion. *Revue de Stomatologie et de Chirurgie Maxillo-faciale* **96**, 342-346.

Lu, H.X., Tang, C., Chen, X., Wong, M.C. & Ye, W. (2013) Characteristics of patients complaining of halitosis and factors associated with halitosis. *Oral Disease* **18**. doi: 10.1111/odi.12198.

Mandel, I.D. (1987) The functions of saliva. *Journal of Dental Research* **66**, 623-627.

Nakano, Y., Yoshimura, M. & Koga, T. (2002) Methyl mercaptan production by periodontal bacteria. *International Dental Journal* **52**, 217-220.

Pramanik, R., Osailan, S.M., Challacombe, S.J., Urquhart, D. & Proctor, G.B. (2010) Protein and mucin retention on oral mucosal surfaces in dry mouth patients. *European Journal of Oral Sciences* **118**, 245-253.

Puchelle, E., Zahm, J.M. & Duvivier, C. (1983) Spinability of bronchial mucus. Relationship with viscoelasticity and mucous transport properties. *Biorheology* **20**, 239-249.

Quigley, G.A. & Hein, J.W. (1962) Comparative cleansing efficiency of manual and power brushing. *Journal of the American Dental Association* **65**, 26-29.

Quirynen, M., Dadamio, J., Van den Velde, S., De Smit, M., Dekeyser, C., Van Tornout, M. & Vandekerckhove, B. (2009) Characteristics of 2000 patients who visited a halitosis clinic. *Journal of Clinical Periodontology* **36**, 970-975.

Ramírez, J., Parra, B., Gutierrez, S., Arce, R., Jaramillo, A., Ariza, Y. & Contreras, A. (2014) Biomarkers of cardiovascular disease are increased in untreated chronic periodontitis: a case control study. *Australian Dental Journal* **59**, 29-36.

Ranganath, L.M., Shet, R.G. & Rajesh, A.G. (2012) Saliva: a powerful diagnostic tool for minimal intervention dentistry. *Contemporary Dental Practice* **13**, 240-245.

Rantonen, P.J. & Meurman, J.H. (1998) Viscosity of whole saliva. *Acta Odontologica Scandinavica* **56**, 210-214.

- Ratcliff, P.A. & Johnson, P.W. (1999) The relationship between oral malodor, gingivitis, and periodontitis. A review. *Journal of Periodontology* **70**, 485-489.
- Raynal, B.D.E., Hardingham, T.E., Sheehan, J.K. & Thornton, D.J. (2003) Calcium-dependent protein interactions in MUC5B provide reversible cross-links in salivary mucus. *Journal of Biological Chemistry* **278**, 28703-28710.
- Rocha, D. de M., Zenóbio, E.G., Van Dyke, T., Silva, K.S., Costa, F.O. & Soares, R.V. (2012) Differential expression of salivary glycoproteins in aggressive and chronic periodontitis. *Journal of Applied Oral Science* **20**, 180-185.
- Salazar, M.G., Jehmlich, N., Murr, A., Dhople, V.M., Holtfreter, B., Hammer, E., Völker, U. & Kocher, T. (2013) Identification of periodontitis associated changes in the proteome of whole human saliva by mass spectrometric analysis. *Journal of Clinical Periodontology* **40**, 825-832.
- Salminen, A., Gursoy, U.K., Paju, S., Hyvärinen, K., Mäntylä, P., Buhlin, K., Könönen, E., Nieminen, M.S., Sorsa, T., Sinisalo, J. & Pussinen, P.J. (2014) Salivary biomarkers of bacterial burden, inflammatory response, and tissue destruction in periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. Jan 26.
- Sánchez, G.A., Miozza, V., Delgado, A. & Busch, L. (2011) Determination of salivary levels of mucin and amylase in chronic periodontitis patients. *Journal of Periodontal Research* **46**, 221-227.
- Sánchez, G.A., Miozza, V.A., Delgado, A. & Busch, L. (2013) Relationship between salivary mucin or amylase and the periodontal status. *Oral Disease* **19**, 585-591.
- Saygun, I., Nizam, N., Keskiner, I., Bal, V., Kubar, A., Açikel, C., Serdar, M. & Slots, J. (2011) Salivary infectious agents and periodontal disease status. *Journal of Periodontal Research* **46**, 235-239.
- Schwarz, W.H. (1987) The rheology of saliva. *Journal of Periodontal Research* **66**, 660-666.
- Shimizu, T., Ueda, T. & Sakurai, K. (2007) New method for evaluation of tongue-coating status. *Journal of Oral Rehabilitation* **34**, 442-447.
- Sopapornamorn, P., Ueno, M., Shinada, K., Yanagishita, M. & Kawaguchi, Y. (2007) Relationship between total salivary protein content and volatile sulfur compounds levels in malodor patients. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology* **103**, 655-660.
- Sterer, N. & Rosenberg, M. (2006) Streptococcus salivarius promotes mucin putrefaction and malodor production by Porphyromonas gingivalis. *Journal of Dentistry Research* **85**, 910-914.
- Syrjälä, A.M., Raatikainen, L., Komulainen, K., Knuutila, M., Ruoppi, P., Hartikainen, S., Sulkava, R. & Ylöstalo, P. (2011) Salivary flow rate and periodontal infection - a study among subjects aged 75 years or older. *Oral Disease* **17**, 387-392.
- Takehara, S., Yanagishita, M., Podyma-Inoue, K.A., Ueno, M., Shinada, K. & Kawaguchi, Y. (2010) Relationship between oral malodor and glycosylated salivary proteins. *Journal of Medical and Dental Sciences* **57**, 25-33.

- Takeshita, T., Suzuki, N., Nakano, Y., Shimazaki, Y., Yoneda, M., Hirofuji, T. & Yamashita, Y. (2010). Relationship between oral malodor and the global composition of indigenous bacterial populations in saliva. *Applied and Environmental Microbiology* **76**, 2806-2814.
- Takeuchi, H., Machigashira, M., Yamashita, D., Kozono, S., Nakajima, Y., Miyamoto, M., Takeuchi, N., Setoguchi, T. & Noguchi, K. (2010) The association of periodontal disease with oral malodour in a Japanese population. *Oral Disease*. **16**, 702-706.
- Tangerman, A. & Winkel, E.G. (2007) Intra- and extra-oral halitosis: finding of a new form of extra-oral blood-borne halitosis caused by dimethyl sulphide. *Journal of Clinical Periodontology* **34**, 748-755.
- Tomar, S.L. & Asma, S. (2000) Smoking-attributable periodontitis in the United States: findings from NHANES III. National Health and Nutrition Examination Survey. *Journal of Periodontology*. **71**, 743-751.
- Tonzetich, J. & McBride, B.C. (1981) Characterization of volatile sulphur production by pathogenic and non-pathogenic strains of oral Bacteroides. *Archives of Oral Biology* **26**, 963-969.
- Tonzetich, J. (1977) Production and origin of oral malodor: a review of mechanisms and methods of analysis. *Journal of Periodontology* **48**, 13-20.
- Tschope, P., Wolgin, M., Pischon, N. & Kielbassa, A.M. (2010) Etiologic factors of hyposalivation and consequences for oral health. *Quintessence International* **41**, 321-333.
- Turesky, S., Gilmore, N.D. & Glickman, I. (1970) Reduced plaque formation by the chloromethyl analogue of vitamin C. *Journal of Periodontology* **41**, 41-43.
- Veerman, E.C., Valentijn-Benz, M. & Nieuw Amerongen, A.V. (1989) Viscosity of human salivary mucins: effect of pH and ionic strength and role of sialic acid. *Journal de Biologie Buccale* **17**, 297-306.
- Williams, R.C. & Offenbacher, S. (2000) Periodontal medicine: the emergence of a new branch of periodontology. *Periodontology 2000* **23**, 9-12.
- Yaegaki, K. & Sanada, K. (1992) Biochemical and clinical factors influencing oral malodor in periodontal patients. *Journal of Periodontology* **63**, 783-789.
- Yarat, A., Akyüz, S., Koç, L., Erdem, H. & Emekli, N. (1999) Salivary sialic acid, protein, salivary flow rate, pH, buffering capacity and caries indices in subjects with Down's syndrome. *Journal of Dentistry*. **27**, 115-118.
- Zussman, E., Yarin, A.L. & Nagler, R.M. (2007) Age- and flow-dependency of salivary viscoelasticity. *Journal of Dental Research* **86**, 281-285.

Table 1. Clinical profile of evaluated groups.

	Periodontally healthy (n = 34)	Gingivitis (n = 26)	Mild- moderate chronic periodontitis (n = 31)	Advanced chronic periodontitis (n = 33)	*p
Individuals	27.41%	20.96%	25.00%	26.61%	
Age, years	39.1 ± 8.1	36.8 ± 7.7	45.5 ± 9.5	43.8 ± 8.7	< 0.001 ^a
Female gender	38.2%	61.5%	58.1%	45.5%	0.254 ^b
Male gender	61.8%	38.5%	41.9%	54.5%	
Smoking status					
Never smoking	93.9%	88.5%	93.5%	69.7%	0.025^c
Ex-smoker	6.1%	11.5%	6.5%	30.3%	
Systemic diseases					
Cardiovascular disease	0.0%	11.5%	16.1%	6.1%	0.062 ^c
Respiratory disease	0.0%	3.8%	6.5%	15.2%	0.071 ^c
Gastrointestinal disease	8.8%	7.7%	12.9%	15.20%	0.804 ^c
Tongue coating					
Tongue coating index %	64.4 ± 16.2	63.7 ± 17.3	64.5 ± 14.2	66.0 ± 13.4	0.775 ^d
Volatile sulfur compounds					
H₂S					
Mean H₂S ppb	416.6 ± 604.8	911.2 ± 850.3	557.4 ± 754.0	1261.1 ± 1113.7	< 0.001 ^d
Percentage of H₂S ≥ 112 ppb %	64.7%	84.6%	77.4%	87.9%	0.107 ^b
CH₃SH					
Mean CH₃SH ppb	0.9 ± 5.1	6.2 ± 15.0	13.5 ± 50.7	19.6 ± 64.8	0.169 ^d
Percentage of CH₃SH ≥ 26 ppb %	2.9%	11.5%	9.7%	15.2%	0.373 ^c
(CH₃)₂S					
Mean (CH₃)₂S ppb	3.1 ± 9.3	25.7 ± 107.5	10.8 ± 58.5	33.3 ± 112.0	0.542 ^d
Percentage of (CH₃)₂S ≥ 8 ppb %	11.8%	15.4%	6.5%	18.2%	0.545 ^c
Salivary viscosity					
Clinical cm	3.5	5.5	4.0	3.2	0.133 ^d
Laboratorial cp	1.6	1.6	1.6	1.6	0.942 ^d
Salivary flow rate ml/min					
Unstimulated	0.8	0.7	0.6	0.8	0.160 ^d
Unstimulated ≤ 0.3%	0.0%	15.4%	32.3%	21.2%	0.001^c
Stimulated	2.1	2.0	2.3	1.9	0.483 ^d
Stimulated < 1.0%	0.0%	19.2%	6.5%	12.1%	0.033 ^c

*Analysis of variance (ANOVA) (a), Chi-square test (b), Fisher's exact test (c), Kruskal-Wallis (d) or Mann-Whitney test (e).

Data are presented as mean ± standard deviation or percentages.

PH, periodontally healthy; G, gingivitis; SP-MP, slight to moderate periodontitis; AP, advanced periodontitis; H₂S - sulfide; CH₃SH - methyl mercaptan; (CH₃)₂S - dimethyl sulfide.

Table 2. Periodontal condition.

	Periodontally healthy (n = 34)	Gingivitis (n = 26)	Mild-moderate chronic periodontitis (n = 31)	Advanced chronic periodontitis (n = 33)	*p
Plaque index	1.0 ± 0.4	1.1 ± 0.4	0.9 ± 0.4	1.2 ± 0.4	0.146
Number of teeth	27.6 ± 1.9	27.2 ± 1.6	26.4 ± 2.7	25.2 ± 4.2	0.014
BP %	3.7 ± 2.5	23.2 ± 9.9	24.8 ± 16.7	47.2 ± 23.6	<0,001
Mean PD mm	1.9 ± 0.3	1.8 ± 0.2	2.1 ± 0.3	2.7 ± 0.8	<0,001
Maximum PD mm	3.4 ± 0.5	3.2 ± 0.4	6.4 ± 5.9	8.9 ± 2.2	<0,001
Percentage of sites with PD < 4 mm %	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	93.9 ± 6.5	72.7 ± 20.4	<0,001
Percentage of sites with 4 ≤ PD ≤ 6 mm %	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	6.0 ± 6.5	19.2 ± 12.3	<0,001
Percentage of sites with PD > 6 mm %	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.2	8.1 ± 12.0	<0,001
Mean CAL mm	1.9 ± 0.3	2.0 ± 0.3	2.3 ± 0.3	3.1 ± 1.0	<0,001
Maximum CAL mm	3.4 ± 0.5	3.7 ± 0.4	5.8 ± 1.5	10.0 ± 3.0	<0,001
Percentage of sites with CAL < 3 mm %	80.6 ± 12.3	73.4 ± 12.2	55.3 ± 17.0	34.3 ± 21.1	<0,001
Percentage of sites with 3 ≤ CAL ≤ 4 mm %	19.4 ± 12.3	26.6 ± 12.2	41.3 ± 14.7	40.8 ± 16.0	<0,001
Percentage of sites with CAL > 4 mm %	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	3.4 ± 4.0	25.0 ± 22.6	<0,001

*Kruskal-Wallis Test.

Data are presented as mean ± standard deviation.

BP - bleeding on probing; PD - probing depth; CAL - clinical attachment level.

Table 3. Correlation between tongue coating, plaque index, volatile sulfur compounds and salivary parameters.

	Viscosity salivary		Salivary flow rate							
	Clinical	Laboratorial	Unstimulated salivary			Stimulated salivary				
			≤ 0.3 mL	> 0.3 mL	p	< 1.0 mL	≥ 1.0 mL	p		
Tongue coating index	- 0.31 (0.001)	- 0.12 (0.181)	0.10 (0.248)	64.8 ± 15.1	64.7 ± 15.2	0.960 ^a	- 0.02 (0.858)	64.6 ± 12.2	64.7 ± 15.4	0.961 ^a
Plaque index	0.13 (0.161)	0.02 (0.823)	0.19 (0.032)	1.1 ± 0.5	1.1 ± 0.5	0.207 ^a	- 0.03 (0.728)	1.3 ± 0.5	1.0 ± 0.5	0.054 ^a
Number of teeth	0.14 (0.130)	0.12 (0.169)	0.04 (0.642)	25.6 ± 3.2	26.7 ± 2.9	0.109 ^a	0.04 (0.653)	25.9 ± 3.4	26.6 ± 2.9	0.569 ^a
H₂S	0.05 (0.586)	- 0.02 (0.853)	0.10 (0.291)	756.7 ± 846.6	785.1 ± 921.7	0.947 ^a	0.02 (0.800)	1207.18 ± 973.6	738.7 ± 893.1	0.036 ^a
Percentage of H₂S ≥ 112 ppb %	3.9 ± 2.7	1.6 ± 0.3	0.8 ± 0.6	76.2%	78.6%		2.0 ± 1.1	100.0%	76.1%	
	(0.906) ^a	(0.889) ^a	(0.880) ^a			0.777 ^a	(0.549) ^a			0.119 ^a
Percentage of H₂S < 112 ppb %	4.6 ± 3.6	1.6 ± 0.3	0.7 ± 0.4	23.8%	21.4%		2.1 ± 0.8	0.0%	23.9%	
CH₃SH	0.01 (0.873)	- 0.06 (0.535)	0.10 (0.262)	8.1 ± 32.6	10.5 ± 44.7	0.694 ^a	- 0.01 (0.921)	20.4 ± 44.8	9.1 ± 42.6	0.013 ^a
Percentage of CH₃SH ≥ 26 ppb %	3.4 ± 1.9	1.5 ± 0.2	1.0 ± 1.0	4.8%	10.7%		2.1 ± 1.3	18.2%	8.8%	
	(0.980) ^a	(0.147) ^a	(0.356) ^a			0.689 ^a	(0.806) ^a			0.288 ^a
Percentage of CH₃SH < 26 ppb %	4.0 ± 3.0	1.6 ± 0.3	0.7 ± 0.5	95.2%	89.3%		2.1 ± 1.0	81.8%	91.2%	
(CH₃)₂S	0.02 (0.866)	0.07 (0.421)	- 0.02 (0.865)	23.3 ± 105.1	16.7 ± 76.2	0.555 ^a	- 0.05 (0.595)	44.5 ± 145.1	15.2 ± 72.9	0.638 ^a
Percentage of (CH₃)₂S ≥ 8 ppb %	4.4 ± 1.6	1.5 ± 0.3	1.0 ± 1.0	9.5%	13.6%		2.3 ± 1.4	18.2%	12.4%	
	(0.062) ^a	(0.215) ^a	(0.251) ^a			1.000 ^a	(0.695) ^a			0.634 ^a
Percentage of (CH₃)₂S < 8 ppb %	3.9 ± 3.1	1.6 ± 0.3	0.7 ± 0.4	90.5%	86.4%		2.0 ± 0.9	81.8%	81.6%	
Bleeding on probing %	- 0.08 (0.379)	- 0.03 (0.706)	0.02 (0.844)	30.2 ± 18.9	23.5 ± 22.7	0.038 ^a	0.00 (0.965)	37.4 ± 23.9	23.4 ± 21.7	0.026 ^a
Percentage of sites with probing depth ≥ 4 mm %	- 0.20 (0.029)	- 0.02 (0.800)	- 0.03 (0.767)	12.8 ± 17.1	8.1 ± 15.4	0.019 ^a	- 0.09 (0.320)	19.7 ± 25.5	7.8 ± 14.2	0.060 ^a
Percentage of sites with clinical attachment level ≥ 3 mm %	- 0.22 (0.014)	0.03 (0.759)	- 0.06 (0.543)	52.4 ± 24.2	36.9 ± 23.7	0.008 ^a	- 0.05 (0.596)	49.8 ± 28.7	38.6 ± 23.9	0.190 ^a
Percentage of sites with PD ≥ 4 mm and CAL ≥ 3 mm %	- 0.20 (0.029)	- 0.02 (0.786)	- 0.03 (0.775)	12.7 ± 17.2	8.1 ± 15.4	0.022 ^a	- 0.09 (0.377)	19.7 ± 25.5	7.8 ± 14.2	0.065 ^a

Mann-Whitney Test (a).

Data are presented as correlation coefficients or mean ± standard deviation and in parentheses the significance probability (p).

H₂S - sulfide; CH₃SH - methyl mercaptan; (CH₃)₂S - dimethyl sulfide; BP - bleeding on probing; PD - probing depth; CAL - clinical attachment level.

Table 4. Correlation between tongue coating, plaque index, volatile sulfur compounds and periodontal condition.

	% sites							
	BP		PD ≥ 4 mm		CAL ≥ 3 mm		PD ≥ 4mm and CAL ≥ 3 mm in the same site	
Tongue coating index	-0.01 (0.876)		0.03 (0.729)		0.02 (0.863)		0.03 (0.728)	
Plaque index	0.21 (0.021)		0.28 (0.002)		0.19 (0.037)		0.28 (0.002)	
H₂S	0.27 (0.002)		0.25 (0.005)		0.11 (0.210)		0.25 (0.005)	
H₂S ≥ 112 ppb	26.6 ± 22.9	(0.055) ^a	10.1 ± 16.6	(0.063) ^a	41.1 ± 24.6	(0.139) ^a	10.1 ± 16.5	(0.057) ^a
H₂S < 112 ppb	17.8 ± 18.1		4.5 ± 11.7		34.0 ± 23.3		4.4 ± 11.7	
CH₃SH	0.23 (0.009)		0.08 (0.377)		0.10 (0.249)		0.08 (0.377)	
CH₃SH ≥ 26 ppb	43.0 ± 25.0	(0.006) ^a	16.3 ± 16.2	(0.034) ^a	52.7 ± 21.1	(0.030) ^a	16.3 ± 16.2	(0.037) ^a
CH₃SH < 26 ppb	22.7 ± 21.1		8.1 ± 15.6		38.2 ± 24.4		8.1 ± 15.6	
(CH₃)₂S	0.10 (0.292)		0.08 (0.377)		0.05 (0.618)		0.08 (0.377)	
(CH₃)₂S ≥ 8 ppb	31.3 ± 26.1	(0.300) ^a	12.1 ± 17.0	(0.335) ^a	41.4 ± 26.3	(0.811) ^a	12.1 ± 17.0	(0.359) ^a
(CH₃)₂S < 8 ppb	23.7 ± 21.5		8.4 ± 15.6		39.3 ± 24.2		8.4 ± 15.6	

Mann-Whitney test (a).

Data are presented as correlation coefficients or mean ± standard deviation and in parentheses the significance probability (p).

BP - bleeding on probing; PD - probing depth; CAL - clinical attachment level.

Table 5. Correlation between tongue coating, plaque index, number of teeth and parameters VSC.

	Percentage of VSC											
	H ₂ S			CH ₃ SH			(CH ₃) ₂ S					
	≥ 112 ppb	< 112 ppb	p	≥ 26 ppb	< 26 ppb	p	≥ 8 ppb	< 8 ppb	p			
Tongue coating index	0.10 (0.263)	66.1 ± 13.7	59.7 ± 18.8	0.158 ^a	0.15 (0.095)	66.2 ± 16.0	64.5 ± 15.1	0.550 ^a	- 0.10 (0.247)	67.4 ± 10.7	64.3 ± 15.7	0.488 ^a
Plaque index	0.11 (0.225)	1.1 ± 0.5	0.9 ± 0.5	0.065 ^a	0.03 (0.734)	1.3 ± 0.8	1.0 ± 0.5	0.966 ^a	0.01 (0.930)	1.2 ± 0.8	1.0 ± 0.4	0.970 ^a
Number of teeth	- 0.16 (0.085)	26.3 ± 3.2	27.6 ± 1.3	0.075 ^a	- 0.20 (0.025)	24.4 ± 4.1	26.8 ± 2.7	0.033 ^a	- 0.03 (0.742)	25.4 ± 3.2	26.7 ± 2.9	0.079 ^a

Mann-Whitney test (a).

Data are presented as correlation coefficients or mean ± standard deviation and in parentheses the significance probability (p).

H₂S - sulfide; CH₃SH - methyl mercaptan; (CH₃)₂S - dimethyl sulfide.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo, os grupos foram significativamente diferentes em relação à idade, tabagismo, concentração de H₂S e fluxo salivar. Sabe-se que a prevalência da doença periodontal aumenta com a idade e que essa doença é modulada por uma série de fatores como higiene oral precária, predisposição genética e presença de doenças sistêmicas (Costa *et al.*, 2009; Persson, 2006). É de conhecimento geral que o tabaco, maior fator de risco para a doença periodontal, afeta mecanismos biológicos que estão envolvidos na patogênese ou progressão da periodontite em pacientes fumantes (Tomar e Asma, 2000). De acordo com os nossos resultados, os pacientes ex-fumantes parecem exibir as sequelas permanentes do efeito do tabaco no tecido periodontal, uma vez que representaram uma porcentagem significativamente maior no grupo periodontite avançada.

O grupo periodontite leve-moderada apresentou, ao nível de significância de 6,5%, uma porcentagem maior de pacientes com doença cardiovascular. A periodontite moderada não tratada pode estar associada com a inflamação sistêmica que poderia aumentar o risco de eventos cardiovasculares (Williams e Offenbacher, 2000; Ramírez *et al.*, 2014). Por outro lado, o grupo com periodontite avançada apresentou ao nível de significância de 7,5%, um percentual maior de casos com doença respiratória. A aspiração e a facilitação de colonização da via aérea pelos patógenos periodontais, devido à continuidade anatômica da cavidade bucal com o pulmão, podem ser os mecanismos para a infecção (Bansal *et al.*, 2013).

As concentrações de H₂S foram significativamente maiores no grupo periodontite avançada ao ser comparado aos grupos periodontite leve-moderada e periodontalmente saudável. Da mesma maneira, o grupo gengivite apresentou maiores concentrações desse gás em relação ao grupo periodontalmente saudável. O H₂S e a CH₃SH, de acordo com estudo realizado por Ng e Tonzetich (1984), possuem a capacidade de alterar a permeabilidade e induzir a degradação do tecido gengival.

Sabe-se que os mecanismos de defesa inatos como a limpeza da cavidade bucal pela saliva e o fluido do sulco gengival, além da Imunoglobulina A, evitam a aderência e a colonização bacteriana (Hinode *et al.*, 2003). Neste estudo, o grupo periodontalmente saudável não apresentou hipossalivação em repouso ou estimulada, diferentemente dos grupos com doença periodontal. Dessa forma, em uma situação em que o fluxo salivar é diminuído, a limpeza bacteriana torna-se reduzida e a homeostase microbiana desequilibrada (Syrjälä *et al.*, 2011) o que poderia aumentar o risco de doença periodontal.

Embora a *spinnbarkeit* salivar, capacidade para desenhar um segmento de um fluido, seja correlacionada positivamente com a viscosidade em alguns estudos (Gohara *et al.*, 2004; Brofeldt e Mygind, 1987), trata-se de uma propriedade reológica diferente. A viscosidade salivar é retribuída à maior concentração da mucina MUC5B e a *spinnbarkeit* salivar, por sua vez, à MUC7 (Inoue *et al.*, 2008). A degradação de mucinas foi reportada como causa de geração de CSV em estudo *in vitro* (Sterer e Rosenberg, 2006). Neste estudo, a capacidade de formar “fio” da saliva foi denominada viscosidade salivar clínica. No entanto, nenhuma relação entre a viscosidade e os níveis de CSV foi significativa. Por outro lado, a viscosidade salivar clínica foi correlacionada negativamente com os parâmetros periodontais e com o índice de saburra lingual. Estudos com amostras maiores e avaliação de outros parâmetros como a concentração e tipo de mucinas devem ser realizados para elucidar essas relações.

Neste estudo, o aumento do percentual de sítios afetados periodontalmente foi acompanhado de um aumento da concentração de H_2S . Deve ser ressaltado, no entanto, que a correlação, embora significativa, apresentou uma magnitude baixa. Este fato comprova que os parâmetros periodontais sozinhos não são suficientes para explicar o comportamento da concentração de H_2S . A redução do número de dentes presentes foi acompanhada por um aumento do CH_3SH , e níveis elevados desse gás foram associados com a piora dos parâmetros periodontais. A doença periodontal quando não tratada provoca a mobilidade e conseqüentemente a perda dentária. Nesse sentido, a utilização do método da cromatografia gasosa para avaliar a composição do ar intra-bucal possibilita a identificação de CH_3SH relacionada com a periodontite.

Sabe-se que a doença periodontal e a halitose tratam-se de alterações de caráter multifatorial. Uma vez que os parâmetros clínicos isolados não foram suficientemente capazes de determinar a influência do comportamento do fluxo e da viscosidade salivar em relação à doença periodontal e aos CSV, faz-se necessário a associação conjunta com as análises químicas. Nesse contexto, como perspectivas futuras, a composição salivar e análise do fluido gengival podem ser avaliadas juntamente às propriedades físicas da saliva.

CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

- Os achados sugerem que as propriedades físicas da saliva, como baixa viscosidade salivar clínica e baixo fluxo salivar, estão correlacionadas com a doença periodontal, assim como altas concentrações de sulfidreto (H_2S) e a metilmercaptana CH_3SH .
- A diminuição da viscosidade salivar clínica parece contribuir para a gravidade da doença periodontal, assim como o aumento do índice de placa, e para o aumento do quadro de saburra lingual.
- Hipossalivação em repouso e sob estímulo parece estar associada à presença de doença periodontal e ser maior em indivíduo com periodontite leve-moderada e gengivite, seguidos pelo grupo de periodontite avançada, respectivamente.
- Maiores concentrações de sulfidreto (H_2S) são encontradas em indivíduos com periodontite avançada ou gengivite
- Apesar de a gravidade da doença periodontal ser correlacionada significativamente com o sulfidreto (H_2S), parâmetros periodontais isoladamente não são suficientes para explicar as concentrações observadas desse gás.
- Altas concentrações de metilmercaptana (CH_3SH) estão correlacionadas com a gravidade da doença periodontal e com a diminuição do número de dentes presentes.

REFERÊNCIAS

- American Academy of Periodontology. Parameter on chronic periodontitis with advanced loss of periodontal support. *J Periodontol*. 2000 May;71(5 Suppl):856-8.
- American Academy of Periodontology. Parameter on chronic periodontitis with slight to moderate loss of periodontal support. *J Periodontol*. 2000 May;71(5 Suppl):853-5.
- Almeida TFG, Falcão DP, Amorim RFB, Montenegro G. Análise do pH e viscosidade salivar e sua correlação com a doença periodontal: estudo piloto. *Braz J Periodontol*. 2013 Dez; 23(04):12-17.
- Amaral TM, Campos CC, Moreira dos Santos TP, Leles CR, Teixeira AL, Teixeira MM, Bittencourt H, Silva TA. Effect of salivary stimulation therapies on salivary flow and chemotherapy-induced mucositis: a preliminary study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2012 May;113(5):628-37.
- Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Northwest Dent*. 2000 Nov-Dec;79(6):31-5.
- Antoniazzi RP, Miranda LA, Zanatta FB, Islabão AG, Gustafsson A, Chiapinotto GA, Oppermann RV. Periodontal conditions of individuals with Sjögren's syndrome. *J Periodontol*. 2009 Mar;80(3):429-35.
- Apatzidou AD, Bakirtzoglou E, Vouros I, Karagiannis V, Papa A, Konstantinidis A. Association between oral malodour and periodontal disease-related parameters in the general population. *Acta Odontol Scand*. 2013 Jan;71(1):189-95.
- Attia EL, Marshall KG. Halitosis. *Can Med Assoc J*. 1982 Jun 1;126(11):1281-5.)
- Balmer RT, Hirsch SR. The non-Newtonian behaviour of human saliva. *Biorheology*. 1978;181(74):125-129.
- Bansal M, Khatri M, Taneja V. Potential role of periodontal infection in respiratory diseases – a review. *J Med Life*. 2013 Sep 15;6(3):244-8.
- Baughan LW, Robertello FJ, Sarrett DC, Denny PA, Denny PC. Salivary mucin as related to oral *Streptococcus mutans* in elderly people. *Oral Microbiol Immunol*. 2000 Feb;15(1):10-4.
- Biesbrock AR, Dirksen T, Schuster G. Effects of tung oil on salivary viscosity and extent and incidence of dental caries in rats. *Caries Res*. 1992;26(2):117-23.
- Bollen CM, Beikler T. Halitosis: the multidisciplinary approach. *Int J Oral Sci*. 2012 Jun;4(2):55-63.
- Bosy A, Kulkarni GV, Rosenberg M, McCulloch CA. Relationship of oral malodor to periodontitis: evidence of independence in discrete subpopulations. *J Periodontol*. 1994 Jan;65(1):37-46.

Brofeldt S, Mygind N. Viscosity and spinability of nasal secretions induced by different provocation tests. *Am Rev Respir Dis*. 1987 Aug;136(2):353-6.

Calil CM, Marcondes FK. Influence of anxiety on the production of oral volatile sulfur compounds. *Life Sci*. 2006 Jul 10;79(7):660-4.

Caplan DJ, Hunt RJ. Salivary flow and risk of tooth loss in an elderly population. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1996 Feb;24(1):68-71.

Carpenter GH. The secretion, components, and properties of saliva. *Annu Ver Food Sci Technol*. 2013;4:267-76.

Chimenos-Kustner E, Marques-Soares MS. Burning mouth and saliva. *Med Oral*. 2002 Jul-Oct;7(4):244-53.

Çiçek Y, Orbak R, Tezel A, Orbak Z, Erciyas K. Effect of tongue brushing on oral malodor in adolescents. *Pediatr Int*. 2003 Dec;45(6):719-23.

Coil JM, Tonzetich J. Characterization of volatile sulphur compounds production at individual gingival crevicular sites in humans. *J Clin Dent*. 1992;3(4):97-103.

Conceição MD, Marocchio LS, Fagundes RL. Técnica de sialometria para uso na prática clínica diária. *Rev Assoc Paul Cir Dent*. 2006;60(5):350-4.

Conover WJ. *Practical Nonparametric Statistics*, New York: John Wiley & Sons; 1980. 493p.

Costa FO, Guimarães AN, Cota LO, Pataro AL, Segundo TK, Cortelli SC, Costa JE. Impact of different periodontitis case definitions on periodontal research. *J Oral Sci*. 2009 Jun;51(2):199-206.

Crow HC, Ship JA. Are gingival and periodontal conditions related to salivary gland flow rates in healthy individuals? *J Am Dent Assoc*. 1995 Nov;126(11):1514-20.

De Boever EH, De Uzeda M, Loesche WJ. Relationship between volatile sulfur compounds, BANA-hydrolyzing bacteria and gingival health in patients with and without complaints of oral malodor. *J Clin Dent*. 1994;4(4):114-9.

Eke PI, Dye BA, Wei L, Thornton-Evans GO, Genco RJ; CDC Periodontal Disease Surveillance workgroup: James Beck (University of North Carolina, Chapel Hill, USA), Gordon Douglass (Past President, American Academy of Periodontology), Roy Page (University of Washin. Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010. *J Dent Res*. 2012 Oct;91(10):914-20.

Ericsson Y, Hardwick L. Individual diagnosis, prognosis and counselling for caries prevention. *Caries Res*. 1978;12 Suppl 1:94-102.

Fábián TK, Hermann P, Beck A, Fejérdy P, Fábián G. Salivary defense proteins: their network and role in innate and acquired oral immunity. *Int J Mol Sci*. 2012;13(4):4295-320.

Falcão D. Avaliação da viscosidade salivar e sua relação com halitose [dissertação de mestrado em Ciências da Saúde]. Brasília: Universidade de Brasília, Faculdade de Odontologia; 2005. 73 p.

Falcão DP, Leal SC, Vieira CN, Wolff A, Filgueira Galdino Almeida T, Nunes Fde P, de Amorim RF, Bezerra AC. Sialometry of Upper Labial Minor Glands: A Clinical Approach by the Use of Weighing Method Schirmer's Test Strips Paper. *ScientificWorldJournal*. 2014 Mar 9;2014:268634.

Faveri M, Feres M, Shibli JA, Hayacibara RF, Hayacibara MM, de Figueiredo LC. Microbiota of the dorsum of the tongue after plaque accumulation: an experimental study in humans. *J Periodontol*. 2006 Sep;77(9):1539-46.

Figueiredo LC, Rosetti EP, Marcantonio E Jr, Marcantonio RA, Salvador SL. The relationship of oral malodor in patients with or without periodontal disease. *J Periodontol*. 2002 Nov;73(11):1338-42.

Flink H, Bergdahl M, Tegelberg A, Rosenblad A, Lagerlöf F. Prevalence of hyposalivation in relation to general health, body mass index and remaining teeth in different age groups of adults. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2008 Dec;36(6):523-31.

Gabryel-Porowska H, Gornowicz A, Bielawska A, Wójcicka A, Maciorkowska E, Grabowska SZ, Bielawski K. Mucin levels in saliva of adolescents with dental caries. *Med Sci Monit*. 2014 Jan 18;20:72-7.

Giannobile WV. Salivary diagnostics for periodontal diseases. *J Am Dent Assoc*. 2012 Oct;143(10 Suppl):6S-11S.

Giannobile WV, Beikler T, Kinney JS, Ramseier CA, Morelli T, Wong DT. Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease: current state and future directions. *Periodontol* 2000. 2009;50:52-64.

Gohara K, Ansai T, Koseki T, Ishikawa M, Kakinoki Y, Shibuya K, Nishihara T, Takehara T. A new automatic device for measuring the spinnbarkeit of saliva: the Neva Meter. *J Dent*. 2004 May;32(4):335-8.

Goldberg S, Kozlovsky A, Gordon D, Gelernter I, Sintov A, Rosenberg M. Cadaverine as a putative component of oral malodor. *J Dent Res*. 1994 Jun;73(6):1168-72.

Haraszthy VI, Zambon JJ, Sreenivasan PK, Zambon MM, Gerber D, Rego R, Parker C. Identification of oral bacterial species associated with halitosis. *J Am Dent Assoc*. 2007 Aug;138(8):1113-20.

Hinode D, Fukui M, Yokoyama N, Yokoyama M, Yoshioka M, Nakamura R. Relationship between tongue coating and secretory-immunoglobulin A level in saliva obtained from patients complaining of oral malodor. *J Clin Periodontol*. 2003 Dec;30(12):1017-23.

Hiroto T, Yoshihara A, Ogawa H, Ito K, Igarashi A, Miyazaki H. A preliminary study on the relationship between stimulated saliva and periodontal conditions in community-dwelling elderly people. *J Dent*. 2006. Oct.;34(9):692-8.

Hiroto T, Yoshihara A, Ogawa H, Ito K, Igarashi A, Miyazaki H. Salivary spinability and periodontal disease progression in an elderly population. *Arch Oral Biol*. 2008 Nov;53(11):1071-6.

Inoue H, Ono K, Masuda W, Inagaki T, Yokota M, Inenag K. Rheological Properties of Human Saliva and Salivary Mucins. *J Oral Biosci.* 2008;50(2):134-141.

Jain N, Jain GK, Javed S, Iqbal Z, Talegaonkar S, Ahmad FJ, Khar RK. Recent approaches for the treatment of periodontitis. *Drug Discov Today.* 2008 Nov;13(21-22):932-43.

John M, Vandana KL. Detection and measurement of oral malodour in periodontitis patients. *Indian J Dent Res.* 2006 Jan-Mar;17(1):2-6.

Johnson R, Bhattacharyya G. *Statistics Principles and Methods.* New York: John Wiley & Sons; 1986. 578 p.

Kamaraj R D, Bhushan KS, K L V. An evaluation of microbial profile in halitosis with tongue coating using PCR (polymerase chain reaction)- a clinical and microbiological study. *J Clin Diagn Res.* 2014 Jan;8(1):263-7.

Kazor CE, Mitchell PM, Lee AM, Stokes LN, Loesche WJ, Dewhirst FE, Paster BJ. Diversity of bacterial populations on the tongue dorsa of patients with halitosis and healthy patients. *J Clin Microbiol.* 2003 Feb;41(2):558-63.

Kinane DF. Periodontitis modified by systemic factors. *Ann Periodontol.* 1999 Dec;4(1):54-64. Review.

Kishi M, Ohara-Nemoto Y, Takahashi M, Kishi K, Kimura S, Aizawa F, *et al.* Prediction of periodontopathic bacteria in dental plaque of periodontal healthy subjects by measurement of volatile sulfur compounds in mouth air. *Arch Oral Biol.* 2013 Mar;58(3):324-30.

Kleinberg I, Codipilly DPM, Globerman DY. Oxygen depletion by oral microbiota and its role in oral malodour formation. In: Steenberghe D, Rosenberg GM. *Bad breath a multidisciplinary approach.* 1st ed. Belgium: Leuven University Press; 1996. p. 95-109.

Koshimune S, Awano S, Gohara K, Kurihara E, Ansai T, Takehara T. Low salivary flow and volatile sulfur compounds in mouth air. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003 Jul;96(1):38-41.

Koss MA, Castro CE, Salúm KM, López ME. Changes in saliva protein composition in patients with periodontal disease. *Acta Odontol Latinoam.* 2009;22(2):105-12.

Krespi YP, Shrimel MG, Kacker A. The relationship between oral malodor and volatile sulfur compound-producing bacteria. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2006 Nov;135(5):671-6. Review.

Lee CH, Kho HS, Chung SC, Lee SW, Kim YK. The relationship between volatile sulfur compounds and major halitosis-inducing factors. *J Periodontol.* 2003 Jan;74(1):32-7.

Li Y, Lee S, Hujoel P, Su M, Zhang W, Kim J, Zhang YP, DeVizio W. Prevalence and severity of gingivitis in American adults. *Am J Dent.* 2010 Feb;23(1):9-13.

Lindhe J, Karring T, Lang NP *et al.* *Tratado de Periodontia e Implantodontia Oral.* 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999. 720 p.

- López Jornet P, Bermejo Fenoll A. [Sialometry of 156 healthy subjects. Physiologic factors which influence non-stimulated saliva secretion]. *Rev Stomatol Chir Maxillofac*. 1995;96(5):342-6. [Article in French]
- Lu A, Jiang M, Zhang C, Chan K. An integrative approach of linking traditional Chinese medicine pattern classification and biomedicine diagnosis. *J Ethnopharmacol*. 2012 Jun 1;141(2):549-56.
- Mandel ID. The function of saliva. *J Dent Res*. 1987 Feb;66 Spec No:623-7.
- Makino Y, Yamaga T, Yoshihara A, Nohno K, Miyazaki H. Association between volatile sulfur compounds and periodontal disease progression in elderly non-smokers. *J Periodontol*. 2012 May;83(5):635-410.
- Mantilla Gómez S, Danser MM, Sipos PM, Rowshani B, van der Velden U, van der Weijden GA. Tongue coating and salivary bacterial counts in healthy/gingivitis subjects and periodontitis patients. *J Clin Periodontol*. 2001 Oct;28(10):970-8.
- McClanahan SF, Bartizek RD, Biesbrock AR. Identification and consequences of distinct Löe-Silness gingival index examiner styles for the clinical assessment of gingivitis. *J Periodontol*. 2001 Mar;72(3):383-92.
- Milosevic A, Dawson LJ. Salivary factors in vomiting bulimics with and without pathological tooth wear. *Caries Res*. 1996;30(5):361-6.
- Miyazaki H, Sakao S, Katoh Y, Takehara T. Correlation between volatile sulphur compounds and certain oral health measurements in the general population. *J Periodontol*. 1995 Aug;66(8):679-84.
- Montgomery DC. *Design and Analysis of Experiments*. New York: John Wiley & Sons; 1991. 649 p.
- Murata T, Yamaga T, Iida T, Miyazaki H, Yaegaki K. Classification and examination of halitosis. *Int Dent J*. 2002 Jun;52 Suppl 3:181-6.
- Nadanovsky P, Carvalho LB, Ponce de Leon A. Oral malodour and its association with age and sex in a general population in Brazil. *Oral Dis*. 2007 Jan;13(1):105-9.
- Nakano Y, Yoshimura M, Koga T. Methyl mercaptan production by periodontal bacteria. *Int Dent J*. 2002 Jun;52 Suppl 3:217-20.
- Ng W, Tonzetich J. Effect of hydrogen sulfide and methyl mercaptan on the permeability of oral mucosa. *J Dent Res*. 1984 Jul;63(7):994-7.
- Page RC, Eke PI. Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol*. 2007 Jul;78(7 Suppl):1387-99.
- Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol*. 1996 Nov;1(1):821-78.
- Persson GR. What has ageing to do with periodontal health and disease? *Int Dent J*. 2006 Aug;56(4 Suppl 1):240-9.

- Pham TA, Ueno M, Zaitso T, Takehara S, Shinada K, Lam PH, Kawaguchi Y. Clinical trial of oral malodor treatment in patients with periodontal diseases. *J Periodontol Res*. 2011 Dec;46(6):722-9.
- Polson AM, Goodson JM. Periodontal diagnosis. Current status and future needs. *J Periodontol*. 1985 Jan;56(1):25-34.
- Pramanik R, Osailan SM, Challacombe SJ, Urquhart D, Proctor GB. Protein and mucin retention on oral mucosal surfaces in dry mouth patients. *Eur J Oral Sci*. 2010 Jun;118(3):245-53.
- Puchelle E, Zahm JM, Duvivier C. Spinability of bronchial mucus. Relationship with viscoelasticity and mucous transport properties. *Biorheology*. 1983;20(2):239-49.
- Quigley GA, Hein JW. Comparative cleansing efficiency of manual and power brushing. *J Am Dent Assoc*. 1962 Jul;65:26-9.
- Quirynen M, Dadamio J, Van den Velde S, De Smit M, Dekeyser C, Van Tornout M, Vandekerckhove B. Characteristics of 2000 patients who visited a halitosis clinic. *J Clin Periodontol*. 2009 Nov;36(11):970-5.
- Ramírez J, Parra B, Gutierrez S, Arce R, Jaramillo A, Ariza Y, Contreras A. Biomarkers of cardiovascular disease are increased in untreated chronic periodontitis: a case control study. *Aust Dent J*. 2014 Mar;59(1):29-36.
- Ranganath LM, Shet RG, Rajesh AG. Saliva: a powerful diagnostic tool for minimal intervention dentistry. *J Contemp Dent Pract*. 2012 Mar 1;13(2):240-5.
- 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*. 2009 Mar;80(3):436-46.
- Rantonen PJ, Meurman JH. Viscosity of whole saliva. *Acta Odontol Scand*. 1998 Aug;56(4):210-4.
- Ratcliff PA, Johnson PW. The relationship between oral malodor, gingivitis, and periodontitis. A review. *J Periodontol*. 1999 May;70(5):485-9.
- Raynal BD, Hardingham TE, Sheehan JK, Thornton DJ. Calcium-dependent protein interactions in MUC5B provide reversible cross-links in salivary mucus. *J Biol Chem*. 2003 Aug 1;278(31):28703-10.
- Rocha Dde M, Zenóbio EG, Van Dyke T, Silva KS, Costa FO, Soares RV. Differential expression of salivary glycoproteins in aggressive and chronic periodontitis. *J Appl Oral Sci*. 2012 Mar-Apr;20(2):180-5.
- Salazar MG, Jehmlich N, Murr A, Dhople VM, Holtfreter B, Hammer E, Völker U, Kocher T. Identification of periodontitis associated changes in the proteome of whole human saliva by mass spectrometric analysis. *J Clin Periodontol*. 2013 Sep;40(9):825-32.

Salminen A, Gursoy UK, Paju S, Hyvärinen K, Mäntylä P, Buhlin K, Könönen E, Nieminen MS, Sorsa T, Sinisalo J, Pussinen PJ. Salivary biomarkers of bacterial burden, inflammatory response, and tissue destruction in periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2014 May;41(5):442-50.

Sánchez GA, Miozza V, Delgado A, Busch L. Determination of salivary levels of mucin and amylase in chronic periodontitis patients. *J Periodontal Res*. 2011 Apr;46(2):221-7.

Sánchez GA, Miozza VA, Delgado A, Busch L. Relationship between salivary mucin or amylase and the periodontal status. *Oral Dis*. 2013 Sep;19(6):585-91.

Saygun I, Nizam N, Keskiner I, Bal V, Kubar A, Açikel C, Serdar M, Slots J. Shimizu Salivary infectious agents and periodontal disease status. *J Periodontal Res*. 2011 Apr;46(2):235-9.

Shimizu T, Ueda T, Sakurai K. New method for evaluation of tongue-coating status. *J Oral Rehabil*. 2007 Jun;34(6):442-7.

Sopapornamorn P, Ueno M, Shinada K, Yanagishita M, Kawaguchi Y. Relationship between total salivary protein content and volatile sulfur compounds levels in malodor patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007 May;103(5):655-60.

Susin C, Albandar JM. Aggressive periodontitis in an urban population in southern Brazil. *J Periodontol*. 2005 Mar;76(3):468-75.

Sterer N, Rosenberg M. *Streptococcus salivarius* promotes mucin putrefaction and malodor production by *Porphyromonas gingivalis*. *J Dent Res*. 2006 Oct;85(10):910-4.

Syrjälä AM, Raatikainen L, Komulainen K, Knuutila M, Ruoppi P, Hartikainen S, Sulkava R, Ylöstalo P. Salivary flow rate and periodontal infection - a study among subjects aged 75 years or older. *Oral Dis*. 2011 May;17(4):387-92.

Takehara S, Yanagishita M, Podyma-Inoue KA, Ueno M, Shinada K, Kawaguchi Y. Relationship between oral malodor and glycosylated salivary proteins. *J Med Dent Sci*. 2010 Mar;57(1):25-33.

Takehita T, Suzuki N, Nakano Y, Shimazaki Y, Yoneda M, Hirofuji T, Yamashita Y. Relationship between oral malodor and the global composition of indigenous bacterial populations in saliva. *Appl Environ Microbiol*. 2010 May;76(9):2806-14.

Takeuchi H, Machigashira M, Yamashita D, Kozono S, Nakajima Y, Miyamoto M, Takeuchi N, Setoguchi T, Noguchi K. The association of periodontal disease with oral malodour in a Japanese population. *Oral Dis*. 2010 Oct;16(7):702-6

Tanaka M, Yamamoto Y, Kuboniwa M, Nonaka A, Nishida N, Maeda K, Kataoka K, Nagata H, Shizukuishi S. Contribution of periodontal pathogens on tongue dorsa analyzed with real-time PCR to oral malodor. *Microbes Infect*. 2004 Oct;6(12):1078-83.

Tangerman A, Winkel EG. Intra- and extra-oral halitosis: finding of a new form of extra-oral blood-borne halitosis caused by dimethyl sulphide. *J Clin Periodontol*. 2007 Sep;34(9):748-55.

Tariq M, Iqbal Z, Ali J, Baboota S, Talegaonkar S, Ahmad Z, Sahni JK. Treatment modalities and evaluation models for periodontitis. *Int J Pharm Investig*. 2012 Jul;2(3):106-22.

Tárzia, O. Halitose: um desafio que tem cura. Rio de Janeiro: EPUB; 2003. 240 p.

Tomar SL, Asma S. Smoking-attributable periodontitis in the United States: findings from NHANES III. National Health and Nutrition Examination Survey. *J Periodontol*. 2000 May;71(5):743-51.

Tonzetich J. Production and origin of oral malodor: a review of mechanisms and methods of analysis. *J Periodontol*. 1977 Jan;48(1):13-20.

Tonzetich J, McBride BC. Characterization of volatile sulphur production by pathogenic and non-pathogenic strains of oral Bacteroides. *Arch Oral Biol*. 1981;26(12):963-9.

Tsai CC, Chou HH, Wu TL, Yang YH, Ho KY, Wu YM, Ho YP. The levels of volatile sulfur compounds in mouth air from patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res*. 2008 Apr;43(2):186-93.

Tschoppe P, Wolgin M, Pischon N, Kielbassa AM. Etiologic factors of hyposalivation and consequences for oral health. *Quintessence Int*. 2010 Apr;41(4):321-33.

Turesky S, Gilmore ND, Glickman I. Reduced plaque formation by the chloromethyl analogue of vitamin C. *J Periodontol*. 1970 Jan;41(1):41-3.

Van den Broek AM, Feenstra L, de Baat C. A review of the current literature on aetiology and measurement methods of halitosis. *J Dent*. 2007 Aug;35(8):627-35.

Van den Broek AM, Feenstra L, de Baat C. A review of the current literature on management of halitosis. *Oral Dis*. 2008 Jan;14(1):30-9.

Van Tornout M, Dadamio J, Coucke W, Quirynen M. Tongue coating: related factors. *J Clin Periodontol*. 2013 Feb;40(2):180-5.

Veerman EC, Valentijn-Benz M, Nieuw Amerongen AV. Viscosity of human salivary mucins: effect of pH and ionic strength and role of sialic acid. *J Biol Buccale*. 1989 Dec;17(4):297-306.

Waterman HA, Blom C, Holterman HJ, 's-Gravenmade EJ, Mellema J. Rheological properties of human saliva. *Arch Oral Biol*. 1988;33(8):589-96.

Wiebe CB, Putnins EE. The periodontal disease classification system of the American Academy of Periodontology--an update. *J Can Dent Assoc*. 2000 Dec;66(11):594-7.

Williams RC, Offenbacher S. Periodontal medicine: the emergence of a new branch of periodontology. *Periodontol* 2000. 2000 Jun; 23:9-12.

Yaegaki K, Sanada K. Biochemical and clinical factors influencing oral malodor in periodontal patients. *J Periodontol*. 1992 Sep;63(9):783-9.

Yarat A, Akyüz S, Koç L, Erdem H, Emekli N. Salivary sialic acid, protein, salivary flow rate, pH, buffering capacity and caries indices in subjects with Down's syndrome. *J Dent.* 1999 Feb;27(2):115-8.

Ye J, Cai X, Cao P. Problems and prospects of current studies on the microecology of tongue coating. *Chin Med.* 2014 Mar 5;9(1):9.

Zhang L, Henson BS, Camargo PM, Wong DT. The clinical value of salivary biomarkers for periodontal disease. *Periodontol 2000.*2009;51:25-37.

Zussman E, Yarin AL, Nagler RM. Age- and flow-dependency of salivary viscoelasticity. *J Dent Res.* 2007 Mar;86(3):281-5.

ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE – 15085713.1.0000.5149

Interessado(a): Prof. Ricardo Alves de Mesquita
Depto. Clínica, Patologia e Cirurgia Odontológicas
Faculdade de Odontologia - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 17 de maio de 2013, o projeto de pesquisa intitulado "**Avaliação da viscosidade e fluxo salivar em pacientes com doença periodontal e a relação com os níveis de compostos sulfurados voláteis**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.



Prof.ª Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG

ANEXO B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Este documento tem como finalidade propor a sua participação no projeto de pesquisa “Avaliação da viscosidade e fluxo salivar em pacientes com doença periodontal e a relação com os níveis de compostos sulfurados voláteis”. Os compostos sulfurados voláteis são os principais gases responsáveis pelo mal odor bucal e estão presentes também nos pacientes com doença periodontal. Sabe-se que a saliva desempenha um papel importante na manutenção da saúde bucal e que a sua quantidade e qualidade pode estar alterada nos pacientes com doença periodontal. Assim, este estudo tem como objetivo avaliar a qualidade e a quantidade da saliva dos pacientes com doença periodontal e a quantidade dos gases responsáveis pela alteração do mal cheiro bucal para esclarecer a sua relação.

Para isso será necessário preencher uma ficha, responder à um questionário e realizar um exame para avaliação do seu hálito e da sua quantidade de saliva, além de um exame clínico periodontal. Todos os exames que você realizará são simples. A entrevista será conduzida de forma que você se sinta bem à vontade, sem que se sinta constrangido(a). Você não sentirá dor no momento do exame odontológico. Você poderá sentir apenas um leve desconforto. Caso seja encontrada alguma alteração, você será imediatamente informado(a) e encaminhado(a) para tratamento na Clínica de Periodontia da Faculdade de Odontologia.

Quanto aos benefícios, a avaliação da condição salivar relacionada com as concentrações de compostos sulfurados voláteis poderá auxiliar no diagnóstico e na prevenção da progressão da doença periodontal, além de poder melhorar a qualidade de vida e adicionalmente fornecer indícios científicos para futuros estudo. A sua participação é voluntária. Você poderá desistir de participar e cancelar o seu consentimento em qualquer momento de pesquisa. A desistência ou a não aceitação em fazer parte dessa pesquisa não irá interferir no seu tratamento. Não terá custos ou ressarcimentos para você. O voluntário receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone/e-mail do pesquisador responsável, e demais membros da equipe, podendo tirar as suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento. Todas as informações fornecidas serão mantidas em sigilo e terão finalidade exclusivamente científica. Em hipótese alguma seu nome será divulgado.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, RG: _____, aceito participar deste estudo de forma voluntária. Estou ciente que posso desistir a qualquer momento sem que isso acarrete qualquer tipo de prejuízo para meu tratamento na Faculdade de Odontologia da UFMG. O COEP estará disponível para responder dúvidas sobre as questões éticas. Dessa forma, afirmo que todas as minhas dúvidas foram todas esclarecidas quanto aos objetivos da pesquisa, quanto à preservação da minha imagem e quanto ao destino dos dados coletados.

Belo Horizonte, _____ de _____ de 2013.

Assinatura do paciente e/ou responsável

Principal: Prof. Dr. Ricardo Alves Mesquita - E-mail: ramesquita@ufmg.br / Tel.: (31) 3409-2499
Coorientadora: Profa. Dra. Tânia Mara Pimenta Amaral - E-mail: taniapamaral@uol.com.br
Tel.:(31)8828-0321

Aluna do Mestrado: Maiza Luiza Vieira Silva - E-mail: maizaluvieira@msn.com /Tel.: (31)9911-2187
Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais - COEP-UFMG
(Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 - Unidade administrativa II, 2º andar, sala 2005 - Belo Horizonte - MG, CEP: 31270-901, telefone (31) 3409 4592 – coep@prpq.ufmg.br).

ANEXO C - Ficha Clínica

FICHA CLÍNICA

Nome completo:		Identificação do paciente:	
Data nascimento: ___/___/___	Sexo: M [] F []	Idade: _____ anos	
[] Leucoderma [] Feoderma [] Melanoderma		Profissão:	
Estado civil:		Procedência:	
Naturalidade:		Nacionalidade:	
Endereço (rua, av.):			
Bairro:	Cidade:	Estado:	Cep.:
Telefone contato:			
História médica:			
1 Esteve em tratamento médico nos últimos 6 meses? Sim [] Não []			
2 Por quê?			
3 Tem alguma doença endócrina?		Sim []	Não []
4 Faz uso de insulina ou anti-diabético oral?		Sim []	Não []
Qual?			
5 Faz controle com endocrinologista?		Sim []	Não []
6 Tem alguma doença cardiovascular?		Sim []	Não []
7 Tem alguma doença geniturinária ou DST?		Sim []	Não []
8 Tem alguma doença respiratória?		Sim []	Não []
9 Tem alguma doença gastrointestinal?		Sim []	Não []
10 Tem alguma doença neurológica?		Sim []	Não []
11 Tem alguma doença reumática?		Sim []	Não []
12 Está atualmente tomando algum remédio?		Sim []	Não []
Anticonvulsivante []	Imunossupressor []	Anti-hipertensivo []	
Anti-inflamatório []	Anticoncepcional []	Antidepressivo []	
13 Outro medicamento (especificar):			
14 Internações: Sim [] Não []		Data:	Motivo:
Hábitos			
15 Quantas vezes escova os dentes?			
Nenhuma [] 1 vez por dia [] 2 vezes por dia [] 3 vezes por dia [] 4 vezes por dia [] algumas vezes na semana []			
16 Você é: Fumante []		Ex-fumante []	Não fumante []
Já fumou mais de 100 cigarros durante toda a sua vida? Sim [] Não []			
17 Tipo de fumo: cigarro [] cigarro de palha [] cachimbo [] outro (especificar) []			

<p>18 Se você é ex-fumante, parou de fumar a quanto tempo?</p> <p>0 - 2 anos [] 3 - 5 anos [] 6 - 10 anos [] 11 - 20 anos [] mais de 20 anos []</p>
<p>19 Por quanto tempo você fumou?</p>
<p>20 Se fumante, qual quantidade de cigarros fuma por dia:</p>
<p>21 Usa ou já usou algum tipo de droga? Sim [] Não [] Qual?</p>
<p>22 Você ingere bebidas alcoólicas? Sim [] Não [] De que tipo?</p>
<p>23 Se você bebe, qual é a frequência?</p>
<p>Halitose</p>
<p>24 Você teve problemas para conversar por causa do seu hálito?</p> <p>0 = Nunca [] 1 = raramente [] 2 = às vezes [] 3 = frequentemente [] 4 = sempre [] 5 = NR []</p>
<p>25 Você sentiu que o sabor dos alimentos ficou pior por causa de problemas com seu hálito?</p> <p>0 = Nunca [] 1 = raramente [] 2 = às vezes [] 3 = frequentemente [] 4 = sempre [] 5 = NR []</p>
<p>26 Você acha que sua vida afetiva foi prejudicada por causa de seu hálito?</p> <p>0 = Nunca [] 1 = raramente [] 2 = às vezes [] 3 = frequentemente [] 4 = sempre [] 5 = NR []</p>
<p>27 Você acha que sua vida social foi prejudicada por causa de seu hálito?</p> <p>0 = Nunca [] 1 = raramente [] 2 = às vezes [] 3 = frequentemente [] 4 = sempre [] 5 = NR []</p>
<p>28 Você ficou preocupado(a) com o seu hálito?</p> <p>0 = Nunca [] 1 = raramente [] 2 = às vezes [] 3 = frequentemente [] 4 = sempre [] 5 = NR []</p>
<p>29 Você se sentiu estressada por causa de problemas decorrentes do seu hálito?</p> <p>0 = Nunca [] 1 = raramente [] 2 = às vezes [] 3 = frequentemente [] 4 = sempre [] 5 = NR []</p>
<p>30 Você deixou de comer alguma coisa por causa dos problemas com seu hálito?</p> <p>0 = Nunca [] 1 = raramente [] 2 = às vezes [] 3 = frequentemente [] 4 = sempre [] 5 = NR []</p>
<p>31 Você se sentiu prejudicado por causa do seu hálito?</p> <p>0 = Nunca [] 1 = raramente [] 2 = às vezes [] 3 = frequentemente [] 4 = sempre [] 5 = NR []</p>
<p>32 Você encontrou problemas para relaxar por causa do seu hálito?</p> <p>0 = Nunca [] 1 = raramente [] 2 = às vezes [] 3 = frequentemente [] 4 = sempre [] 5 = NR []</p>
<p>33 Você se sentiu envergonhado por causa de problemas com seu hálito?</p> <p>0 = Nunca [] 1 = raramente [] 2 = às vezes [] 3 = frequentemente [] 4 = sempre [] 5 = NR []</p>
<p>34 Você ficou irritado com outras pessoas por causa de problemas com seu hálito?</p> <p>0 = Nunca [] 1 = raramente [] 2 = às vezes [] 3 = frequentemente [] 4 = sempre [] 5 = NR []</p>
<p>35 Você sentiu dificuldades de realizar suas atividades diárias por causa de problemas com seu hálito?</p> <p>0 = Nunca [] 1 = raramente [] 2 = às vezes [] 3 = frequentemente [] 4 = sempre [] 5 = NR []</p>
<p>36 Você sentiu que a vida, em geral, ficou pior por causa de problemas com seu hálito?</p> <p>0 = Nunca [] 1 = raramente [] 2 = às vezes [] 3 = frequentemente [] 4 = sempre [] 5 = NR []</p>
<p>37 Você ficou totalmente incapaz de fazer suas atividades diárias por causa de problemas com seu hálito?</p> <p>0 = Nunca [] 1 = raramente [] 2 = às vezes [] 3 = frequentemente [] 4 = sempre [] 5 = NR []</p>

Oral Chroma™

CSV Bucal	SH ₂	CH ₃ SH	CH ₃ I ₂ SH	Total

Viscosidade Salivar

Clinica	Laboratorial
---------	--------------

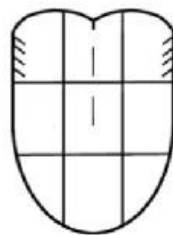
Sialometria

Saliva em repouso: _____ ml/min

Saliva estimulada: _____ ml/min

Índice de Saburra Lingual

0= ausência de saburra 1= saburra fina, papilas visíveis 2= saburra espessa



Name : _____

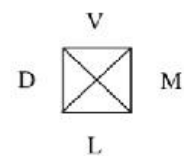
Date : _____

Tongue Coating Index (TCI) :

$$= \frac{\text{Total score (0-18)}}{18} \times 100 = \text{_____} \%$$

Índice de Placa

16	13	11	21	13	16
46	43	41	31	33	36



ANEXO E - Recomendações pré-halimetria

RECOMENDAÇÕES PRÉ-HALIMETRIA

Nome: _____

Você passará por um exame para avaliação do seu hálito. Para que os resultados obtidos sejam mais confiáveis, você deverá ler e seguir as recomendações abaixo.

Um dia (24 h) antes do exame:

1. Não coma alimentos contendo temperos fortes como alho, cebola e pimentas.
2. Não tome bebidas alcoólicas.
3. Não utilize enxaguatórios bucais tipo Listerine, Plax, Oral B e outros.

No dia do exame (4 horas antes):

1. Não higienizar a boca.

Obrigada por colaborar. A sua participação é muito importante.

Dra. Maiza Luiza Vieira Silva
Cirurgiã dentista
CRO MG 40.0