

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Alexandre Lustosa Pereira

**TERAPIA PERIODONTAL NÃO CIRÚRGICA:
avaliação de eficiência por parâmetros clínicos,
microbianos e salivares**

Taubaté – SP
2009

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Alexandre Lustosa Pereira

**TERAPIA PERIODONTAL NÃO CIRÚRGICA:
avaliação de eficiência por parâmetros clínicos,
microbianos e salivares**

Dissertação apresentada para obtenção do Título de Mestre pelo Programa de Pós-graduação em Odontologia do Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté.

Área de Concentração: Periodontia

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Cortelli

Co-orientadora: Profa. Dra. Marinella Holzhausen

Taubaté – SP
2009

ALEXANDRE LUSTOSA PEREIRA

Data: 18/08/2009

Resultado: _____

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. _____ Universidade:

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Universidade:

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Universidade:

Assinatura: _____

*À minha esposa, Dulceny, por seu imensurável amor e seu incondicional apoio.
Amo você, e amarei eternamente!*

Ao meu filho, Arthur, por compreender minhas muitas ausências, sempre me recebendo de volta com seu maravilhoso sorriso. O papai lhe ama muito!

“O saber ensoberbece, mas o amor edifica. Se alguém julga saber alguma coisa, com efeito, não aprendeu ainda como convém saber.” **1Coríntios 8. 1b,2**

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sua suficiente e infinita graça;

À minha esposa, Dulceny, que, por tantas vezes e de tantas maneiras, fez tudo ficar magicamente simples;

Ao meu filho, Arthur, por correr para os meus braços e me abraçar a cada chegada;

Ao meu pai, Divino, por me ensinar, com seu exemplo, o que é integridade;

À minha mãe, Hilda, por compartilhar comigo a realização de um sonho que não pode concretizar para si mesma;

Às minhas irmãs, Adriana, Ana Cláudia e Lorena, que contribuíram para minha tranquilidade em tantos momentos;

Aos meus avós e tios, que inculcaram em mim a necessidade de estudar para crescer;

À minha sogra, Dulce, suporte constante;

Ao meu sogro, Joaquim (*in memoriam*), por me ensinar, ainda que sem palavras, o que é arrependimento e regeneração;

Aos meus cunhados Guilherme, Augusto, João Neto e Viviane;

Aos meus sobrinhos João Pedro e Felipe;

Aos meus amigos Marcos, Marcelo e Paulo, por me abrirem as portas da Universidade de Taubaté;

Aos meus colegas do Curso de Especialização em Periodontia da EAP – Goiás, pelo constante incentivo;

Aos meus colegas de Universidade Agnaldo e Thereza, por serem meu suporte em muitos momentos;

À Tessa e demais professores da Universidade Paulista (Goiânia – GO) pelo apoio durante todo o curso;

À Sra. Rose Queiroz e a todos os funcionários da EAP – Goiás, pois tornaram possível a realização deste trabalho;

À Lúcia, minha secretária, por seu grande apoio;

A Fabíola, Ana Maria, Menira e Rodrigo, do IPTESP-UFG: sem vocês, este trabalho não seria realizado;

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Roberto Cortelli, pelo seu constante incentivo para que eu seguisse a carreira acadêmica, pela sinceridade com que conduziu sua orientação e por nunca banalizar o conhecimento, ensinando-me a buscá-lo por mim mesmo. A você, minha gratidão sempre;

À minha co-orientadora, Profa. Dra. Marinella Holzhausen, que, com sabedoria, humildade e profundo respeito, soube me conduzir durante todo o curso e todo o trabalho. A você, meu sincero reconhecimento;

À Profa. Dra. Christina Claro, coordenadora do Programa de Pós-Graduação, pela sua muita compreensão e pelo carinho com que me conduziu durante todo o curso;

À Profa. Dra. Sheila Cortelli, coordenadora da área de Periodontia, por seu auxílio durante o curso;

À Profa. Dra. Sandra Habitante, diretora do Departamento de Odontologia, por seu apoio sempre;

Ao Prof. Dr. Gilson Franco, por ser profundo conhecedor de muitos assuntos, mas ao mesmo tempo ser humilde para se relacionar muito bem com todos que o cercam. A você, minha admiração sempre;

Ao Prof. Dr. Davi Aquino, por seu auxílio durante a análise estatística deste estudo, porque sempre me orientou a fazê-la, permitindo, assim, que eu pudesse aprender;

À Profa. Dra. Lucilene Ricardo, por me ensinar muitas coisas, em especial, o que é lutar contra as adversidades;

À Profa. Dra. Débora Pallos, por me confiar a oportunidade e o privilégio de orientar seus alunos de graduação, ensinando-me, com empenho, a fazê-lo;

A todos os professores que conviveram comigo e me orientaram sempre: Denise Raldi, Laís Concílio, Marcos Rego, Priscila Liporoni, Mariella Leão, Maria Rozeli Quirino, Leonardo Cunha, Silvana Soléo, Vanessa Gobbo, Wilson Saad, Maximiliano Neisser, Edna Chamon e Celso Queiroz

Ao Prof. Dr. Edson Rodrigues, por me orientar em muitos momentos e por conduzir algumas reações presentes neste estudo;

À Profa. Dra. Karina Cogo Miller, por seu grande auxílio na realização das reações de PCR;

Aos meus amigos Manuel e Rodrigo: por causa de vocês, a ausência de minha família e a distância de casa tornou-se suportável; a vocês, minha gratidão eterna!

Aos meus colegas de curso, Caroline, Lilibeth, Patrícia, Adriana, Zilla, Juliana, Mariana, Marina, Altino, Paulo, Esdras e Cláudio; obrigado pela convivência saudável e pela amizade.

À Sra. Regina Cuba, bibliotecária da Universidade de Taubaté, por sua gentileza, competência e imensa alegria em servir;

A todos os funcionários da Universidade de Taubaté, na pessoa de Adriana Pellogia que, com simplicidade e competência, apoiaram-me sempre.

Pereira AL. Terapia periodontal não-cirúrgica: avaliação de eficiência por parâmetros clínicos microbianos e salivares [Dissertação de mestrado]. Taubaté: Universidade de Taubaté, Departamento de Odontologia, 2009. 68p.

RESUMO

Hipótese do estudo: O presente estudo parte do pressuposto de que a terapia periodontal não cirúrgica é eficaz no tratamento da doença periodontal. **Objetivos:** este estudo de intervenção avaliou a eficácia dos procedimentos de raspagem e aplainamento radicular utilizando como ferramenta de validação parâmetros clínicos, microbianos e salivares em indivíduos diagnosticados com gengivite e periodontite comparando-os a controles saudáveis. **Método:** Foram alocados no presente estudo 89 indivíduos assim caracterizados: 31 periodontalmente saudáveis (K), 27 com gengivite (G) e 31 com periodontite crônica (P). Avaliou-se os seguintes parâmetros clínicos: índice de placa, índice de sangramento, profundidade de sondagem e nível de inserção clínica. Avaliou-se ainda a presença dos periodontopatógenos *Campylobacter rectus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tanerella forsythia*, *Treponema denticola* e *Prevotella intermedia* por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR). Finalmente, a presença salivar de arginase e proteína total — por meio de espectrofotometria — foi também considerada. Todos estes parâmetros foram mensurados em pré e pós terapia periodontal. Tratamento estatístico dos dados intragrupo foi realizada pelo teste de Wilcoxon, enquanto os dados intergrupos foram avaliados pelos testes Mann-Witney e Kruskal-Wallis, adotando-se significância estatística quando $p < 0,05$. **Resultados:** Verificou-se melhora dos parâmetros clínicos nos grupos G e P após o tratamento ($p < 0,05$). Houve redução da atividade de arginase e proteína total salivares nos grupos P ($p < 0,05$) e G, equiparando-se ao grupo controle (K). *T. forsythia* reduziu no grupo G ($p < 0,05$), enquanto *P. gingivalis*, *T. denticola*, *P. intermedia* e *T. forsythia* apresentaram redução no grupo P ($p < 0,05$). **Conclusão:** O pressuposto apresentado neste estudo foi confirmado, tendo como validação a utilização dos parâmetros clínicos, microbiológicos e salivares.

Palavras-chave: Periodontite; Gengivite; Bactérias; Arginase.

Pereira AL. Non-surgical periodontal therapy: evaluation of efficacy by clinical, microbiological and salivary parameters. [Dissertação de mestrado]. Taubaté: Universidade de Taubaté, Departamento de Odontologia, 2009. 68p.

ABSTRACT

Hypothesis of the study: the present study assumes that non-surgical periodontal therapy is efficient on the periodontal disease treatment. **Aims:** this interventional study evaluated the efficacy of the scaling and root planing procedures by using as a tool of validation, clinical, microbiological and salivary parameters in subjects diagnosed with gingivitis and periodontitis comparing them with healthy controls. **Methods:** In the present study, 89 subjects were characterized as follows: 31 periodontal healthy (K), 27 with gingivitis (G), and 31 with chronic periodontitis (P). The following parameters were evaluated: plaque index, bleeding index, probing depth, and clinical attachment level. The presence of the periodontal pathogens *Campylobacter rectus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, and *Prevotella intermedia* were also evaluated by polymerase chain reaction (PCR). Finally, the presence of salivary arginase and total protein by spectrophotometry were also considered. All these parameters were measured before and after periodontal treatment. Intra-group statistical analysis were performed by Wilcoxon's test while the inter-group analysis were evaluated by Mann-Witney and Kruskal-Wallis tests, adopting a statistical significance when $p < 0,05$. **Results:** An improvement of the clinical parameters was verified in the G and P groups after treatment ($p < 0,05$). There was a significant reduction of the salivary arginase activity and protein content in the P and G groups compared to the control group (K). *T. forsythia* was diminished in the G group ($p < 0,05$), while *P. gingivalis*, *T. denticola*, *P. intermedia* and *T. forsythia* showed a decrease in the P group ($p < 0,05$). **Conclusion:** the hypothesis of the present study was confirmed being validated by clinical, microbiological and salivary parameters.

Key words: Periodontitis; Gingivitis; Bacteria; Arginase.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 ASPECTOS CLÍNICOS	13
2.2 TRATAMENTO PERIODONTAL NÃO CIRÚRGICO	14
2.2.1 Controle mecânico do biofilme	14
2.2.2 Raspagem e alismento radicular	16
2.3 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS	17
2.4 ASPECTOS SALIVARES	21
3 PROPOSIÇÃO	25
4 MÉTODO	26
4.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	26
4.2 OBTENÇÃO DOS DADOS CLÍNICOS	27
4.2.1 Índice de placa	28
4.2.2 Índice de sangramento à sondagem	28
4.2.3 Profundidade de sondagem e nível de inserção clínica	29
4.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	29
4.3.1 Coleta microbiológica	29
4.3.2 Extração do DNA	30
4.3.3 Amplificação do DNA extraído das amostras por PCR	30
4.3.4 Verificação da PCR através de eletroforese	31
4.4 ANÁLISE SALIVAR	32
4.4.1 Coleta de saliva	32
4.4.2 Análise bioquímica da atividade da Arginase	32
4.4.3 Proteína total	33
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
5 RESULTADOS	35
6 DISCUSSÃO	44
7 CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS	55
ANEXOS	64

1 INTRODUÇÃO

A doença periodontal é uma das enfermidades mais comuns da cavidade bucal. Sua natureza é infecciosa, essencialmente provocada por bactérias específicas que induzem inicialmente a uma inflamação gengival (gengivite), caracterizada clinicamente pela presença de sangramento à sondagem e pela ausência de perda de inserção. A gengivite pode evoluir para uma periodontite em função de alguns fatores microbianos e do hospedeiro. A periodontite, por sua vez, caracteriza-se clinicamente por um aumento da profundidade de sondagem, perda de inserção e destruição do osso alveolar de suporte. Esta progressão pode ocorrer de forma contínua ou por surtos episódicos de atividade destrutiva (Jeffcoat & Reddy, 1991; Løe et al., 1986).

A periodontite pode ser classificada em crônica e agressiva. A crônica é caracterizada por ter uma evolução lenta, pela quantidade de fatores irritativos locais compatíveis com a severidade da destruição periodontal e por acometer mais frequentemente indivíduos adultos. Já a periodontite agressiva é caracterizada por uma rápida progressão da perda dos tecidos de suporte, por uma incompatibilidade entre a presença de fatores irritativos locais e o grau de destruição periodontal que ela provoca, por uma tendência familiar e por acometer predominantemente indivíduos mais jovens (Armitage, 1999).

Um dos grandes enfoques da periodontia moderna é a prevenção que é buscada tanto na perspectiva clínica — tentando estabelecer métodos adequados de controle de biofilme, impedindo, assim, a proliferação do biofilme dentário — quanto na perspectiva diagnóstica, buscando formas apropriadas de se prever não apenas o surgimento, mas também o momento em que esta doença poderá evoluir.

Quanto mais precocemente esta previsão acontece, e a terapêutica adequada é instituída, possivelmente, menor destruição tecidual o paciente apresentará (Kirkwood et al., 2007).

Para isso, alguns investigadores têm buscado métodos laboratoriais e marcadores mais eficientes que permitem avaliar, com maior precisão, se a doença está ou não em atividade destrutiva ou o momento em que esta atividade está prestes a ocorrer (Sanz et al., 2007).

Outra aplicabilidade destes métodos é o monitoramento de indivíduos tratados, em que é feita a quantificação destes marcadores antes e após o tratamento na tentativa de se verificar se o paciente passou de uma condição de doença para uma condição de saúde periodontal. Diversas substâncias podem ser utilizadas para este fim; elas podem ser encontradas no fluido crevicular presente no sulco gengival ou na bolsa periodontal e na saliva de indivíduos afetados pela doença periodontal podendo ser derivadas tanto dos microrganismos quanto do hospedeiro (Armitage, 2004; Gheren et al., 2007).

A identificação de microrganismos em pacientes com doença periodontal também tem sido recomendada, tanto para fins de diagnóstico quanto para fins de monitoramento. O conhecimento das espécies envolvidas na doença periodontal traz luz sobre a patogênese da doença periodontal, e faz com que ela seja adequadamente tratada (Nishihara & Koseki, 2004).

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi verificar a eficácia da terapia periodontal não cirúrgica, por meio de parâmetros clínicos — índice de placa, índice gengival, profundidade de sondagem e nível de inserção clínica — microbiológicos — *Campylobacter rectus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tanarella forsythia* e *Treponema denticola* — e salivares — proteína total e arginase — em indivíduos com gengivite e

periodontite, pré e pós-terapia não cirúrgica, tendo como controle indivíduos periodontalmente saudáveis.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ASPECTOS CLÍNICOS

Há tempos, a doença periodontal vem sendo diagnosticada por meio de observações clínicas. Num passado mais distante, estas observações eram bastante empíricas, o que dificultava uma padronização na obtenção de dados. Da segunda metade do século passado em diante, observou-se uma crescente preocupação com a forma com que os dados eram obtidos e, assim, foram desenvolvidos diversos índices com a finalidade de se medir a extensão e a severidade da doença periodontal (Papapanou & Lindhe, 2005).

O estudo clássico de Løe et al. (1965) — Gengivite Experimental em Humanos — avaliou 11 indivíduos que se abstiveram de sua higiene bucal até que, após um período de dez a 21 dias, todos desenvolveram gengivite. Eles utilizaram índices de placa e de sangramento para verificar a presença de depósitos sobre os dentes e a presença de inflamação gengival.

Ainamo & Bay (1975) idealizaram um índice dicotômico para avaliar as presenças de biofilme e de inflamação em determinados sítios dos dentes. Assim, podemos utilizá-lo para verificar qual o percentual de sítios afetados por estes parâmetros tanto antes quanto após alguma modalidade de tratamento, avaliando, desta forma, a sua eficácia. Muitos estudos, tanto observacionais quanto de intervenção, têm utilizado este índice para esta avaliação (Toassi & Petry, 2002; Deery et al., 2004; Gheren et al., 2007; Mariath et al., 2008).

Quando há a necessidade de se avaliar a periodontite, os critérios clínicos mais utilizados têm sido a profundidade de sondagem e o nível de inserção clínica. A

profundidade de sondagem é a medida da distância entre a margem e o fundo do sulco gengivais, enquanto que o nível de inserção clínica é a medida da distância entre a junção cimento-esmalte e o fundo do sulco gengival (Papapanou & Lindhe, 2005). Eles avaliam não apenas o estado atual da doença periodontal, mas também seus efeitos acumulativos sobre os tecidos de suporte dos dentes. Estes critérios têm sido aplicados em vários estudos clínicos, não apenas de observação, mas também de intervenção, como forma de validar resultados de terapias periodontais não cirúrgicas (Van der Weijden & Timmerman, 2002; Cobb, 2002; Colombo et al., 2005; Ioannou et al., 2009).

2.2 TRATAMENTO PERIODONTAL NÃO CIRÚRGICO

2.2.1 Controle mecânico do biofilme

Desde que Løe et al. (1965) comprovaram a natureza infecciosa da doença periodontal, mudou-se o seu paradigma. Eles demonstraram que a gengivite surge pela ausência de higiene bucal correta; e que um retorno a esse hábito é capaz de devolver ao indivíduo a sua saúde gengival em poucos dias. Fica evidente, portanto, que o controle mecânico de biofilme não é apenas um método preventivo para a doença, mas também uma forma adequada de tratá-la.

Pacientes que higienizam mais frequentemente seus dentes exibem mais saúde periodontal (Vysniauskaite & Vehkalahti, 2009). Até mesmo mudanças no desenho das escovas têm sido sugeridas para se conseguir uma maior efetividade na remoção do biofilme (Battaglia, 2008).

A Academia Americana de Periodontia (The American Academy of Periodontology, 2001) endossou esta modalidade de tratamento para pacientes com gengivite, destacando que o controle de biofilme feito adequadamente pelo paciente é, na maioria das vezes, suficiente para uma correta abordagem terapêutica da gengivite.

Um estudo recente (Versteeg et al., 2008) comparou o efeito do afilamento das cerdas da escova dental nos controles de biofilme e de gengivite. Foi confirmado que escovas com cerdas afiladas e com cerdas convencionais foram efetivas na redução dos índices gengival e de placa e que a gengivite foi adequadamente tratada por meio de ambos os dispositivos.

Os mesmos resultados foram conseguidos por Terézhalmy et al. (2008a). Em seu estudo, compararam, entre duas escovas dentais, a sua eficácia de remoção de biofilme. Concluíram que ambas as escovas foram efetivas para o controle de biofilme nos quarenta indivíduos arrolados para a pesquisa.

Terézhalmy et al. (2008b) avaliaram a efetividade de remoção de biofilme por meio da escovação, associada ou não a quatro tipos de fio dental (elétrico, sem cera, trançado e não desfiante) em 25 indivíduos. Todos os quatro tipos de fio associados com a escovação manual foram mais eficazes na remoção do biofilme do que a escovação isoladamente. Houve evidência de superioridade para o fio dental elétrico, mas não entre os fios dentais convencionais.

De igual modo, outros autores comprovaram a eficiência do fio dental na remoção de biofilme interproximal (Yost et al., 2006; Ishak & Watts, 2007).

Vários outros métodos mecânicos têm sido sugeridos para o controle do biofilme, como escovas elétricas (Deery et al., 2004; Rosema et al., 2008), palitos de madeira (Zanata et al., 2008) e escovas interdentais (Wolff et al., 2006; Ishak & Watts, 2007).

2.2.2 Raspagem e alisamento radicular

Nos casos em que existe bolsa periodontal ou presença de cálculo, apenas o controle de biofilme feito pelo paciente pode não ser efetivo para eliminar os sinais e sintomas da doença periodontal. Desta forma, os procedimentos de raspagem e alisamento radicular são benéficos para se conseguir reduções da inflamação gengival e da profundidade de sondagem, melhora do nível de inserção clínica e uma diminuição da flora microbiana subgengival patogênica (The American Academy of Periodontology, 2001).

Numa revisão sistemática, Van der Wijden & Timmerman (2002) concluíram que, em pacientes com periodontite crônica, a raspagem subgengival acompanhada do controle de biofilme supra gengival é um tratamento efetivo para a redução da profundidade de sondagem e o ganho de inserção clínica. Observações semelhantes foram feitas por Cobb (2002) que afirmou que a raspagem e alisamento radicular é um método tradicional para o controle da microflora subgengival por meio da remoção de microrganismos aderidos e não aderidos à superfície radicular, bem como de depósitos de cálculo e de cimento contaminado.

Num outro estudo, Colombo et al. (2005), avaliando pacientes brasileiros com periodontite crônica nunca tratada, concluíram que a raspagem e o alisamento radicular foi um método efetivo para o tratamento da doença, melhorando os parâmetros clínicos, diminuindo algumas espécies de patógenos periodontais e aumentando as espécies benéficas.

Tamaki et al. (2009) avaliaram os efeitos da terapia periodontal não cirúrgica sobre os metabólitos de oxigênio reativos em pacientes com periodontite crônica. Eles foram submetidos a raspagem e alisamento radicular e a orientação de

higiene bucal. Após dois meses da terapia, observou-se uma melhora estatisticamente significativa ($p < 0,05$) para profundidade de sondagem, nível de inserção clínica, sangramento à sondagem e índice de placa, além de uma redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) dos níveis sanguíneos de metabólitos de oxigênio reativos.

Gheren et al. (2007) avaliaram os efeitos do tratamento periodontal não cirúrgico sobre a redução dos níveis de arginase salivar em pacientes com periodontite. Concluíram que esta modalidade de tratamento reduziu significativamente os níveis de arginase salivar, além de melhorar os parâmetros clínicos da doença periodontal, isto é, redução da profundidade de sondagem, ganho de inserção clínica e redução dos índices gengival e de placa.

Além disso, o tratamento periodontal não cirúrgico pode ser efetivo no tratamento de crescimento gengival induzido por medicações (Aimetti et al., 2008); pode reduzir a progressão da doença periodontal em dentes com prognóstico pouco favorável, reduzindo a necessidade de extrações (Ekuni et al., 2009); pode reduzir a severidade de doenças como artrite reumatóide (Ortiz et al., 2009); reduzir o risco de nascimento de bebês prematuros em mães portadoras de periodontite (Tarannum & Faizuddin, 2007); melhorar o controle glicêmico em pacientes com diabetes (Kiran et al., 2005); minimizar o risco de doenças cardiovasculares (Offenbacher et al., 2009); e reduzir inflamação sistêmica (D'Aiuto et al., 2004).

2.3 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS

A relação entre a doença periodontal e as bactérias presentes na cavidade bucal foi demonstrada de maneira clara por Løe et al. (1965). Assim,

identificar e conhecer esses microrganismos torna-se importante para compreendermos, de forma mais abrangente, como a gengivite e a periodontite se desenvolvem. Detectar a presença de bactérias específicas mais fortemente relacionadas à doença periodontal pode ser extremamente útil, principalmente para se identificar indivíduos com risco para o desenvolvimento de atividade periodontal destrutiva.

Um dos meios utilizados tem sido a Reação da Polimerase em Cadeia (PCR). Esta é uma técnica que promove a amplificação do DNA bacteriano presente na amostra, permitindo assim sua detecção, bem como sua identificação.

P. intermedia é um bastonete anaeróbio Gram-negativo associado à doença periodontal. Estudos recentes têm demonstrado que ela é bastante prevalente em pacientes com atividade periodontal destrutiva (Brennan et al., 2007). Além disso, Guan et al. (2008) demonstraram que ela pode contribuir para a destruição dos tecidos periodontais durante a periodontite crônica por meio da indução da produção de metaloproteinase da matriz-9 por fibroblastos humanos.

C. rectus é um vibrião móvel, anaeróbio, Gram-negativo que tem se mostrado mais prevalente em indivíduos com doença periodontal do que em indivíduos saudáveis (Socransky & Haffajee, 2005; Ebersole et al., 2008; Surna et al., 2009). Brennan et al. (2007) demonstraram que ela é altamente prevalente em mulheres na pós-menopausa e que aquelas que a possuíam apresentaram maior probabilidade de terem perdas ósseas periodontais. Além disso, Miyamoto et al. (2009) demonstraram que este microrganismo, provavelmente, é um precursor para outras bactérias periodontopatogênicas em pacientes com maior susceptibilidade à doença.

A. actinomycetemcomitans é um bastonete imóvel, Gram-negativo, microaerofílico que tem sido encontrado principalmente em sítios de pacientes com

periodontite agressiva, mas pode ser detectado em outras formas de periodontite e em indivíduos saudáveis também. Isto sugere que essa bactéria pode apresentar diferenças no que diz respeito ao seu potencial patogênico (Guthmiller et al., 2001). Ele é capaz de produzir vários fatores de virulência, sendo o mais conhecido deles a leucotoxina, uma proteína citotóxica que apresenta algumas propriedades patogênicas bastante peculiares, dentre elas a capacidade de produzir a lise seletiva de monócitos e leucócitos polimorfonucleares humanos (Taichman et al., 1980). Além disso, tem sido demonstrado que os lipopolissacarídeos de *A. actinomycetemcomitans* promovem um desequilíbrio da homeostase do metabolismo de colágeno gengival, facilitando a fagocitose destas fibras pelos fibroblastos gengivais (Takahashi et al., 2008).

T. forsythia é um bastonete, anaeróbio, Gram-negativo, fortemente associado à DP, tanto em periodontite crônica quanto em periodontite agressiva generalizada (Imbronito et al., 2008). Sua presença em altos níveis no sulco gengival de pacientes doentes tem sido associada significativamente com uma maior perda de inserção (Hamlet et al., 2008), enquanto que uma redução dos seus níveis foi associada a uma redução dos sinais e sintomas da periodontite (Tanner & Izard, 2006; Tanner et al., 2007).

P. gingivalis é um bastonete imóvel, anaeróbio, Gram-negativo, que tem sido fortemente relacionado à DP (Tanner et al., 2007). Ele é capaz de invadir células do organismo humano (Lamont et al., 1995; Jandik et al., 2008) e tem a propriedade de induzir agregação de plaquetas humanas (Xiangfeng et al., 2008). Isto poderia elevar as chances de um paciente apresentar infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral (Castro et al., 2000).

T. denticola é uma espiroqueta anaeróbia, Gram-negativa, associada à DP que é capaz de invadir tecidos bucais e estimular a produção de vários

mediadores inflamatórios como interleucina-6, interleucina-8, óxido nítrico e prostaglandina E₂, contribuindo significativamente para a progressão da doença (Tanabe et al., 2008). Em estados de saúde periodontal, estas bactérias estão presentes em níveis muito baixos ou, às vezes, indetectáveis. No entanto, durante a gengivite e na progressão para a periodontite, ocorre um aumento substancial da proporção destas bactérias no biofilme (Holt & Ebersole, 2005). Estes mesmos autores afirmaram que ela também tem a propriedade de anular algumas moléculas protetoras e alterar funções celulares do hospedeiro.

Em um estudo de observação conduzido no Brasil, nos estados de Goiás e do Tocantins, incluindo a cidade de Goiânia, Tavares et al. (2007) observaram que *C. rectus*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *T. forsythia* também têm sido encontrados em níveis aumentados em indivíduos com gengivite e periodontite.

P. gingivalis, *T. forsythia* e *T. denticola* têm sido correlacionados ao aumento da profundidade de sondagem e à presença de sangramento gengival por meio de uma interação simbiótica entre elas, havendo um sinergismo entre os seus fatores de virulência. (Mineoka et al., 2008).

Num estudo recente, Haffajee et al. (2009) fizeram uma comparação entre reação em cadeia da polimerase e *checkerboard DNA hybridization* para detecção de bactérias em amostras de biofilme subgengival. Constataram que ambas as técnicas apresentaram resultados semelhantes e detectaram diferenças bacterianas estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre indivíduos saudáveis e com periodontite para as seguintes espécies: *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. denticola*, *A. actinomycetemcomitans*, *C. rectus*, *T. forsythia*, *F. nucleatum*, *E. corrodens* e *E. nodatum*.

Outro estudo também recente, conduzido por Ramseier et al. (2009), verificou a prevalência de microrganismos em diferentes severidades da doença

periodontal. Foi observado que pacientes com periodontite moderada e severa tinham significativamente mais bactérias *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. denticola*, *C. rectus* e *T. forsythia* em relação aos pacientes saudáveis e com gengivite. A conclusão dos autores é que a detecção desses microrganismos torna o diagnóstico de periodontite mais preciso.

2.4 ASPECTOS SALIVARES

A saliva apresenta muitos componentes que podem ser úteis como marcadores bioquímicos que poderiam fornecer uma abordagem não invasiva e de boa relação custo/benefício para o monitoramento de doenças da cavidade bucal (Cortelli et al., 2009).

Glândulas salivares podem secretar muitas glicoproteínas, que podem ligar-se à hidroxiapatita, participando da formação da película adquirida, sendo, assim, constituintes do biofilme dentário (Vitorino et al., 2004).

Zambon et al. (1985) conduziu um estudo em que avaliou os níveis de proteína total salivar em pacientes com periodontite. Após raspagem e alisamento radicular, além de administração de tetraciclina por 14 dias, os autores verificaram uma redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) dos níveis salivares de proteína total que foi acompanhada por uma melhora também significativa dos parâmetros clínicos.

A arginase é uma enzima chave no ciclo da uréia que tem como função essencial eliminar a amônia, que é tóxica ao organismo. Ela atua sobre a arginina produzindo uréia e ornitina. Outra enzima — a óxido nítrico sintetase — compete pelo mesmo substrato, a arginina, para produzir óxido nítrico.

Existe em duas isoformas: arginase tipo I e arginase tipo II. A do tipo I é sintetizada exclusivamente no citosol de células hepáticas ou da glândula salivar submandibular sob condições normais e catalisa a última etapa da síntese da uréia. A do tipo II é expressa na matriz mitocondrial de tecidos do intestino delgado e rim (Mori, 2007).

Essa enzima desempenha um importante papel na resposta imune do organismo, bem como na cicatrização de tecidos. Jacobsen et al. (2007) demonstraram que ela é liberada a partir dos grânulos de neutrófilos ativados em áreas com infecção com o propósito de modular a resposta imune e de promover regeneração tecidual. King et al. (2004) relataram o papel da arginase como marcador da resposta alérgica respiratória, estando ela igualmente envolvida em múltiplos aspectos de várias doenças.

É interessante ressaltar também que um aumento da arginase — com consequente diminuição da biodisponibilidade de óxido nítrico — está envolvido na hiperagregabilidade plaquetária e contribui para complicações cardiovasculares em pacientes hipertensos (Moss et al., 2009). Ela também promove disfunção nas células endoteliais e células musculares lisas vasculares, por meio da formação de poliaminas e L-prolina, que estimulam a proliferação da camada de células musculares lisas e a deposição de colágeno. Somado a isso, o óxido nítrico media a expansão destas células por meio do bloqueio do crescimento celular e estímulo da apoptose (Durante et al., 2007).

Observa-se também que o aumento da atividade da arginase parece estar associado a um aumento do estresse oxidativo em pacientes diabéticos, complicando suas alterações vasculares (Romero et al., 2008). Wu et al. (2009) afirmaram que uma suplementação alimentar com arginina diminuiu os níveis

plasmáticos de glicose, ácidos graxos e triglicérides, melhorando a sensibilidade do indivíduo à insulina.

Esse mesmo autor afirmou que a suplementação de arginina em grávidas com pré-eclâmpsia reduziu a pressão sangüínea, prolongou a gravidez, melhorou o crescimento fetal e diminuiu a frequência de nascimento de bebês de baixo peso. Hirata et al. (2006), num estudo em ratas grávidas, afirmou ainda que um aumento da atividade da arginase no final da gestação poderia estar implicado no aumento da contração miometrial.

Nos tecidos periodontais, a arginase é produzida por macrófagos ativados (Salimuddin et al., 1999), podendo essa produção ser estimulada pela presença de bactérias periodontopatogênicas (Uematsu et al., 2006; Sosroseno et al., 2006). Pode ser parte de um mecanismo natural de defesa não-específico contra bactérias patogênicas ou, alternativamente, pode contribuir para a destruição tecidual na periodontite — em quantidade excessiva — (Ugar-Çankal & Özmeriç, 2006). Desta forma, a arginase tem um importante papel na doença periodontal, pois o aumento de sua atividade causa uma diminuição na síntese de óxido nítrico (NO), o que diminui as propriedades antibacterianas da saliva e torna os tecidos periodontais mais susceptíveis aos periodontopatógenos (Özmeriç et al., 2000).

Gheren et al. (2007) realizaram um estudo prospectivo em que avaliaram os níveis de arginase salivar em 18 pacientes-teste com periodontite (antes do tratamento e trinta dias depois) comparando-os a um grupo de 18 pacientes-controle saudáveis. Os pacientes-teste foram examinados periodontalmente (índices gengival e de placa, nível de inserção clínica e profundidade de sondagem) e tratados por meio de raspagem e alisamento radicular e de orientação de higiene bucal. O estudo concluiu que a arginase encontra-se em níveis mais elevados na saliva de indivíduos com periodontite em relação aos indivíduos saudáveis, e que o tratamento

periodontal básico reduz significativamente os seus níveis salivares, assim como os níveis clínicos da doença.

A hipótese de utilização da arginase salivar como marcador de atividade de doença periodontal ainda merece ser estudada em detalhes, principalmente quanto à avaliação de possíveis diferenças de níveis dessa enzima em diferentes graus de severidade da doença.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do tratamento periodontal não cirúrgico em indivíduos diagnosticados com gengivite e periodontite utilizando como ferramenta de avaliação parâmetros clínicos, salivares e microbianos.

4 MÉTODO

Neste estudo prospectivo de intervenção, foram avaliados indivíduos com gengivite e com periodontite crônica (pré e pós-tratamento), bem como indivíduos saudáveis (grupo controle).

Para o estabelecimento do número de indivíduos que foram incluídos no presente estudo, realizou-se um cálculo amostral. Baseado em dados previamente levantados da literatura, foi calculado o número mínimo de indivíduos que deveriam ser incluídos em cada grupo experimental para contemplar todos os parâmetros que foram utilizados no presente estudo. Em todas as situações foi adotado nível de significância estatística de 95% e *power* de 90%. Para o estabelecimento do número mínimo de indivíduos foi aplicado o teste estatístico *t* de Student para amostras independentes com o auxílio do *Software* Bio Estat 5.0.

De todas as situações de cálculo amostral, a avaliação de *P. gingivalis* em indivíduos saudáveis (grupo controle) foi a que solicitou o maior número de indivíduos. Em função dessa necessidade, e adotando 10% de margem de segurança, foram incluídos no presente estudo 89 indivíduos.

4.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Os critérios de inclusão para gengivite foram os seguintes: o paciente deveria apresentar todos os sítios com profundidade de sondagem menor do que 4mm, ausência de perda de inserção clínica e presença de vermelhidão gengival e sangramento à sondagem em mais de 25% dos sítios (López et al., 2002).

Os critérios de inclusão para periodontite foram os seguintes: os indivíduos deveriam ter a presença de quatro ou mais dentes evidenciando um ou mais sítios com profundidade de sondagem maior ou igual a 4mm e com perda de inserção clínica maior ou igual a 3mm no mesmo sítio em dentes não contíguos (López et al., 2002).

Foram considerados saudáveis aqueles indivíduos que não apresentaram profundidade de sondagem maior ou igual a 4mm, que não apresentaram perda de inserção clínica ou inflamação gengival.

Foram excluídos do estudo indivíduos que: usaram antibióticos ou antiinflamatórios (esteróides ou não) nos seis meses antecedentes ao início do estudo (Miranda et al., 2007; Gomi et al., 2007); bem como os que apresentavam doenças sistêmicas que poderiam influenciar o comportamento da doença periodontal (The American Academy of Periodontology, 2000; Elter et al., 2002; Skamagas et al., 2008); fumantes ou ex-fumantes (Bergeron et al., 2007); e os que tivessem sido submetidos a tratamento periodontal nos últimos seis meses (Man-Ying et al., 1999).

Os indivíduos foram alocados na cidade de Goiânia entre agosto de 2008 e abril de 2009, e posteriormente tratados em consultório particular.

Este estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté (Protocolo CEP/UNITAU nº 386/08) (Anexo A).

4.2 OBTENÇÃO DOS DADOS CLÍNICOS

Os dados abaixo foram obtidos, no início do estudo em todos os grupos, trinta dias após a coleta inicial no grupo gengivite (G) e cinquenta dias após o

tratamento do grupo periodontite (P). As informações foram devidamente anotadas em ficha clínica (Anexo B) especificamente elaborada para este projeto, que continha também o termo de esclarecimento livre e consentido:

4.2.1 Índice de placa

Após a realização de anamnese, os indivíduos incluídos foram examinados para a obtenção do índice de placa. Assim, foi feito um isolamento relativo com gaze esterilizada e biofilme bacteriano foi removido do terço cervical das faces mesio-vestibular, médio-vestibular, disto-vestibular e médio-lingual/palatina de cada dente com o auxílio de uma sonda periodontal milimetrada do tipo Williams (Hu-Friedy), sendo o resultado codificado em presente ou ausente (Ainamo & Bay, 1975).

4.2.2 Índice de sangramento à sondagem

Em seguida, uma sonda periodontal milimetrada de Williams foi introduzida no interior do sulco gengival em quatro sítios por dente (mesio-vestibular, médio-vestibular, disto-vestibular e médio-lingual/palatina) a fim de se fazer a avaliação da inflamação gengival pela presença ou ausência de sangramento no sulco gengival até trinta segundos após a introdução da sonda (Ainamo & Bay, 1975).

4.2.3 Profundidade de sondagem e nível de inserção clínica

Estes parâmetros foram avaliados utilizando-se uma sonda periodontal milimetrada do tipo Williams (Hu-Friedy) em seis sítios por dente: méso-vestibular, vestibular, disto-vestibular, méso-lingual, lingual e disto-lingual.

A profundidade de sondagem foi avaliada por meio da distância encontrada entre a margem gengival e o fundo do sulco gengival ou bolsa periodontal.

O nível de inserção clínica foi avaliado por meio da medida da junção cimento-esmalte ao fundo do sulco gengival ou bolsa periodontal.

Todos os exames clínicos do presente estudo foram realizados por um único examinador devidamente treinado e posteriormente calibrado.

4.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

4.3.1 Coleta microbiológica

As amostras microbianas foram coletadas por meio de cones de papel previamente esterilizados inseridos no sulco gengival. Nos pacientes saudáveis, a coleta foi feita na face mesial dos primeiros molares superiores, na face mesial de um incisivo central superior e na de um inferior; na ausência destes, ela foi feita nos dentes imediatamente adjacentes. Nos pacientes com gengivite, a coleta foi feita na face mesial dos primeiros molares superiores, na face mesial de um incisivo central superior e na de um inferior; na ausência destes, ela foi feita nos dentes imediatamente adjacentes. Nos pacientes com periodontite, foram coletadas amostras dos sítios com maior profundidade de sondagem — um de cada hemi-arco. Após a remoção do biofilme supragengival com uma gaze, os sítios foram isolados

com rolos de algodão estéreis e um sugador de saliva foi utilizado para diminuir o risco de contaminação salivar. Os dentes foram então delicadamente secos com jato de ar por dez segundos. Os cones foram introduzidos no sulco gengival / bolsa periodontal onde permaneceram durante trinta segundos sendo, em seguida, colocados em microtubos do tipo *ependorf*. Estes microtubos ficaram armazenados em freezer a -80°C até o processamento das amostras.

4.3.2 Extração do DNA

Os microtubos foram homogeneizados em agitador mecânico (Vortex[®], Phoenix, AP56) e então 300 μL foram centrifugados por dez minutos (4690 X *g*). Após remoção do sobrenadante, 200 μL de matriz comercial de extração e purificação de DNA (Instagene, Bio-Rad[®]) foram adicionados ao *pellet* formado. Após homogeneização por dez segundos, o material foi mantido em banho-maria por trinta minutos a 56°C . O material foi então novamente homogeneizado por trinta segundos e mantido por mais oito minutos em banho-maria a 100°C . A conclusão do processo de extração e purificação deu-se pela homogeneização por trinta segundos e centrifugação por quatro minutos.

4.3.3 Amplificação do DNA extraído das amostras por PCR

A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada em termociclador tipo Mastercycler Gradient (Eppendorf[®]) na seguinte condição: um ciclo inicial a $95^{\circ}\text{C}/5$ min., 35 ciclos $95^{\circ}\text{C}/30\text{seg.}$, $55^{\circ}\text{C}/30\text{seg.}$, $72^{\circ}\text{C}/1\text{min.}$, e um ciclo final de $72^{\circ}\text{C}/5\text{min.}$

Com a finalidade de verificar o sucesso do processo de extração de DNA, todas as amostras envolvidas no presente estudo foram processadas inicialmente utilizando *primer* específico para o gene da actina humana. As amostras negativas para o gene da actina humana foram novamente submetidas ao processo de extração e, posteriormente, amplificação. A partir de DNA extraído de todas as amostras, a presença de *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *C. rectus* foi avaliada empregando primers específicos.

4.3.4 Verificação da PCR através de eletroforese

Para a análise dos produtos amplificados pela PCR, foi empregada eletroforese conduzida a 10V/cm² em solução tamponada (TBE) por uma hora empregando-se gel de agarose a 1% corados com Brometo de Etídio. A visualização foi realizada em câmara de irradiação ultravioleta (UV). Marcador de peso molecular (Ladder 100 – Invitrogen®), bem como, controles positivos e negativos foram empregados em todos os géis, que foram fotografados e comparados com os produtos amplificados a partir de cepas padrão, cedidas pelo Instituto Fio Cruz, RJ.

Tabela 1 – Descrição dos *primers* para as bactérias examinadas no estudo

Bactéria	Sequência de nucleotídeos 5' - 3'
<i>C. rectus</i>	TTTCGGAGCGTAAACTCCTTTTC TTTCTGCAAGCAGACTCTT
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	AAACCCATCTCTGAGTTCTTCTTC ATGCCAACTTGACGTTAAAT
<i>P. gingivalis</i>	AGGCAGCTTGCCATACTGCG ACTGTTAGCAACTACCGATGT
<i>P. intermedia</i>	TTTGTTGGGGAGTAAAGCGGG TCAACATCTCTGTATCCTGCGT
<i>T. forsythia</i>	GCGTATGTAACCTGCCCGCA TGCTTCAGTGTGAGTTATACCT
<i>T. denticola</i>	TAATACCGAATGTGCTCATTACAT TCAAAGAAGCATTCCCTCTTCTTCTTA
Controle - β -actina	CGTGACATAAAGAGAAGCTGTGC ATCAAGATCATTGCTCCTCCTGAG

4.4 ANÁLISE SALIVAR

4.4.1 Coleta de saliva

A coleta de saliva foi feita de forma estimulada — sempre entre oito e 11h da manhã, por causa do ciclo circadiano — solicitando-se ao paciente que mastigasse um pequeno pedaço de garrote estéril, sendo coletado 1mL de saliva. O paciente não deveria ter ingerido nenhum líquido ou alimento sólido 1h antes da coleta. A primeira coleta foi realizada assim que o diagnóstico clínico foi estabelecido. No grupo gengivite, uma nova coleta foi feita trinta dias após a primeira e no grupo periodontite, cinquenta dias após o tratamento periodontal básico. Após a coleta, as amostras foram centrifugadas a 4°C em 10.000rpm por dez minutos. Em seguida, foram armazenadas em freezer a -80°C e, posteriormente, processadas para análise bioquímica.

4.4.2 Análise bioquímica da atividade da Arginase

O teste de atividade da arginase foi realizado por meio de um teste colorimétrico que mediu a L-ornitina formada pela hidrólise da L-arginina, de acordo com o protocolo estabelecido por Chinard (1952). Cinco microlitros de cada amostra foram incubados a 37°C por trinta minutos com 500µl de solução tampão de carbonato a 60mM (pH9,8) contendo 20mM de L-arginina e 1mM de MnCl₂. A reação foi então interrompida com a adição de 1,5mL de ácido acético glacial. Em seguida, 0,5mL de solução de ninidrina (0,2mL H₃PO₄ a 6M; 0,3mL de ácido acético glacial; 12,5mg de ninidrina) foi adicionada a cada amostra, misturada em *vortex*, selada e

aquecida a 100°C por sessenta minutos, quando foi então resfriada em banho-maria à temperatura ambiente e sua capacidade de absorção medida a 595nm. Cada amostra foi analisada em duplicata. Soluções preparadas contendo 10 a 200nmol de ornitina foram usadas para construir uma curva padrão. A atividade final de arginase foi expressa em nanomoles de ornitina formada por minuto por miligrama de proteína (nmol/mg de proteína).

4.4.3 Proteína Total

A concentração de proteína salivar foi determinada por um teste de proteína colorimétrico (Bio-Rad Laboratories Inc., CA, USA) baseado no método de Bradford (1976). Dessa forma, a concentração de proteína solubilizada foi medida a 595nm com o auxílio de um aparelho espectrofotômetro (Beckman DU-640 — International MI-SS Inc., CA, USA). Calculou-se uma curva padrão, usando-se albumina sérica bovina e os valores finais foram expressos em mg/ml.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Após completa tabulação dos dados clínicos, microbiológicos e salivares do presente estudo, os mesmos foram submetidos a tratamento estatístico específico.

Para tanto, foram utilizados os softwares Bio Estat 5.0 e SPSS 13.0, sempre adotando significância estatística de 95% ($p < 0,05$) e power de 80%, o que determinou a inclusão de pelo menos vinte e seis pacientes por grupo.

Em todas as situações de análise de interesse, os agrupamentos foram montados e a característica de distribuição amostral foi testada.

Para as diferentes situações de análise e em função da característica de distribuição dos dados, foram aplicados testes estatísticos. As amostras eram de variável quantitativa e distribuição não normal. Assim, para a análise das amostras dependentes (intra-grupo) foi utilizado o teste de Wilcoxon. Para a análise das amostras independentes (inter-grupo) foi utilizado o teste de Mann Whitney para dois grupos e Kruskal-Wallis para três ou mais grupos.

5 RESULTADOS

No presente estudo, foram incluídos 89 indivíduos, separados em três grupos, a saber: 31 no grupo saudável (K); 27 no grupo gengivite (G) e finalmente 31 no grupo periodontite crônica (P). A tabela 2 ilustra a população examinada.

Tabela 2 – Distribuição da população estudada dividida por gênero e diagnóstico periodontal

	Condição periodontal			Total
	K	G	P	
Masculino	12	9	9	30
Feminino	19	18	22	59
Total	31	27	31	89
(MI±DP)	(25,06±5,97)	(33,22±12,09)	(52,16±11,54)	(36,98±15,37)

MI – Média de Idade em anos; DP – Desvio Padrão; K – Controle; G – Gengivite; P – Periodontite

Em relação aos parâmetros clínicos avaliados, observou-se uma redução do índice de placa e do índice gengival nos indivíduos do grupo G1 e P1. Diminuição na profundidade de sondagem e melhora do nível de inserção clínica foram observadas nos indivíduos com periodontite após o tratamento periodontal básico (Tabela 3). Os dados clínicos de toda a população estudada, bem como a significância estatística quando das diferenças entre os tempos pré (0) e pós-terapia periodontal (1) estão expressos na tabela 3

Tabela 3 – Distribuição dos parâmetros clínicos avaliados longitudinalmente de acordo com o diagnóstico periodontal

Grupo	Idade (anos)	N por grupo	IP (%)	IG (%)	PS (%)	NIC (%)
	Média±DP		Média±DP	Média±DP	Média±DP	Média±DP
K	25,06±5,97	31	N/A	N/A	N/A	N/A
G0	33,22±12,09	27	70,48± 19,73	71,78± 22,59	N/A	N/A
G1	33,22±12,09	27	25,33± 17,10	23,44± 12,28	N/A	N/A
Valor de p	N/A	N/A	<0,05	<0,05	N/A	N/A
P0	52,16±11,54	31	79,00± 17,90	75,03± 18,27	3,00± 0,45	2,25± 0,98
P1	52,16±11,54	31	33,77± 15,53	30,23± 14,20	2,44± 0,29	1,84± 1,09
Valor de p	N/A	N/A	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

K – Controle; G0 – Gengivite pré-tratamento; G1- Gengivite pós-tratamento; P0 – Periodontite pré-tratamento; P1 – Periodontite pós-tratamento; IP – Índice de Placa; IG – Índice Gingival; PS – Profundidade de sondagem; NIC – Nível de inserção clínica; NA – não aplicável

Tabela 4 – Distribuição dos parâmetros microbianos avaliados longitudinalmente de acordo com o diagnóstico periodontal

Grupo	Idade Média±DP	N por grupo	Bactérias (%)					
			Cr	Aa	Pg	Pi	Tf	Td
K	25,06±5,97	31	96,7	6,7	7,0	13,3	33,3	13,3
G0	33,22±12,09	27	100,0	11,1	22,2	25,9	66,7	29,6
G1	33,22±12,09	27	100,0	11,1	7,4	7,4	63,0	18,5
Valor de p	N/A	N/A	NS	NS	NS	NS	NS	NS
P0	52,16±11,54	31	100,0	32,2	74,2	61,3	100,0	77,4
P1	52,16±11,54	31	100,0	29,0	19,4	19,4	58,1	29,0
Valor de p	N/A	N/A	NS	NS	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

K – Controle; G0 – Gengivite pré-tratamento; G1- Gengivite pós-tratamento; P0 – Periodontite pré-tratamento; P1 – Periodontite pós-tratamento; Cr – *C. rectus*; Aa – *A. actinomycetemcomitans*; Pg – *P. gingivalis*; Pi – *P. intermedia*; Tf – *T. forsythia*; Td – *T. denticola*; NA – não aplicável; NS – não significante

Tabela 5 – Atividade dos parâmetros salivares avaliados longitudinalmente de acordo com o diagnóstico periodontal

Grupo	Idade	N por grupo	Arginase Ativ. Espec.	Proteína Total (mg/mL)
	Média±DP		(mIU/mL) (Média±DP)	(Média±DP)
K	25,06±5,97	31	48,66 ± 46,35	0,91±0,25
G0	33,22±12,09	27	88,56 ± 69,05	1,03±0,41
G1	33,22±12,09	27	60,36 ± 71,18	0,97±0,44
Valor de p	N/A	N/A	NS	NS
P0	52,16±11,54	31	185,63 ± 115,24	1,24±0,59
P1	52,16±11,54	31	87,14 ± 95,20	0,97±0,43
Valor de p	N/A	N/A	<0,05	<0,05

K – Controle; G0 – Gengivite pré-tratamento; G1- Gengivite pós-tratamento; P0 – Periodontite pré-tratamento; P1 – Periodontite pós-tratamento; NA – não aplicável; NS – não significante

Quanto à frequência bacteriana, observou-se que o grupo K apresentou maior prevalência de *C. rectus* ($p < 0,05$) em relação a *T. forsythia*, *T. denticola*, *P. intermedia* e *P. gingivalis*. *T. forsythia* foi mais prevalente que *A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis* ($p < 0,05$) (Figura 1). Já o grupo G, apresentou uma maior frequência de *C. rectus* ($p < 0,05$) em relação a *T. forsythia*. Esta, por sua vez, foi mais frequente ($p < 0,05$) que *T. denticola*, *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis* (Figura 2). No grupo P, *C. rectus* e *T. forsythia* foram mais prevalentes ($p < 0,05$) do que *T. denticola*, *P. gingivalis* e *P. intermedia* e estas mais prevalentes ($p < 0,05$) do que *A. actinomycetemcomitans* (Figura 3).

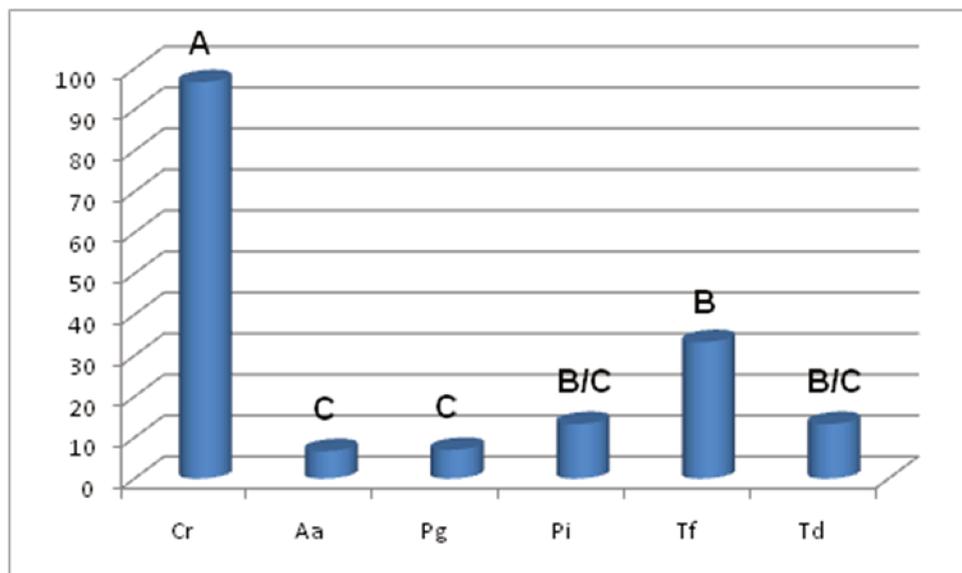


Figura 1 – Prevalência(%) de bactérias no grupo K
Cr – *C. rectus*; Aa – *A. actinomycetemcomitans*; Pg – *P. gingivalis*; Pi – *P. intermedia*; Tf – *T. forsythia*; Td – *T. denticola*; teste estatístico: Wilcoxon

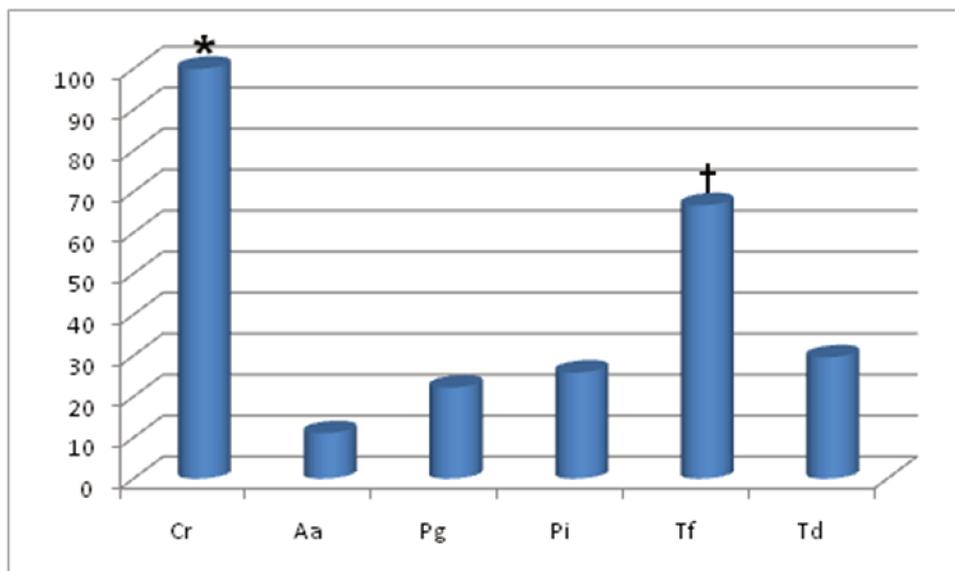


Figura 2 – Prevalência(%) de bactérias no grupo G0
Cr – *C. rectus*; Aa – *A. actinomycetemcomitans*; Pg – *P. gingivalis*; Pi – *P. intermedia*; Tf – *T. forsythia*; Td – *T. denticola*; teste estatístico: Wilcoxon

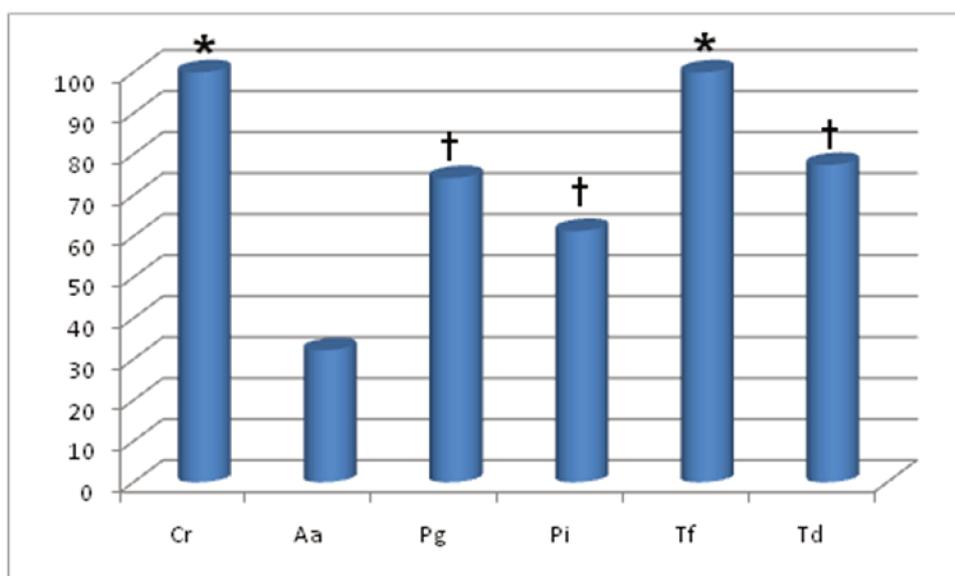


Figura 3 – Prevalência(%) de bactérias no grupo P0
Cr – *C. rectus*; Aa – *A. actinomycetemcomitans*; Pg – *P. gingivalis*; Pi – *P. intermedia*; Tf – *T. forsythia*; Td – *T. denticola*; teste estatístico: Wilcoxon

Em relação ao grupo G, não houve redução estatisticamente significativa ($p > 0,05$) dos microrganismos pré e pós-tratamento (Figura 4).

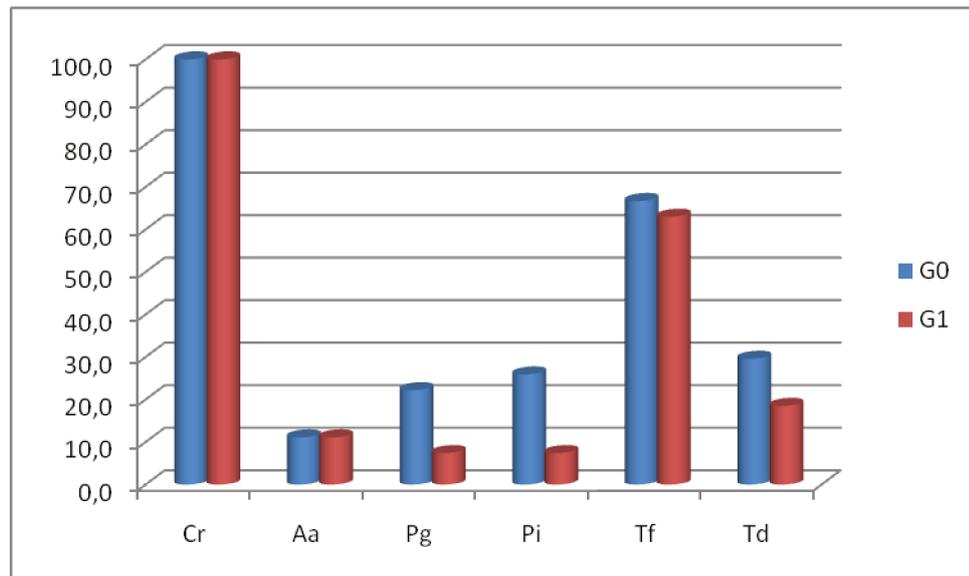


Figura 4 – Prevalência(%) de bactérias no grupo G
G0 – Gingivite pré-tratamento; G1 – Gingivite pós-tratamento; Cr – *C. rectus*; Aa – *A. actinomycetemcomitans*; Pg – *P. gingivalis*; Pi – *P. intermedia*; Tf – *T. forsythia*; Td – *T. denticola*; teste estatístico: Mann-Whitney

Em relação ao grupo P, observou-se redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) dos patógenos *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia* e *T. denticola* após terapia periodontal. Por outro lado, isso não foi observado para *C. rectus* e *A. actinomycetemcomitans* (Figura 5).

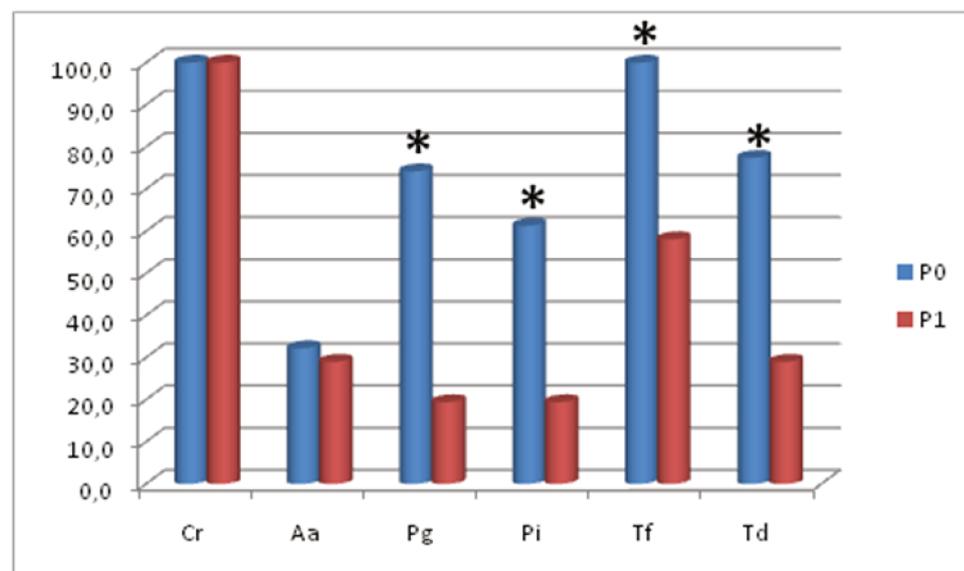


Figura 5 – Prevalência(%) de bactérias no grupo P
P0 – Periodontite pré-tratamento; P1 – Periodontite pós-tratamento; Cr – *C. rectus*; Aa – *A. actinomycetemcomitans*; Pg – *P. gingivalis*; Pi – *P. intermedia*; Tf – *T. forsythia*; Td – *T. denticola*; teste estatístico: Mann-Whitney

Comparadas ao grupo K, as frequências bacterianas dos grupos G0 e P0 evidenciaram uma maior prevalência da bactéria *T. forsythia* no grupo P0 do que no grupo G0 ($p < 0,05$) bem como uma maior prevalência dessa mesma bactéria no grupo G0 do que no grupo K ($p < 0,05$). Já as bactérias *P. gingivalis*, *P. intermedia* e *T. denticola* apresentaram maior prevalência no grupo P0 comparado aos grupos G0 e K ($p < 0,05$). Após o tratamento, apenas a bactéria *T. forsythia* dos grupos G1 e P1 apresentou maior frequência em relação ao grupo K ($p < 0,05$). Todas as outras dos grupos com doença foram reduzidas a níveis estatisticamente semelhantes aos do grupo saudável (Figuras 6 e 7).

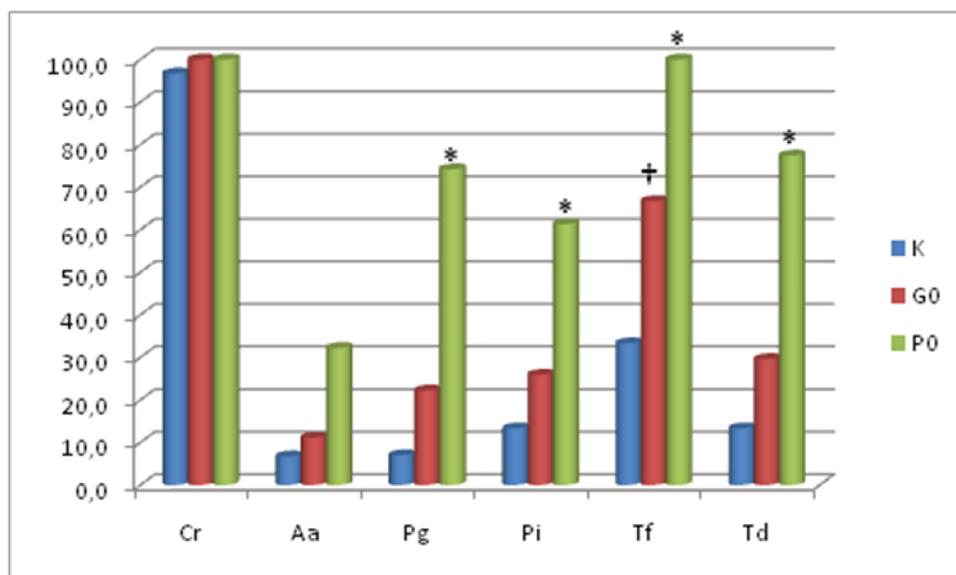


Figura 6 – Prevalência(%) de bactérias inter-grupos
K – Controle; G0 – Gingivite pré-tratamento; P0 – Periodontite pré-tratamento; Cr – *C. rectus*; Aa – *A. actinomycetemcomitans*; Pg – *P. gingivalis*; Pi – *P. intermedia*; Tf – *T. forsythia*; Td – *T. denticola*; teste estatístico: Kruskal-Wallis

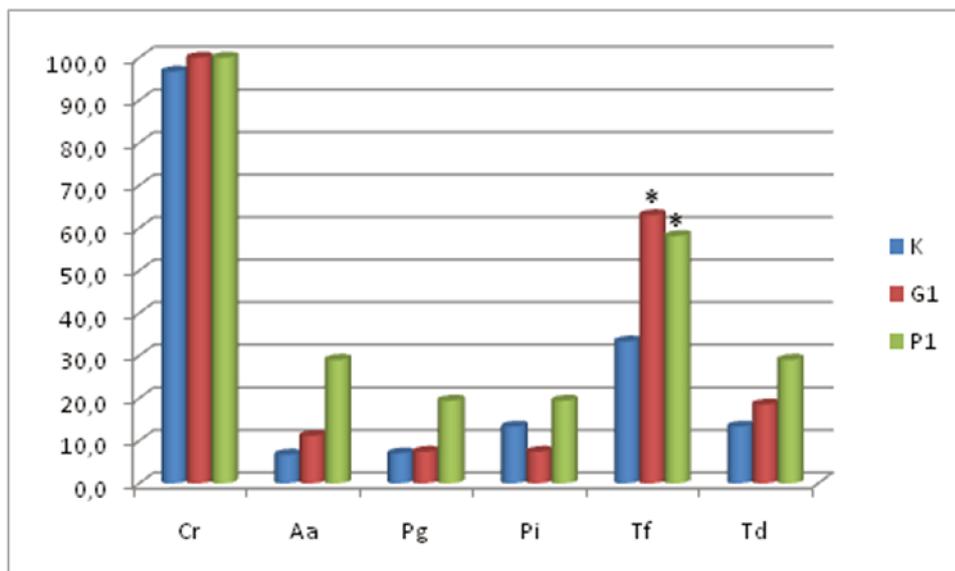


Figura 7 – Prevalência(%) de bactérias inter-grupos
K – Controle; G1 – Gingivite pós-tratamento; P1 – Perioeontite pós-tratamento; Cr – *C. rectus*; Aa – *A. actinomycetemcomitans*; Pg – *P. gingivalis*; Pi – *P. intermedia*; Tf – *T. forsythia*; Td – *T. denticola*; teste estatístico: Kruskal-Wallis

Com relação aos níveis de atividade de arginase, houve uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os grupos G0 e P0 e o grupo K (Figura 8). Após o tratamento, houve uma redução dos níveis de arginase ($p < 0,05$) no grupo P. Os grupos doentes, após o tratamento, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) em relação ao grupo saudável (Figura 9). A quantidade de arginase salivar no P0 apresentou uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação ao grupo P1 (Figura 10).

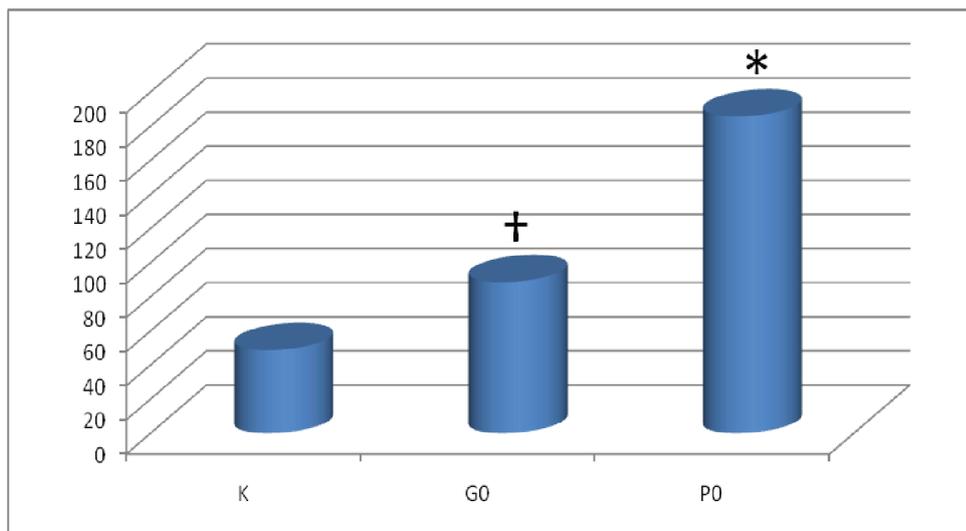


Figura 8 – Níveis de arginase salivar (mUI/mL) inter-grupo
K – Controle; G0 – Gingivite pré-tratamento; P0 – Periodontite pré-tratamento
teste estatístico: Kruskal-Wallis

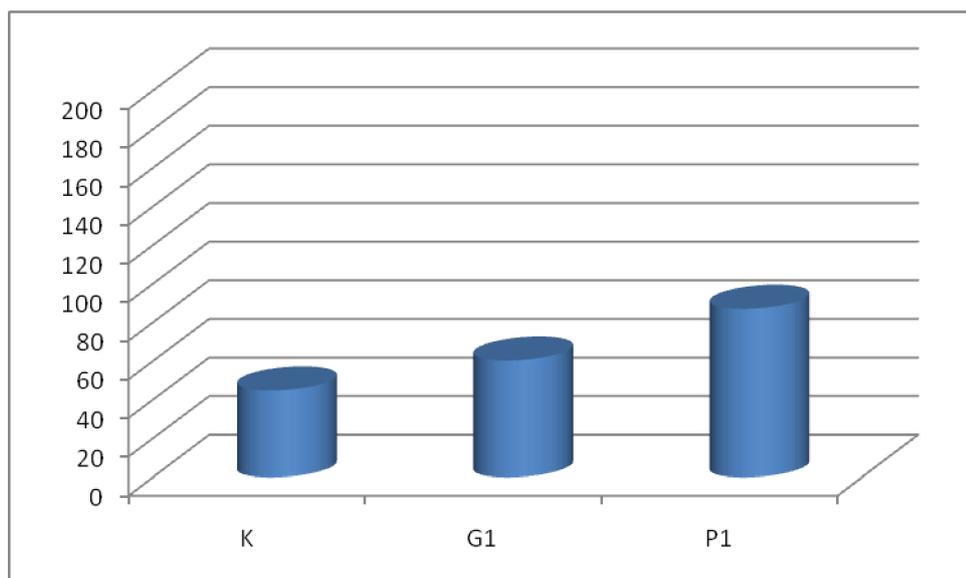


Figura 9 – Níveis de arginase salivar (mUI/mL) inter-grupo
K – Controle; G1 – Gingivite pós-tratamento; P1 – Periodontite pós-tratamento
teste estatístico: Kruskal-Wallis

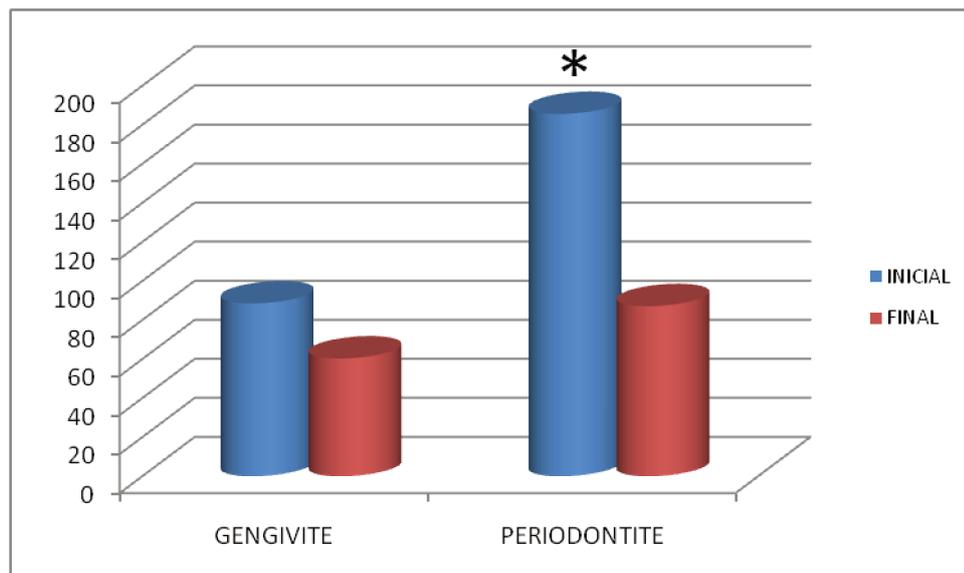


Figura 10 - Níveis de arginase salivar (mUI/mL) antes e após o tratamento periodontal teste estatístico: Wilcoxon

Quanto à proteína total, observou-se uma redução estatisticamente significativa para o grupo P após o tratamento ($p < 0,05$), o que não ocorreu no grupo G (Figura 11). Não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) quando comparados os níveis de proteína total entre os grupos K, G0 e P0 e entre os grupos K, G1 e P1.

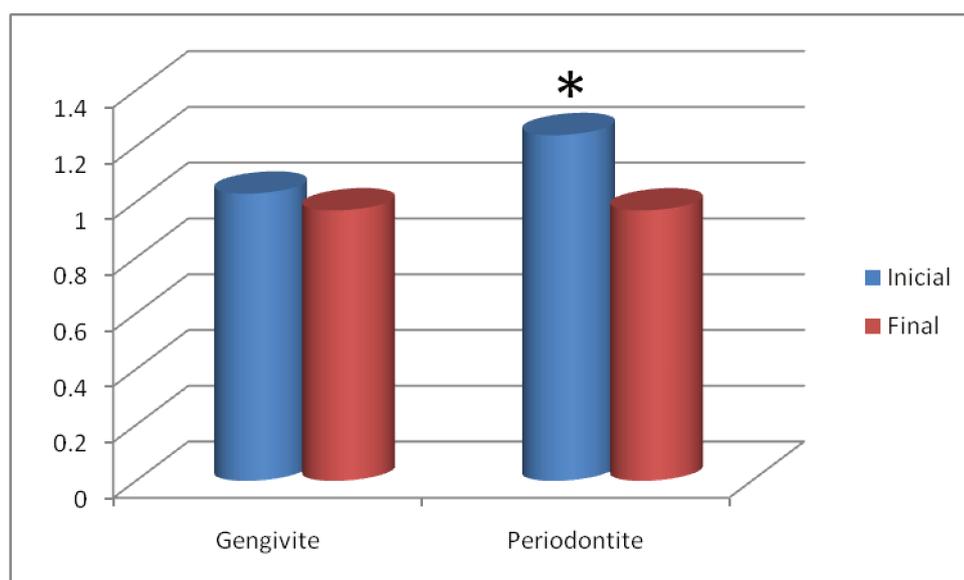


Figura 11 - Níveis proteína total (mg/mL) antes e após o tratamento periodontal teste estatístico: Wilcoxon

6 DISCUSSÃO

A doença periodontal tem sido, por muito tempo, uma das maiores causas de perdas dentárias. Devido a seus efeitos acumulativos, à medida que o tempo passa sem que o paciente seja adequadamente diagnosticado e tratado, suas sequelas tornam-se cada vez mais notórias. Isso inclui aumento de profundidade de sondagem, presença de recessões gengivais, perda de inserção clínica e, como amplamente observado recentemente na literatura científica, disseminação de microrganismos pela corrente sangüínea, aumentando a chance do indivíduo apresentar alterações sistêmicas como doenças cardiovasculares (Beck et al., 1996; Castro et al., 2000; Kinane et al., 2008), diabetes (Grossi & Genco, 1998; Kiran et al., 2005) e parto prematuro (Offenbacher et al., 1998; Tarannum & Faizuddin, 2007).

Assim, quanto mais precocemente é feito o diagnóstico da doença periodontal, ou ainda, quanto mais precocemente se determina a susceptibilidade de um paciente a ela, melhores são as suas perspectivas de saúde.

Dessa forma, este trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos da terapia periodontal em pacientes com gengivite e periodontite e compará-los a pacientes saudáveis, utilizando, para isso, parâmetros clínicos, microbiológicos e salivares.

Este estudo demonstrou melhora dos parâmetros clínicos, tanto da gengivite quanto da periodontite, após a terapia periodontal básica. Houve uma redução significativa dos índices gengival e de placa nos pacientes com gengivite após a orientação de higiene bucal com escova e fio dental.

Estes dados estão em concordância com muitos estudos (Løe et al., 1965; The American Academy of Periodontology, 2001; Rosema et al., 2008; Versteeg et al., 2008; Claydon, 2008), que claramente demonstraram ser suficiente a realização

e um controle diário do biofilme para a redução da gengivite e a manutenção da condição gengival saudável em muitos indivíduos.

Nos pacientes com periodontite, o tratamento periodontal básico — raspagem e alisamento radicular — foi efetivo para a melhora dos sinais clínicos da doença, isto é, redução da profundidade de sondagem e ganho de inserção clínica. Muitos outros estudos corroboram nossos resultados (Van der Weijden & Timmerman, 2002; Cobb, 2002; Colombo et al., 2005; Ioannou et al., 2009), demonstrando que este é um método eficaz para o tratamento da periodontite. Particularmente, o estudo de Ioannou et al. (2009) demonstrou que houve melhora dos pacientes, tanto nos parâmetros clínicos quanto microbiológicos, quando a terapia periodontal básica foi utilizada. Além disso, em nosso estudo, os pacientes com periodontite mostraram uma redução significativa dos índices de placa e gengival. Isso pode ser explicado pelo fato de que, neste grupo, incorporamos também o mesmo tratamento usado no grupo com gengivite, isto é, orientação de higiene bucal. Apesar de fazer uma comparação entre escovas elétricas e escovas manuais, McCracken et al. (2004) demonstraram que ambas as escovas foram efetivas na redução dos índices de placa e gengival, assim como da profundidade de sondagem, em pacientes submetidos a tratamento periodontal básico com raspagem e alisamento radicular. Portanto, ele demonstrou, como nós, que o controle mecânico de biofilme foi efetivo para o controle da gengivite.

Além disso, Gomes et al. (2007-2008) avaliaram o efeito do controle de biofilme supragengival em pacientes com periodontite, fumantes e nunca fumantes. Cinquenta pacientes tiveram registrados os índices de placa e gengival, de sangramento à sondagem, de profundidade de sondagem e perda de inserção clínica. Foram coletadas também amostras de biofilme subgengival para quantificação, por meio de *real time* PCR, dos microrganismos *P. gingivalis*, *P.*

micra, *D. pneumosintes* e *A. actinomycetemcomitans*. Em seguida, eles foram submetidos a raspagem supragengival e instruídos quanto às práticas de higiene bucal. Estas foram reforçadas semanalmente durante todo o período experimental de seis meses. Os resultados evidenciaram redução significativa de todos os parâmetros clínicos avaliados e uma redução da contagem de microrganismos subgengivais, Os autores concluíram que o controle de biofilme supragengival melhorou o ambiente subgengival e pode melhorar substancialmente a saúde periodontal e reduzir a necessidade de tratamentos periodontais mais complexos e que esta prática poderia ser implementada como rotina antes de intervenções subgengivais, evidenciando que o controle de biofilme feito assiduamente pelo paciente é essencial para uma melhora da doença.

Assim, há uma justificativa plausível na literatura para adotarmos o protocolo de tratamento de gengivite e periodontite utilizado nesta pesquisa.

Ao avaliarmos os parâmetros microbianos no presente estudo, observamos, no grupo K, uma presença significativa de *C. rectus* (96,7%) que não diferiu significativamente dos grupos G e P. Isso está em concordância com os resultados de van Winkelhoff et al. (2002) e de Tavares et al. (2007). É possível que a grande prevalência dessa espécie tenha relação com seu perfil de distribuição. Hayashi et al. (2006) avaliaram, por meio de PCR, a distribuição de *C. rectus* e *T. forsythia* em vários sítios periodontais de crianças de quatro a seis anos de idade e constataram que *C. rectus* era um microrganismo bastante prevalente, detectável com 95% de possibilidade com coleta em apenas dois sítios periodontais; por outro lado, *T. forsythia* precisara de coletas em sete ou mais sítios para ser detectada com essa mesma possibilidade. Além disso, Könönen et al. (2007) avaliaram, por meio de PCR, a presença de alguns periodontopatógenos na saliva de pacientes adultos e concluíram que espécies distintas apresentam diferentes perfis de distribuição,

dependendo de variáveis como idade, nível educacional e estado periodontal. Desta forma, podemos inferir que fatores inerentes à distribuição microbiana podem justificar estes resultados encontrados em nosso estudo.

Quanto à prevalência de microrganismos no grupo G0, nossos resultados concordam com os de Tavares et al. (2007) em que foi observado uma alta prevalência de *C. rectus* (96,5%) e uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) de *T. forsythia* em relação ao grupo K. Esses dados sugerem que um aumento da prevalência de *T. forsythia* possivelmente implique numa transição de saúde para gengivite e, posteriormente, de gengivite para periodontite. Tanner et al. (2007) afirmaram que essa bactéria — comumente detectada em sítios com periodontite crônica avançada — pode ser encontrada em pacientes com periodontite incipiente que exibem atividade de doença, demonstrando a relação dessa bactéria com a evolução da doença periodontal.

Observamos também que, após o tratamento, não houve uma redução estatisticamente significativa ($p > 0,05$) dos microrganismos estudados no grupo com gengivite. Uma provável explicação para isso é que as bactérias alvo deste estudo estão mais diretamente associadas aos indivíduos que apresentam periodontite. Surna et al. (2009) identificaram *E. nodatum* e *E. corrodens* como sendo bactérias mais frequentemente encontradas em pacientes com gengivite. Outros autores (Teles et al., 2007) realizaram um estudo prospectivo por três anos em que avaliaram se os benefícios clínicos obtidos com um programa de prevenção periodontal de pacientes com gengivite eram acompanhados por uma melhora da microbiota subgengival. Eles observaram que houve uma redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) dos parâmetros clínicos da gengivite, bem como de bactérias do gênero *Actinomyces*, *Capnocytophaga*, *Campylobacter*, *Fusobacterium* e *Prevotella*. Estes resultados diferem dos nossos para o gênero *Campylobacter* e

Prevotella. Isso pode ser explicado pela diferença de protocolo de tratamento; ele utilizou a raspagem supragengival e a profilaxia, além de acompanhar os pacientes por três anos, reforçando a orientação de higiene bucal a cada seis meses durante o período do estudo. Somando-se a isso, no grupo com gengivite, em nosso estudo, observamos uma redução na frequência de *P. intermedia*, apesar de não ser estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

Em relação ao grupo K, os pacientes do grupo G1 não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$), exceto para *T. forsythia*.

No grupo P, nosso estudo mostrou uma prevalência estatisticamente significativa ($p < 0,05$) para *C. rectus*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia* e *T. denticola*. Isso está em concordância com outros estudos (Cortelli et al., 2005; Brennan et al., 2007; Tanner et al., 2007; Guan et al., 2008; Tanabe et al., 2008; Mineoka et al., 2008; Imbronito et al., 2008; Hamlet et al., 2008). Também, Haffajee et al. (2008) relataram a presença desses microrganismos entre aqueles que fazem parte dos complexos vermelho e laranja, ou seja, do grupo de bactérias mais fortemente envolvido no estabelecimento e desenvolvimento da periodontite crônica. A baixa prevalência de *A. actinomycetemcomitans* deve-se ao fato deste microrganismo estar mais especificamente envolvido na periodontite agressiva, o que não fazia parte de nosso estudo. No entanto, Tavares et al. (2007) relataram uma presença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) para *A. actinomycetemcomitans*, o que não encontramos em nossa amostra. Uma provável explicação para isso consiste no fato de que seu estudo teve um delineamento do tipo transversal, o que requereu uma amostra maior da população. Outra possibilidade é que o estudo de Tavares et al. (2007) não fez uma distinção entre periodontite crônica e agressiva. Convém ressaltarmos que, tanto este quanto o

nosso estudo foram conduzidos na mesma região do Brasil, na cidade de Goiânia-GO, o que traz um esclarecimento maior sobre os nossos achados.

Após o tratamento do grupo P, houve uma significativa redução intragrupo das bactérias *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia* e *T. denticola*. Nossos resultados estão de acordo com os apresentados por Del Peloso Ribeiro et al. (2008) para as bactérias *P. gingivalis* e *T. forsythia*. Semelhantemente ao nosso estudo, estes mesmos autores — além de Swierkot et al. (2009) — relataram uma redução não significativa para *A. actinomycetemcomitans*. Isso possivelmente se deve ao fato de que essa bactéria tende a penetrar no interior dos tecidos moles (Saglie et al., 1982; Makoto et al., 2004), o que implicaria na necessidade de se utilizar antibioticoterapia para se reduzir os números dessa espécie. Resultados semelhantes foram encontrados por Ioannou et al. (2009), inclusive para *T. denticola*, e por Swierkot et al. (2009) para *P. intermedia*. No entanto, este último autor não encontrou diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) para *P. gingivalis*.

É interessante notar que *C. rectus* não apresentou redução intra ou intergrupo. Isso está de acordo com os estudos de Van Winkelhoff et al. (2002), Cortelli et al. (2005), Tavares et al. (2007) e Cortelli et al. (2008). Miyamoto et al. (2009), avaliando a presença de periodontopatógenos na saliva e a sua relação com alguns estreptococos, demonstraram que este microrganismo estava relacionado a pelo menos uma das bactérias do complexo vermelho (*P. gingivalis*, *T. denticola* e *T. forsythia*). É provável, portanto, que esse microrganismo seja um precursor para outras bactérias periodontopatogênicas em pacientes com maior susceptibilidade à doença.

Uma observação importante é que a frequência de *P. gingivalis*, *P. intermedia*, e *T. denticola* no grupo P1 tornou-se semelhante à do grupo K,

demonstrando que, do ponto de vista microbiológico, os indivíduos do grupo P tornaram-se saudáveis.

Riep et al. (2009) sugeriram em seu estudo que a associação de bactérias específicas com estado de saúde ou de doença periodontal requer futuras avaliações. Eles cogitaram que algumas bactérias frequentemente associadas a periodontite estariam muito mais associadas à evolução da doença periodontal, por meio do aumento da profundidade de sondagem, do que propriamente a um diagnóstico específico. Curiosamente, Ramseier et al. (2009) afirmaram que uma combinação entre biomarcadores salivares e biofilme patogênico aumentaria a possibilidade de uma correta categorização da doença periodontal. Dessa forma, nosso estudo demonstrou, por meio da associação de três parâmetros — clínicos, microbiológicos e salivares — uma correta alocação dos indivíduos de acordo com o seu diagnóstico, bem como demonstrou que o tratamento tornou indivíduos doentes em indivíduos saudáveis, segundo esses mesmos três parâmetros.

Conforme descrito anteriormente, a arginase está envolvida no mecanismo de várias doenças, especialmente daquelas de natureza inflamatória (Ugar-Çankal & Ozmeric, 2006). Assim, quando avaliamos seus níveis em pacientes com gengivite e periodontite, percebemos que eles estavam estatisticamente diferentes entre si e em relação ao grupo controle. Ozmeric et al. (2000) demonstraram isto em seu estudo. Quando compararam a arginase salivar de pacientes saudáveis à de pacientes com periodontite, verificaram que estes tinham estatisticamente mais arginase salivar que aqueles. Entretanto, esses autores não incluíram um grupo com gengivite e não avaliaram a arginase salivar dos pacientes com periodontite após tratamento.

Güllü et al. (2005) avaliaram a arginase presente no tecido gengival de pacientes com periodontite crônica antes e após dois tipos de tratamento: (a)

raspagem e alisamento radicular e (b) retalho de Widman modificado. Seus resultados, curiosamente, mostraram haver um aumento estatisticamente significativo da arginase após a terapia, em ambas as modalidades de tratamento, exatamente o oposto do encontramos em nosso estudo. Essa divergência pode ser explicada pelo fato de que eles mediram a arginase diretamente nos tecidos gengivais por meio de biópsia, além do fato de que, no estudo de Güllü et al. (2005), a óxido nítrico sintetase estava elevada. Dessa forma, como ambas as enzimas competem pelo mesmo substrato e níveis elevados de ambas são nocivos ao paciente, a arginase mais elevada após a terapia poderia ser uma tentativa do organismo de balancear essa relação. Outra possível diferença está no fato de que a amostra desse autor constituiu-se de apenas 13 indivíduos, enquanto, no nosso, de 31 indivíduos.

Comparados aos do estudo de Gheren et al. (2007), nossos resultados foram bastante semelhantes. Eles fizeram uma comparação dos níveis de arginase salivar entre pacientes com periodontite e pacientes saudáveis, subdividindo o grupo teste em dois subgrupos: um com nível de inserção clínica de até 6mm e outro com nível de inserção clínica de mais de 6mm. Não foram incluídos pacientes com gengivite. Assim como em nosso estudo, eles observaram uma redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) para a arginase e para todos os parâmetros clínicos pré e pós-tratamento. No entanto, não observaram diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) para a arginase entre os dois subgrupos da periodontite. Nosso estudo, por outro lado, comprovou uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os grupos K, G0 e P0 e entre os grupos P0 e P1. Gheren et al. (2007) também não fizeram uma comparação entre o grupo teste pós-tratamento e o grupo controle. Por outro lado, após o tratamento, nossos grupos teste (G1 e P1) tiveram níveis de arginase salivar estatisticamente

semelhantes aos do grupo controle. Assim, também pelo parâmetro salivar, podemos inferir que os pacientes do grupo P tornaram-se saudáveis.

Em nosso estudo, não houve diferença estatística dos níveis de arginase salivar entre os grupos G0 e G1. Isso pode ser explicado pelo fato de que a arginase é, em parte, sintetizada por macrófagos ativados nos tecidos periodontais (Salimuddin et al., 1999), sendo que essa produção pode ser estimulada pela presença de bactérias periodontopatogênicas (Uematsu et al., 2006; Sosroseno et al., 2006). Como o grupo G tinha pouca prevalência de bactérias periodontopatogênicas e os macrófagos são células mais características da periodontite, isso pode ter determinado uma menor quantidade de arginase salivar e, conseqüentemente, uma menor redução intragrupo.

Quanto ao grupo P, a redução de arginase após a terapia periodontal não cirúrgica foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Este dado pode ser explicado pela redução da frequência de bactérias periodontopatogênicas e pela redução do processo inflamatório gengival (Salimuddin et al., 1999; Uematsu et al., 2006; Sosroseno et al., 2006). Nossos resultados divergem daqueles de Güllü et al. (2005), possivelmente pelos motivos já explicitados anteriormente.

Quanto à proteína total, houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) apenas no grupo P ($P_0 > P_1$). Como a presença aumentada de proteína na saliva é reflexo do aumento da atividade inflamatória bucal (Nieminen et al., 1993), podemos inferir que a redução da atividade inflamatória da periodontite reduziu os níveis de proteína total após a terapia. Nossos resultados divergem dos de Cortelli et al. (2009), apesar do método utilizado ser diferente. Eles compararam os efeitos da terapia *full-mouth* de estágio único com óleos essenciais em relação à terapia *full-mouth* de estágio único com placebo em pacientes com periodontite. Seus resultados não demonstraram diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$)

para o grupo controle, que foi submetido a raspagem e placebo. Quando comparamos nossos resultados aos de Nieminen et al. (1993), observamos uma concordância em relação à redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) no grupo P após a terapia. No entanto, em nosso estudo não houve diferença entre o grupo P0 e K.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados deste estudo, podemos concluir que os parâmetros clínicos, microbiológicos e salivares parecem endossar a terapia periodontal não cirúrgica como um método eficaz para o tratamento de indivíduos com gengivite e periodontite.

REFERÊNCIAS

1. Jeffcoat MK, Reddy MS. Progression of probing attachment loss in adult periodontitis. *J Periodontol* 1991; 62:185–189.
2. Løe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E. Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 16 years of age. *J Clin Periodontol* 1986; 13:431–440.
3. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999; 1:1-6.
4. Kirkwood KL, Taba M Jr, Rossa C Jr, Preshaw PM, Giannobile WV. Biologia molecular da interação hospedeiro-microorganismo nas doenças periodontais: tópicos selecionados e aspectos da sinalização molecular da destruição óssea mediada pelo patógeno nas doenças periodontais. In: Newman MG, Takei H, Carranza FA Jr, Klokkevold PR. *Carranza periodontia clínica*. 10a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2007. p.259-274.
5. Sanz M, Newman MG, Quirynen M. Técnicas diagnósticas avançadas. In: Newman MG, Takei H, Carranza FA Jr, Klokkevold PR. *Carranza periodontia clínica*. 10a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2007. p.579-601.
6. Armitage GC. Analysis of gingival crevice fluid and risk of progression of periodontitis. *Periodontology* 2000 2004; 34:109-119.
7. Gheren LW, Cortelli JR, Rodrigues E, Holzhausen M, Saad WA. Periodontal therapy reduces arginase activity in saliva of patients with chronic periodontitis. *Clin Oral Invest* 2007; 12:67-72.
8. Nishihara T, Koseki T. Microbial etiology of periodontitis. *Periodontology* 2000 2004; 36:14-26.
9. Papapanou PN, Lindhe J. Epidemiologia das doenças periodontais. In: Lindhe J, Karring T, Lang NP. *Tratado de periodontia clínica e implantologia oral*. 4a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. p.49-80.
10. Løe H, Theilade E, Jensen B. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol* 1965; 36:177-187.
11. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J* 1975; 25:229-235.
12. Toassi RFC, Petry PC. Motivação no controle do biofilme dental e sangramento gengival em escolares. *Rev Saúde Pública* 2002; 36:634-637.

13. Deery C, Heanue M, Deacon S, Robinson PG, Walmsley AD, Worthington H, et al. The effectiveness of manual versus powered toothbrushes for dental health: a systematic review. *J Dent* 2004; 32:197-211.
14. Mariath AA, Bressani AE, Haas AN, Araújo FB, Rösing CK. Professional flossing as a diagnostic method for gingivitis in the primary dentition. *Braz Oral Res* 2008; 22:316-321.
15. Van der Weijden GA, Timmerman MF. A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2002; 29 Suppl 3:55-71.
16. Cobb CM. Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence-based perspective of scaling and root planning. *J Clin Periodontol* 2002; 29 Suppl 2: 6-16.
17. Colombo APV, Teles RP, Torres MC, Rosalém Júnior W, Mendes MCS, Souto RM, et al. Therapy on the subgingival microbiota of brazilians with untreated chronic periodontitis: 9-month results. *J Periodontol* 2005; 76:778-784.
18. Ioannou I, Dimitriadis N, Papadimitriou K, Sakellari D, Vouros I, Konstantinidis A. Hand instrumentation *versus* unstrasonic debridement in the tratment of chronic periodontitis: a randomized clinical and microbiological trial. *J Clin Periodontol* 2009; 36:132-141.
19. Vysniauskaite S, Vehkalahti MM. Impatcs of toothbrushing frequency on periodontal findings in a group of elderly Lithuanians. *Oral Health Prev Dent* 2009; 7:129-136.
20. Battaglia A. The Bass technique using a specially designed toothbrush. *Int J Dent Hygiene* 2008; 6:183-187.
21. The American Academy of Periodontology. Treatment of plaque-induced gingivitis, chronic periodontitis, and other clinical conditions. *J Periodontol* 2001; 72:1790-1800.
22. Versteeg PA, Piscaer M, Rosema NAM, Timmerman MF, Van der Velden U, Van der Weijden GA. Tapered toothbrush filaments in relation to gingival abrasion, removal of plaque and treatment of gingivitis. *Int J Dent Hygiene* 2008; 6:174-182.
23. Terézhalmy GT, Biesbrock AR, Walters PA, Grender JM, Bartizek RD. Clinical evaluation of brushing time and plaque removal potential of two manual toothbrushes. *Int J Dent Hygiene* 2008a; 6:321-327.
24. Terézhalmy GT, Bartizek RD, Biersbrock AR. Plaque-removal efficacy of four types of dental floss. *J Periodontol* 2008b; 79:245-251.
25. Yost KG, Mallatt ME, Liebmen J. Interproximal gingivitis and plaque reduction by four interdental products. *J Clin Dent* 2006; 17:79-83.

26. Ishak N, Watts TLP. A comparison of the efficacy and ease of use of dental floss and interproximal brushes in a randomized split-mouth trial incorporating an assessment of subgingival plaque. *Oral Health Prev Dent* 2007; 5:13-18.
27. Rosema NAM, Timmerman MF, Versteeg PA, van Palenstein Helderma WH, Van der Velden U, Van der Weijden GA. Comparison of the use of different modes of mechanical oral hygiene in prevention of plaque and gingivitis. *J Periodontol* 2008; 79:1386-1394.
28. Zanatta FB, Mattos WD, Moreira CHC, Gomes SC, Rösing CK. Efficacy of plaque removal by two types of toothpick. *Oral Health Prev Dent* 2008; 6:309-314.
29. Wolff D, Joerss D, Dörfer CE. In vitro-cleaning efficacy of interdental brushes with different stiffness and different diameter. *Oral Health Prev Dent* 2006; 4:279-285.
30. Tamaki N, Tomofuji T, Ekuni D, Yamanaka R, Yamamoto T, Morita M. Short-term effects of non-surgical periodontal treatment on plasma level of reactive oxygen metabolites in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2009; 80:901-906.
31. Aimetti M, Romano F, Marsico A, Navone R. Non-surgical periodontal treatment of cyclosporin A-induced gingival overgrowth: immunohistochemical results. *Oral Dis* 2008; 14:244-250.
32. Ekuni D, Yamamoto T, Takeuchi N. Retrospective study of teeth with a poor prognosis following non-surgical periodontal treatment. *J Clin Periodontol* 2009; 36:343-348.
33. Ortiz P, Bissada NF, Palomo L, Han YW, Al-Zahrani MS, Panneerselvam A, et al. Periodontal therapy reduces the severity of active rheumatoid arthritis in patients treated with or without tumor necrosis factor inhibitors. *J Periodontol* 2009; 80:535-540.
34. Tarannum F, Faizuddin M. Effect of periodontal therapy on pregnancy outcome in women affected by periodontitis. *J Periodontol* 2007; 78:2095-2103.
35. Kiran M, Arpak N, Ünsal E, Erdogan MF. The effect of improved periodontal health on metabolic control in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Periodontol* 2005; 32:266-272.
36. Offenbacher S, Beck JD, Moss K, Mendoza L, Paquette DW, Barrow DA, et al. Results from the periodontitis and vascular events (PAVE) study: a pilot multicentered, randomized, controlled trial to study effects of periodontal therapy in a secondary prevention model of cardiovascular disease. *J Periodontol* 2009; 80:190-201.
37. D'Aiuto F, Parkar M, Andreaou G, Brett PM, Ready D, Tonetti MS. Periodontitis and atherogenesis: causal association or simple coincidence? *J Clin Periodontol* 2004; 31:402-411.

38. Brennan RM, Genco RJ, Wilding GE, Hovey KM, Trevisan M, Wactawski-Wende J. Bacterial Species in subgingival plaque and oral bone loss in postmenopausal women. *J Periodontol* 2007; 78:1051-1061.
39. Guan SM, Shu L, Fu SM, Liu B, Xu XL, Wu JZ. *Prevotella intermedia* induces matrix metalloproteinase-9 expression in human periodontal ligament cells. *FEMS Microbiol Lett* 2008; 283:47-53.
40. Socransky SS, Haffajee AD. Microbiologia da doença periodontal. In: Lindhe J, Karring T, Lang NP. Tratado de periodontia clínica e implantologia oral. 4a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. p.105-147.
41. Ebersole JL, Holt SC, Hansard R, Novak MJ. Microbiologic and immunologic characteristics of periodontal disease in Hispanic americans with type 2 diabetes. *J Periodontol* 2008; 79:637-646.
42. Surna A, Kubilius R, Sakalauskiene J, Vitkauskiene A, Jonaitis J, Saferis V, et al. Lysozyme and microbiota in relation to gingivitis and periodontitis. *Med Sci Monit* 2009; 15:CR66-73.
43. Miyamoto E, Nakano K, Fujita K, Nomura R, Okawa R, Matsumoto M, et al. Bacterial profiles of oral streptococcal and periodontal bacterial species in saliva specimens from Japanese subjects. *Arch Oral Biol* 2009; 54:374-379.
44. Guthmiller JM, Lally ET, Korostoff J. Beyond the specific plaque hypothesis: are highly leukotoxic strains of actinobacillus actinomycetemcomitans a paradigm for periodontal pathogenesis? *Crit Rev Oral Biol Med* 2001; 12(2):116-124.
45. Taichman NS, Dean RT, Sanderson CJ. Biochemical and morphological characterization of the killing of human monocytes by a leukotoxin derived from *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infect Immun* 1980; 28:258-268
46. Takahashi N, Kobayashi M, Takaki T, Takano K, Miyata M, Okamatsu Y, et al. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* lipopolysaccharide stimulates collagen phagocytosis by human gingival fibroblasts. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23:259-264.
47. Imbronito AV, Okuda OS, Freitas NM, Lotufo RFM, Nunes FD. Detection of herpesviruses and periodontal pathogens in subgingival plaque of patients with chronic periodontitis, generalized aggressive periodontitis, or gingivitis. *J Periodontol* 2008; 79: 2313-2321.
48. Hamlet SM, Ganashan N, Cullinan MP, Westerman B, Palmer JE, Seymour GJ. A 5-year longitudinal study of *Tannerella forsythia* prTH genotype: association with loss of attachment. *J Periodontol* 2008; 79:144-149.
49. Tanner ACR, Izard J. *Tannerella forsythia*, a periodontal pathogen entering the genomic era. *Periodontology* 2000 2006; 42:88-113.

50. Tanner ACR, Kent R Jr, Kanasi E, Lu SC, Paster BJ, Sonis ST, et al. Clinical characteristics and microbiota of progressing slight chronic periodontitis in adults. *J Clin Periodontol* 2007; 34:917-930.
51. Lamont RJ, Chan A, Belton CM, Izutsu KT, Vasel D, Weinberg A. *Porphyromonas gingivalis* Invasion of gingival epithelial cells. *Infect Immun* 1995; 63: 3878-3885.
52. Jandik KA, Bélanger M, Low SL, Dorn BR, Yang MCK, Progulske-Fox A. Invasive differences among *Porphyromonas gingivalis* strains from healthy and diseased periodontal sites. *J Periodont Res* 2008; 43: 524-530.
53. Xiangfeng L, Takehisa I, Hiroaki N, Yoshinori I, Yiwen C, Makoto U, et al. An ultrastructural study of *Porphyromonas gingivalis*-induced platelet aggregation. *Thromb Res* 2008; 122: 810-819.
54. Castro MVM, Pereira AL, Duarte CA, Cavalcanti AG, Queiroz IKR. Atendimento clínico conjunto entre o periodontista e o médico. Parte I: diabetes e doenças isquêmicas. *Robrac* 2000; 9:55-59.
55. Tanabe SI, Bodet C, Grenier D. *Treponema denticola* peptidoglycan induces the production of inflammatory mediators and matrix metalloproteinase 9 in macrophage-like cells. *J Periodont Res* 2008; 44:503-510.
56. Holt SC, Ebersole JL. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* and *Tannerella forsythia*: the 'red complex': a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontology* 2000 2005; 38:72-122.
57. Tavares PC, Fernandes JG, Costa MH, Carvalho Filho J, Aquino DR, Cortelli JR. Presença de periodontopatógenos em jovens adultos da região Centro-Oeste/Norte do Brasil. *R Periodontia* 2007; 17:5-10.
58. Mineoka T, Awano S, Rikimaru T, Kurata H, Yoshida A, Ansai T, et al. Site-specific development of periodontal disease is associated with increased levels of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia* in subgingival plaque. *J Periodontol* 2008; 79:670-676
59. Haffajee AD, Yaskell T, Torresyap G, Teles R, Socransky SS. Comparison between polymerase chain reaction-based and checkerboard DNA hybridization techniques for microbial assessment of subgingival plaque samples. *J Clin Periodontol* 2009; 36:642-649.
60. Ramseier CA, Kinney JS, Herr AE, Braun T, Sugai JV, Shelburne CA, et al. Identification of pathogen and host-response markers correlated with periodontal disease. *J Periodontol* 2009; 80:436-446.
61. Cortelli SC, Cortelli JR, Holzhausen M, Franco GCN, Rebelo RZ, Sonagere AS, et al. Essential oils in one-stage full-mouth disinfection: double-blind, randomized clinical trial of long-term clinical, microbial and salivary effects. *J Clin Periodontol* 2009; 36:333-342.

62. Vitorino R, Lobo MJC, Duarte J, Ferrer-Correia AJ, Tomer KB, Dubin JR, et al. In vitro hydroxyapatite adsorbed salivary proteins. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 320:342-346.
63. Zambon JJ, Nakamura M, Slots J. Effect of periodontal therapy on salivary enzymatic activity. *J Periodontal Res* 1985; 20:652-659.
64. Mori M. Regulation of nitric oxide synthesis and apoptosis by arginase and arginine recycling. *J Nutr* 2007; 137:1616S-1620S.
65. Jacobsen LC, Theilgaard-Mönch K, Christensen EI, Borregaard N. Arginase 1 is expressed in myelocytes/metamyelocytes and localized in gelatinase granules of human neutrophils. *Blood* 2007; 109:3084-3087.
66. King NE, Rothenberg ME, Zimmermann N. Arginine en asthma and lung inflammation. *J Nutr* 2004; 34: 2830S-2836S.
67. Moss MB, Sá Siqueira MA, Mann GE, Brunini TM, Mendes-Ribeiro AC. Platelet aggregation in arterial hypertension. Is ther a NO-urea connection? *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2009 Jun 29. [Epub ahead of print].
68. Durante W, Johnson FK, Johnson RA. Arginase: a critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; 34:906-911.
69. Romero MJ, Platt DH, Tawfik HE, Labazi M, El-Remessy AB, Bartoli M, et al. Diabetes-induced coronary vascular dysfunction involves increased arginase activity. *Circ Res* 2008; 102:95-102.
70. Wu G, Bazer FW, Davis TA, Kim SW, Li P, Rhoads M, et al. Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease. *Amino Acids* 2009; 37:153-168.
71. Hirata M, Obayashi S, Sakamoto S, Aso T, Imamura M, Azuma H. Involvement of arginase in regulating myometrial contractions during gestation in the rat. *Mol Hum Reprod* 2006; 12:513-518.
72. Salimuddin, Nagasaki A, Gotoh T, Isobe H, Mori M. Regulation of the genes for arginase isoforms and related enzymes in mouse macrophages by lipopolysaccharide. *Am J Physiol* 1999; 277:E110-E117.
73. Uematsu H, Sato N, Djais A, Hoshino E. Degradation of arginine by *Slackia exigua* ATCC 700122 and *Cryptobacterium curtum* ATCC 700683. *Oral Microbiol Immunol* 2006; 21:381-384.
74. Sosroseno W, Musa M, Ravichandran M, Fikri Ibrahim M, Bird PS, Seymour GJ. Arginase activity in a murine macrophage cell line (RAW264.7) stimulated with lipopolysaccharide from *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Oral Microbiol Immunol* 2006; 21:145-150.
75. Ugar-Çankal D, Özmeriç NA. Multifaceted molecule, nitric oxide in oral and periodontal diseases. *Clin Chim Acta* 2006; 366:90-100.

76. Özmeriç N, Elgün S, Uraz A. Salivary arginase in patients with adult periodontitis. *Clin Oral Invest* 2000; 4:21–24.
77. López NJ, Smith PC, Gutierrez J. Higher risk of preterm birth and low birth weight in women with periodontal disease. *J Dent Res* 2002; 81:58-63.
78. Miranda LA, Islabão AG, Fischer RG, Figueiredo CMS, Oppermann RV, Gustafsson A. Decreased interleukin-1 β and elastase in the gingival crevicular fluid of individuals undergoing anti-inflammatory treatment for rheumatoid arthritis. *J Periodontol* 2007; 28:1612-1619.
79. Gomi K, Yashima A, Iino F, Kanazashi M, Nagano T, Shibukawa N, et al. Drug concentration in inflamed periodontal tissues after systemically administered Azithromycin. *J Periodontol* 2007; 78:918-923.
80. The American Academy of Periodontology. Parameter on Periodontitis Associated With Systemic Conditions. *J Periodontol* 2000; 71:876-879.
81. Elter JR, White BA, Gaynes BN, Bader JD. Relationship of clinical depression to periodontal treatment outcome. *J Periodontol* 2002; 73:441-449.
82. Skamagas M, Breen TL, LeRoith D. Update on diabetes mellitus: prevention, treatment, and association with oral diseases. *Oral Dis* 2008; 14:105-114.
83. Bergeron C, Boulet LP, Page N, Laviolette M, Zimmermann N, Rothenberg ME, et al. Influence of cigarette smoke on the arginine pathway in asthmatic airways: Increased expression of arginase I. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119:391-397.
84. Man-Yin W, Chia-Lin L, Cheing-Meei L, Lein-Tuan H. Microbiological response of localized sites with recurrent periodontitis in maintenance patients treated with tetracycline fibers. *J Periodontol* 1999; 70:861-868.
85. Chinard FP. Photometric estimation of proline and ornithine. *J Biol Chem* 1952; 199:91-95.
86. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 1976; 72:248-254.
87. Beck JD, Garci R, Heiss G, Vokonas PS, Offenbacher S. Periodontal disease and cardiovascular disease. *J Periodontol* 1996; 67 Suppl :1123-1137.
88. Kinane D, Bouchard P. Group E of European Workshop on Periodontology. Periodontal disease and health: consensus report of the sixth European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontology* 2008; 35 8 Suppl :333-337.
89. Grossi S, Genco R. Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way relationship. *Ann Periodontol* 1998; 3:51-61.

90. Offenbacher S, Jared HL, O'Reilly PG, Wells SR, Salvi GE, Lawrence HP, et al. Potential pathogenic mechanisms of periodontitis-associated pregnancy complications. *Ann Periodontol* 1998; 3:233-250.
91. Claydon NC. Current concepts in toothbrushing and interdental cleaning. *Periodontol* 2000 2008; 48:10-22.
92. McCracken GI, Heasman L, Stacey F, Steen N, deJager M, Heasman PA. A clinical comparison of an oscillating/rotating powered toothbrush and a manual toothbrush in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2004; 31:805-812.
93. Gomes SC, Piccinin FB, Susin C, Oppermann RV, Marcantonio RAC. Effect of supragingival plaque control in smokers and never-smokers: 6-month evaluation of patients with periodontitis. *J Periodontol* 2007; 78:1515-1521.
94. Gomes SC, Nonnenmacher C, Susin C, Oppermann RV, Mutters R, Marcantonio RAC. The effect of a plaque-control regimen on the subgingival microbiota in smokers and never-smokers: evaluation by real-time polymerase chain reaction. *J Periodontol* 2008; 79:2297-2304.
95. Van Winkelhoff AJ, Loos BG, van der Reijden WA, van der Velden U. *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction. *J Clin Periodontol* 2002; 29:1023-1028.
96. Hayashi F, Okada M, Soda Y, Miura K, Kozai K. Subgingival distribution of *Campylobacter rectus* and *Tannerella forsythensis* in healthy children with primary dentition. *Arch Oral Biol* 2006; 51:10-14.
97. Könönen E, Paju S, Pussinen PJ, Hyvönen M, Di Tella P, Suominen-Taipale S, et al. Population-based study of salivary carriage of periodontal pathogens in adults. *J Clin Microbiol* 2007; 45:2446-2451.
98. Teles RP, Bogren A, Patel M, Wnnstrom JL, Socransky SS, Haffajee AD. A three-year prospective study of adult subjects with gingivitis II: microbiological parameters. *J Clin Periodontol* 2007; 34:7-17.
99. Cortelli JR, Cortelli SC, Jordan S, Haraszthy VI, Zambon JJ. Prevalence of periodontal pathogens in Brazilians with aggressive or chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005; 32:860-866.
100. Haffajee AD, Socransky SS, Patel MR, Song X. Microbial complexes in supragingival plaque. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23:196-205.
101. Del Peloso Ribeiro E, Bittencourt S, Sallum EA, Nociti Junior FH, Gonçalves RB, Casati MZ. Periodontal debridement as a therapeutic approach for severe chronic periodontitis: a clinical, microbiological and immunological study. *J Clin Periodontol* 2008; 35:789-798.

102. Swierkot K, Nonnenmacher CL, Mutters R, Flores-deJacoby L, Mengel R. One-stage full-mouth disinfection versus quadrant and full-mouth root planning. *J Clin Periodontol* 2009; 36:240-249.
103. Saglie FR, Carranza FA Jr, Newman MG, Cheng L, Lewin KJ. Identification of tissue-invading bacteria in human periodontal disease. *J Periodontal Res* 1982; 17:452-455.
104. Makoto U, Yasuo T, Kazuyuki N, Yi H, Koshy G, Isao I. Effects of nonsurgical periodontal therapy on the microbiota. *Periodontology* 2000 2004; 36:98-120.
105. Cortelli JR, Aquino DR, Cortelli SC, Fernandes CB, Carvalho-Filho J, Franco GCN, et al. Etiological analysis of initial colonization of periodontal pathogens in oral cavity. *J Clin Microbiol* 2008; 46:1322-1329.
106. Riep B, Edesi-Neub L, Claessen F, Skarbis H, Ehmke B, Flemming T, et al. Are putative periodontal pathogens reliable diagnostic markers? *J Clin Microbiol* 2009; 47:1705-1711.
107. Güllü C, Ozmeriç N, Tokman B, Elgün S, Balos K. Effectiveness of scaling and root planing versus modified Widman flap on nitric oxide synthase and arginase activity in patients with chronic periodontitis. *J Periodont Res* 2005; 40:168-175.
108. Nieminen A, Nordlund L, Uitto VJ. The effect of treatment on the activity of salivary proteases and glycosidases in adults with advanced periodontitis. *J Periodontol* 1993; 64:297-301.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Modelo de Ficha Clínica e Termo de Esclarecimento Livre e Consentido

CD Alexandre Lustosa Pereira	
Periodontista	
FICHA CLÍNICA	
Dados Pessoais do Paciente	
Nome:	
Endereço:	
Fone Res.:	Fone Com.:
Fone Cel.:	Fone Rec.:
Data de Nascimento:	Idade:
Profissão:	
Indicação:	Fone:
Anamnese	
Revisão de Sistemas:	
Cardio-circulatório:	
Respiratório:	
Excretor:	
Endócrino:	
Digestivo:	
Neurológico:	
Outros:	
Gravidez:	
Hospitalizações:	
Cirurgias:	
Medicamentos:	
Reações Alérgicas:	
Hábitos:	
Declaração	
Declaro, para os fins que se fizerem necessários, que todas as informações acima prestadas são verdadeiras e assumo total responsabilidade sobre as mesmas.	
Data:	Assinatura:

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) a participar, como voluntário (a), em uma pesquisa. Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, por favor, assine ao final deste documento, elaborado em duas vias de um só teor. Uma das vias é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa em participar do presente estudo, você não será penalizado (a) de forma alguma.

TÍTULO: "Associação dos níveis de atividade de arginase salivar com a severidade da doença periodontal: Avaliação clínica, microbiológica e imunológica, pré e pós terapia não-cirúrgica".

RESPONSÁVEL: C.D. Alexandre Lustosa Pereira.

JUSTIFICATIVA: A doença periodontal (gingival) é uma inflamação que deixa a gengiva inchada, vermelha e, em alguns casos, pode causar o amolecimento e perda do dente. Essa é uma doença muito comum, pois oito em cada dez adultos brasileiros apresentam alguma forma de doença da gengiva. A inflamação da gengiva é causada por bactérias (germes) da boca que vivem ao redor dos dentes e gengiva. Estas bactérias produzem algumas substâncias que, de alguma forma, irritam a gengiva. Em contrapartida, o organismo produz algumas substâncias, chamadas citocinas, que têm o papel de combater estas bactérias. A saliva também apresenta uma substância (arginase) que pode ser usada para se determinar se um paciente apresenta ou não doença da gengiva.

O objetivo deste presente estudo é avaliar se a arginase está presente na saliva dos pacientes com doença na gengiva e se, após o tratamento, a quantidade desta substância diminui.

Neste estudo serão examinados pacientes adultos, entre 20 e 45 anos de idade, para saber se apresentam doença da gengiva. Também será avaliado se estes pacientes possuem na boca algumas bactérias chamadas *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Prevotella intermedia*, e se sua gengiva possui algumas citocinas: interleucina 6, interleucina 1 beta e fator alfa de necrose tumoral. Todos os dentes serão examinados e será coletado um pouco de líquido da gengiva com um cone de papel. Também será coletada um pouco de saliva em um pote plástico. O exame leva aproximadamente 20 minutos, não dói e não causa qualquer problema para a pessoa. Se o paciente não quiser participar deste estudo será feito apenas um exame mais rápido para ver que tipo de tratamento dentário a pessoa precisa. Se o senhor (a) quiser participar, mas durante o exame não gostar de alguma coisa é só falar com o dentista que ele irá parar na mesma hora. O tratamento dentário será realizado mesmo que o (a) senhor (a) não queira participar do estudo.

CUSTO E PAGAMENTO: Não haverá nenhum custo extra para participar deste trabalho. Todo o material necessário será fornecido pelo pesquisador.

SIGILO: Caso você aceite participar deste estudo será feito um cadastro numa ficha que pertence ao responsável pela pesquisa. Será mantido segredo do seu nome e não será divulgado o seu nome em trabalhos apresentados na faculdade, congressos etc.

INDENIZAÇÃO E DANOS: Você deve saber que a coleta do líquido da bochecha e língua com um cotonete de algodão ou da gengiva com uma cone de papel não vai causar nenhum dano a você. Assim, não haverá qualquer tipo de pagamento pelo exame.

CONSENTIMENTO VOLUNTÁRIO: Você deve ter entendido tudo o que leu. Uma cópia deste Termo será entregue para você e outra ficará arquivada com o pesquisador responsável. A assinatura abaixo significa que você concorda em participar deste estudo.

DECLARAÇÃO

Eu, _____, nacionalidade _____, estado civil _____, profissão _____, nascido (a) em ____/____/____, na Cidade de _____, Estado de _____, portador da cédula de identidade número _____, CPF _____, residente e domiciliado em _____.

declaro ter sido inteiramente esclarecido (a) sobre o estudo e ter lido e entendido o termo que estou assinando abaixo.

Assinatura do paciente

Assinatura do responsável

Goiânia, _____ de _____ 200__.

ANEXO

ANEXO A – Declaração do Comitê de Ética em Pesquisa



PRPPG-Pro-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação
Comitê de ética em Pesquisa
Rua Visconde do Rio Branco, 210 Centro Taubaté-SP 12020-040
Tel.: (12) 3625.4143 – 3635.1233 Fax: (12) 3632.2947
cep@unitau.br

DECLARAÇÃO Nº 385/08

Protocolo CEP/UNITAU nº 386/08 (Esse número de registro deverá ser citado pelo pesquisador nas correspondências referentes a este projeto)

Projeto de Pesquisa: *Associação dos níveis de atividade de Arginase Salivar com a severidade da doença Periodontal: Avaliação clínica, microbiológica e imunológica, pré e pós terapia não-cirúrgica*

Pesquisador(a) Responsável: Alexandre Lustosa Pereira

O Comitê de Ética em Pesquisa, em reunião de **08/08/2008**, e no uso das competências definidas na Resolução CNS/MS 196/96, considerou o Projeto acima **aprovado**, após atendimento às pendências.

Taubaté, 28 de agosto de 2008

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Robison Baroni', is written over a horizontal line.

Prof. Robison Baroni

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial desta obra por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Alexandre Lustosa Pereira

Taubaté, Julho de 2009.