UnG
CEPPE
Centro de Pós-Graduação e Pesquisa

**MESTRADO EM ODONTOLOGIA**
**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PERIODONTIA**

***MARCELO DA ROCHA***

# EFEITOS CLÍNICOS E MICROBIOLÓGICOS DA ASSOCIAÇÃO SISTÊMICA DE AZITROMICINA À RASPAGEM E ALISAMENTO RADICULAR EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA PERIODONTAL CRÔNICA GENERALIZADA

Guarulhos
2009

# Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

*MARCELO DA ROCHA*

# EFEITOS CLÍNICOS E MICROBIOLÓGICOS DA ASSOCIAÇÃO SISTÊMICA DE AZITROMICINA À RASPAGEM E ALISAMENTO RADICULAR EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA PERIODONTAL CRÔNICA GENERALIZADA

**Dissertação apresentada à Universidade Guarulhos para obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de Concentração em Periodontia.**

Orientadora: Profa. Dra. Magda Feres

Co-orientadora: Profa. Dra. Luciene C. de Figueiredo

Guarulhos
2009

Rocha, Marcelo da
R672e Efeitos clínicos e microbiológicos da associação sistêmica de azitromicina à raspagem e alisamento radicular em indivíduos com doença periodontal crônica generalizada/ Marcelo da Rocha. Guarulhos, SP, 2009.

62 f. ; 31 cm

Dissertação (Mestrado em Odontologia, área de concentração em Periodontia) - Centro de Pós-Graduação e Pesquisa, Universidade Guarulhos, 2009.

Orientador: Prof. Drª. Magda Feres
Co-orientadora: Profª. Drª. Luciene C. de Figueiredo
Bibliografia: f. 52-58

1. Raspagem e alisamento radicular. 2. Periodontite crônica generalizada. 3. Azitromicina. 4. Tratamento periodontal 5. Odontologia I. Título. II. Universidade Guarulhos.

CDD 22st 617.632

Ficha catalográfica elaborada pela Coordenação da Biblioteca Fernando Gay da Fonseca

UnG

CEPPE

Centro de Pós-Graduação e Pesquisa

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de MESTRADO, intitulada "EFEITOS CLÍNICOS E MICROBIOLÓGICOS DA ASSOCIAÇÃO SISTÊMICA DE AZITROMICINA À RASPAGEM E ALISAMENTO RADICULAR EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA PERIODONTAL CRÔNICA GENERALIZADA" em sessão pública realizada em 30 de Março de 2009, considerou o candidato Marcelo da Rocha aprovado com louvor.

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

**1.** Profa. Dra. Magda Feres (UnG)_____

**2.** Prof. Dr. Sergio Luiz de Souza Salvador (FCFRP-USP) _____

**3.** Prof. Dr. Marcelo de Faveri (UnG)_____

Guarulhos, 30 de Março de 2009.

Dedico este trabalho à minha filha Júlia que é a razão da minha vida, à minha esposa Joana pelo seu amor, dedicação, compreensão e apoio e aos meus pais Misma e José Leopoldo que são meus exemplos de vida, que me educaram e ensinaram a importância da família.

# AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida.

À minha família, Joana e Júlia, pela compreensão da minha ausência durante todo esse período. À Joana pelo seu amor, companheirismo, apoio e por fazer papel de mãe e pai enquanto eu estava fora. À Júlia simplesmente por ela existir e pelo seu sorriso que me motiva a cada dia.

Aos meus pais, Misma e José Leopoldo, pessoas que me educaram com muito amor e sempre me apoiaram nas minhas escolhas. Pelo exemplo que são, como pessoas e como pais sempre valorizando a família e preocupados com o bem estar de todos ao seu redor.

Ao meu irmão, Márcio, pelo companheirismo e amizade que além de irmão é meu melhor amigo . A sua esposa Laura pela sua dedicação a toda a minha família.

Aos meus avós, Marvim e “Mariquinha”, que são exemplos de dedicação a família e que mesmo depois de 60 anos de casados me ensinam a importância do bom humor e do companheirismo para uma vida feliz.

Aos meus avós, Juca (*in memorian*) e Doca (*in memorian*), pessoas que apesar de sua origem simples e humilde foram os melhores mestres que alguém poderia seguir. Seus exemplos estão guardados comigo para sempre.

À minha sogra, Dulceni que nunca se negou a deixar seus afazeres para fazer companhia a minha esposa e cuidar da minha filha em minha ausência.

Ao grande amigo Eduardo Sampaio, que apesar de tê-lo conhecido durante o curso de mestrado se transformou em um irmão e a quem devo parte desse trabalho.

Aos meus amigos que compreenderam meu afastamento durante este período, mas que sempre me apoiaram e ajudam a enfrentar todos os momentos da vida com boas risadas.

À minha orientadora Professora Magda Feres, que demonstrou nesse período o verdadeiro valor de um mestre, guiando seus alunos para o melhor caminho, sempre a disposição para ensinar e resolver qualquer problema. Obrigado pelos ensinamentos.

Ao professor Marcelo de Faveri, que além de mestre e grande pesquisador ajudou-me a trilhar o rumo desta pesquisa tornando-se um grande amigo.

À professora Luciene Figueiredo, que com sua calma e organização transmite seus conhecimentos com muita facilidade.

Aos professores Jamil Shibli e Poliana Duarte, exemplos de mestres e pesquisadores.

Aos professores do Centro de Pós-Graduação da UnG, Marta Bastos, Cláudia Ota, Alessandra Acassoni, Sergio Sato, André Reis, José Augusto Rodrigues e Cézar Arrais que sempre deram o melhor de si para dividir seus conhecimentos.

Aos amigos do curso de mestrado, Marcelão, Eduardo, Kelly, Jô, Vanessa, Datte, Juliana, Geisla e Joyce, pelo convívio amigável e divertido desses anos.

Aos amigos do mestrado em dentística, Perito e Binho, e principalmente aos "pequenos" Vioti e Pena sempre prontos para um *happy hour*.

A acadêmica Eisla, que com muita dedicação colaborou para que esse trabalho fosse realizado com sucesso.

Aos funcionários da Universidade pela atenção durante esse período, principalmente a Cristina Zoucas e a Cínthia Lobo pela dedicação aos alunos.

A Izilvânia Barreto e suas auxiliares que foram as responsáveis pela realização de todo o trabalho laboratorial desse estudo.

Aos acadêmicos Lucas, Priscila e Jadson pela ajuda durante o atendimento aos pacientes.

Aos pacientes que colaboraram para que este trabalho pudesse ser realizado.

# RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos clínicos e microbiológicos da raspagem e alisamento radicular (RAR) isoladamente ou em combinação com azitromicina sistêmica (AZM), no tratamento de indivíduos com periodontite crônica generalizada (PCG). Um estudo duplo-cego, placebo controlado e randomizado foi realizado em 40 indivíduos com PCG. Os indivíduos foram aleatorizados no grupo controle que receberam RAR isoladamente (n=20) ou no grupo teste que receberam RAR em combinação com azitromicina sistêmica (n=20; 500mg; uma vez ao dia durante 5 dias). Todos os indivíduos foram avaliados clinicamente e microbiologicamente no exame inicial e aos 90 dias pós-terapia. Foram avaliados 6 sítios/dente para os parâmetros de profundidade de sondagem (PS), nível de inserção clínico (NIC) e percentual de sítios apresentando placa visível (IPV), sangramento gengival (ISG), sangramento à sondagem (SS) e supuração (S). Nove amostras de biofilme foram coletadas por indivíduo e analisadas para 40 espécies bacterianas por "Checkerboard DNA-DNA Hybridization". Todos os parâmetros clínicos melhoraram após 90 dias em ambos os grupos, sem diferenças significativas entre os grupos terapêuticos. Os dois tratamentos levaram a uma redução significativa na média de contagem e proporção das espécies do complexo vermelho. Entretanto, esta redução foi mais marcante no grupo que utilizou a AZM. O tratamento com antibiótico também reduziu os níveis e proporções de mais espécies individuais do complexo laranja que o grupo controle. Três dos complexos que abrigam espécies compatíveis com saúde aumentaram em proporção no grupo teste (azul, amarelo e roxo), ao passo que somente duas foram afetadas no grupo controle (azul e roxo). A associação de AZM sistêmica a RAR não levou a adicional benefício clínico aos 3 meses pós-tratamento. Entretanto, esta terapia favoreceu uma recolonização com uma microbiota mais benéfica neste período de observação.



**Palavras-chave: Doença Periodontal, periodontite crônica, azitromicina, terapia antibiótica, raspagem e alisamento radicular.**

# ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate the clinical and microbiological effects of scaling and root planning (SRP) alone or in combination with systemic azithromicin (AZM) in the treatment of subjects with generalized chronic periodontitis (GChP) at 90 days post-therapy. A double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial was conducted in 40 subjects with GChP. Subjects were assigned to a control group that received SRP alone (n=20) or to a test group that received SRP combined with systemic azithromicin (AZM, n=20; 500mg once/day for 5 days). All subjects received clinical and microbiological assessments at baseline and 90 days post-therapy. Clinical measurements were performed at 6 sites per tooth for the parameters of probing depth, clinical attachment level visible plaque, gingival bleeding, bleeding on probing and suppuration. Nine biofilm samples were collected per subject and analyzed for 40 bacterial species by checkerboard DNA-DNA hybridization. All clinical parameters improved at 90 days in both groups, without any significant difference between them. The two treatments led to significant reductions in the mean counts and proportions of red complex species However, these reductions were more striking in the AZM group. The antibiotic treatment also reduced the individual levels and proportions of more individual species from the orange complex than the control group. Three of the complexes harboring most of the host-compatible species were increased in proportions in the test group (blue, yellow and purple), whereas only two were affected by the SRP treatment (blue and purple). The association of systemic AZM to SRP did not led to additional clinical benefits at 3 months post-therapy. However, this therapy provided a more beneficial subgingival microbial recolonization at this period of observation.



**Key-words: periodontal disease, chronic periodontits, *azithromicin, antibiotic therapy, scaling and root planning.***

# LISTA DE FIGURAS


Figura 1 Representação gráfica do Minislot 30 (Immunetics, Cambridge, MA, EUA) e resumo da preparação e colocação das amostras de biofilme subgengival na membrana de nylon (técnica *checkerboard* DNA-DNA *hybridization*)..... 31

Figura 2 Representação gráfica do *Miniblotter* 45 (Immunetics, Cambridge, MA, EUA) e resumo das etapas de hibridização e detecção das espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival (técnica *checkerboard DNA-DNA hybridization*)…… 31

Figura 3 Representação esquemática do padrão de hibridização entre as bactérias presentes nas amostras de biofilme e as sondas de DNA (técnica *checkerboard DNA-DNA hybridization*)…….. 32

Figura 4 Média dos parâmetros clínicos avaliados no início do estudo e aos 90 dias pós terapia, nos dois grupos terapêuticos…… 46

Figura 5 Alterações entre o início do estudo e 90 dias após raspagem e alisamento radicular (RAR) nas médias de profundidade de sondagem (PS) e nível de inserção clínico (NIC) para os dois grupos terapêuticos……. 47

Figura 6 Alterações entre o início do estudo e 90 dias após raspagem e alisamento radicular (RAR) nas médias de profundidade de sondagem (PS) e nível de inserção clínico (NIC) nos sítios categorizados por profundidade de sondagem inicial em rasos (PS<4mm), intermediários (PS 4-6mm) e profundos (PS≥7mm)…….. 48

Figura 7 Perfil microbiano das médias de contagem ($x10^5$) das 40 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival no início do estudo e 90 dias pós-terapia, nos dois grupos terapêuticos…… 49

Figura 8 Perfil microbiano das médias de proporção das 40 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival no início do estudo e 90 dias pós-terapia, nos dois grupos terapêuticos..... 50

Figura 9 Proporções dos complexos microbianos presentes nas amostras de biofilme subgengival no início do estudo e 90 dias pós-terapia, nos dois grupos terapêuticos. As áreas dos gráficos foram ajustadas para refletir a quantidade total de microorganismos. As espécies foram agrupadas de acordo com os complexos microbianos descritos por Socransky et al., (1998)..... 51

# LISTA DE TABELAS


| | | |
|---|---|---|
| Tabela 1 | Desenho experimental..... | 23 |
| Tabela 2 | Relação das cepas bacterianas empregadas para a confecção das sondas de DNA. As espécies estão agrupadas por complexos bacterianos..... | 30 |
| Tabela 3 | Índice utilizado para a determinação dos níveis dos microrganismos nas amostras de biofilme subgengival. | 32 |
| Tabela 4 | Média (± DP) dos parâmetros clínicos, e características epidemiológicas, no exame inicial, para os indivíduos dos dois grupos terapêuticos | 36 |
| Tabela 5 | Média (± DP) dos parâmetros clínicos, aos 90 dias pós-terapia, para os indivíduos dos dois grupos. | 36 |

# SUMÁRIO


**1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA** ..... 12
**1.1 Etiologia das doenças periodontais** ..... 12
**1.2 Tratamento periodontal** ..... 14
**1.2.1** Raspagem e alisamento radicular ..... 14
**1.2.2** Azitromicina no tratamento periodontal ..... 15
**2. PROPOSIÇÃO** ..... 20
**3. MATERIAL E MÉTODOS** ..... 21
**3.1 Cálculo da potência** ..... 21
**3.2 Seleção de indivíduos** ..... 21
**3.3 Critérios de inclusão e exclusão** ..... 22
**3.4 Delineamento experimental** ..... 22
**3.5 Avaliação clínico periodontal** ..... 23
**3.5.1** Calibração dos examinadores ..... 23
**3.5.2** Exame clínico ..... 24
**3.6 Procedimentos terapêuticos** ..... 25
**3.6.1** Terapia periodontal básica ..... 25
**3.6.2** Administração de azitromicina sistêmica e placebo ..... 25
**3.7 Avaliação microbiológica** ..... 25
**3.7.1** Seleção dos sítios teste para análise microbiológica ..... 25
**3.7.2** Coleta de amostras de biofilme subgengival ..... 26
**3.7.3** Cepas bacterianas e condições de crescimento ..... 26
**3.7.4** Isolamento do DNA e preparo das sondas ..... 27
**3.7.5** *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* ..... 27
**3.8 Análise estatística** ..... 33
**3.8.1** Dados clínicos ..... 33
**3.8.2** Dados microbiológicos ..... 33
**4. RESULTADOS** ..... 35

**4.1 Resultados clínico-periodontais**..... 35
**4.2 Resultados microbiológicos**..... 37
**5. DISCUSSÃO**..... 39
**5.1 Aspectos clínico-periodontais**..... 40
**5.2 Aspectos microbiológicos**..... 42
**5.3 Considerações finais**..... 44
**6. CONCLUSÃO**..... 45
**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**..... 52
**ANEXOS**..... 59

# 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

## 1.1 Etiologia das doenças periodontais

A periodontite crônica é uma doença infecciosa que acomete o periodonto de proteção e sustentação dos dentes, causando uma perda progressiva de inserção, de tecido ósseo e, eventualmente, do elemento dentário (AAP, 1999). Em relação à microbiota associada a essas infecções, já está bem estabelecido na literatura que a gengivite é decorrente do acúmulo indiferenciado de bactérias na margem gengival, enquanto que as doenças periodontais estão associadas ao aumento nos níveis e proporções de bactérias específicas. Esse caráter infeccioso específico das periodontites foi sugerido na década de 1980. Löe et al. (1978, 1986) realizaram estudos em uma população não tratada de plantadores de chá do Sri Lanka. Os autores observaram 480 indivíduos durante 15 anos e demonstraram que 11% destes indivíduos, independente da presença massiva de depósitos de placa dental, não apresentavam progressão da doença periodontal, sugerindo que perda de inserção periodontal está associada não somente à quantidade de biofilme, mas, principalmente, à sua composição.

Posteriormente, Socransky & Haffajee (1994) demonstraram que o perfil microbiológico difere entre os pacientes saudáveis e aqueles com doença periodontal e que os microorganismos se organizam em um sistema complexo denominado biofilme. Os indivíduos saudáveis apresentam um biofilme com altas proporções de microorganismos ou grupos de microorganismos compatíveis com o hospedeiro, que estão mais associados à saúde periodontal, enquanto que os indivíduos com periodontite apresentam uma microbiota aonde prevalecem espécies patogênicas que são responsáveis pelo início e a progressão da perda de inserção periodontal. A relação entre os patógenos periodontais e o seu “habitat” também é fundamental no início e progressão da doença. Algumas bactérias conseguem alterar o ecossistema subgengival, favorecendo a colonização de outros microorganismos mais virulentos, levando ao estabelecimento de um biofilme cada vez mais complexo (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 1994). Outro fator que interfere diretamente na progressão da doença periodontal é a capacidade do hospedeiro em combater os patógenos periodontais. Isto foi demonstrado em uma pesquisa com 48 indivíduos com doença periodontal crônica. Foram coletadas amostras de soro e

placa bacteriana subgengival. O nível de anticorpos no soro para *Porphyromonas gingivalis* foi determinado pelo teste ELISA, enquanto que a quantidade de *P. gingivalis* na placa subgengival foi determinado usando a técnica de cultura. Foi demonstrada uma relação inversamente proporcional entre esses dois parâmetros, isto é, altos níveis de anticorpos para *P. gingivalis* estavam associados com quantidades reduzidas desta espécie no ambiente subgengival. Esses dados sugerem que a reação imunológica de defesa do hospedeiro ajuda a limitar a progressão da doença (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2005).

Mesmo após o estabelecimento do conceito da "Hipótese da Placa Específica" (LOESCHE, 1976), dificuldades em se cultivar diferentes patógenos periodontais, principalmente as espécies anaeróbias estritas, atrasaram sobremaneira os estudos microbiológicos de maior porte em periodontia. O desenvolvimento de técnicas imunológicas e de biologia molecular permitiu a detecção mais precisa das espécies bacterianas que compõem os biofilmes orais e começou a se estabelecer a relação dos diferentes perfis microbianos com as diversas formas de periodontite (CHRISTERSSON et al., 1987; SOCRANSKY et al*.,* 1988; WATANABE & FROMMEL, 1993; SOCRANSKY & HAFFAJEE et al., 1994b; ÁVILA-CAMPOS et al., 1999; GOMES et al., 2006; FAVERI et al., 2008). A maior vantagem dessas técnicas é a possibilidade de detecção de espécies difíceis de serem identificadas pelos métodos tradicionais de diagnóstico, como a cultura bacteriana. Esse seria o caso de espécies como a *Tannerella forsythia* e as espiroquetas. Socransky et al. (1994) descreveram a técnica do *Checkerboard DNA-DNA hybridization* para diagnóstico microbiológico, que utiliza sondas de ácido desoxirribonucléico (DNA) para identificação bacteriana. Esse mesmo grupo de pesquisadores utilizou essa técnica de diagnóstico para avaliar as associações entre 40 espécies bacterianas presentes em 13.261 amostras de biofilme subgengival de 185 indivíduos (160 com periodontite e 25 saudáveis) (SOCRANSKY et al*.,* 1998). Os autores descreveram cinco complexos bacterianos principais nas amostras de biofilme subgengival desses indivíduos. Um deles, denominado complexo vermelho, era composto pelas espécies *T. forsythia, P. gingivalis e Treponema denticola*, e foi fortemente relacionado com profundidade de sondagem (PS) e sangramento à sondagem (SS). Outro grupo, denominado complexo laranja, que parece preceder a colonização do complexo vermelho, foi dividido em dois subgrupos: um central, composto por *Fusobacterium nucleatum, Fusobacterium periodonticum, Prevotella*

*intermedia, Prevotella nigrescens* e *Parvimonas micra*; e outro grupo periférico, formado por *Eubacterium nodatum, Campylobacter rectus, Campylobacter showae, Campylobacter gracili* e *Streptococcus constellatus.* Os outros 3 complexos, denominados amarelo, verde e roxo demonstraram grande associação entre si e menor associação com os dois primeiros, e são compostos por diversas espécies consideradas compatíveis com o hospedeiro. O complexo verde é formado por *Capnocytophaga sputigena*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Capnocytophaga ochracea, Eikenella corrodens* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sorotipo a. O complexo amarelo é composto por um grupo de estreptococos: *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus gordonii e Streptococcus intermedius;* e o complexo roxo inclui *Actinomyces odontolyticus* e *Veillonella parvula*. As espécies de S*elenomonas noxia* e *A. actinomycetencomitans* sorotipo b não se correlacionaram com outras espécies. Posteriormente, algumas espécies de actinomicetos (*Actinomyces gerencseriae*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces naeslundii* sorotipos 1 e 2) foram agrupadas no complexo azul (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2002).

## 1.2 Tratamento periodontal

### 1.2.1 Raspagem e alisamento radicular

Já está bem determinado na literatura que os principais objetivos da terapia periodontal são reduzir profundidade de sondagem, sangramento à sondagem e supuração, além de promover um ganho no nível de inserção clínica. Esses objetivos clínicos são alcançados quando os níveis, proporções e percentual dos sítios colonizados por patógenos periodontais do complexo laranja, e principalmente do complexo vermelho são efetivamente reduzidos após a terapia e uma nova comunidade bacteriana com maiores proporções de bactérias compatíveis com saúde é estabelecida na cavidade oral (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2005; TELES et al., 2006).

A raspagem e alisamento radicular (RAR) é uma das terapias periodontais mais comumente utilizadas (BADERSTEN et al., 1981, 1984; COBB, 2002; CARVALHO et al., 2004). Este procedimento visa a remoção de microorganismos, cálculo, cemento e dentina contaminados do ambiente subgengival, de maneira a

transformá-lo em um ambiente compatível com saúde periodontal. A RAR proporciona melhora nos parâmetros clínicos da doença periodontal (para revisão, ver Van der Weijden et al., 2002). Porém, o efeito deste procedimento na alteração do perfil microbiológico subgengival é muitas vezes limitado. Haffajee et al. (1997) trataram 57 indivíduos com periodontite crônica por meio de RAR e fizeram acompanhamento clínico e microbiológico por 3, 6 e 9 meses após o tratamento. Os autores observaram redução nos níveis médios e na porcentagem de sítios colonizados após a terapia em apenas 3 espécies bacterianas, *T. forsythia*, *T. denticola* e *P. gingivalis*. Aos 12 meses pós-terapia essas alterações foram mantidas (Cugini et al. 2000). Esse e outros estudos realizados em diferentes populações (Colombo et al., 2002; Carvalho et al., 2005) sugerem que a RAR não proporciona, em todos os casos de doença periodontal, a eliminação ou a redução dos patógenos a níveis compatíveis com saúde periodontal por períodos prolongados de tempo. Assim, a associação de outras terapias à RAR têm sido sugerida no tratamento periodontal, como o controle sistemático profissional da placa supragengival (XIMÉNEZ-FYVIE et al., 2000; CARVALHO et al., 2004, 2005), ou o controle químico por meio do digluconato de clorexidina 0,12% (FAVERI et al., 2006; QUIRYNEN et al., 2006; FERES et al. 2009), e a utilização de antibióticos sistêmicos (HERRERA et al., 2002; HAFFAJEE et al., 2003; HERRERA et al., 2008).

### 1.2.2 Azitromicina no tratamento periodontal

Diversos antibióticos sistêmicos têm sido utilizados com sucesso em combinação com à RAR no tratamento da doença periodontal crônica, como o metronidazol (GUSBERTI et al., 1988; LOESCHE et al., 1992; WINKEL et al., 1997; SÖDER et al., 1999; FERES et al., 2001; CARVALHO et al., 2004, 2005; HAFFAJEE et al., 2007, 2008), a tetraciclina (HAFFAJEE et al., 1995; RODRIGUES et al., 2004), a amoxicilina (FERES et al., 2001; ROONEY et al., 2002), a doxaciclina (FERES et al., 1999) e algumas associações, como amoxicilina e o metronidazol (Van WINKELHOFF et al., 1996; BERGLUNDH et al., 1998; WINKEL et al., 1998; SERINO et al., 2001; WINKEL et al., 2001; ROONEY et al., 2002; PAHKLA et al., 2006; MOEINTAGHAVI et al., 2007, MATARAZZO et al., 2008). Mais recentemente, a azitromicina também tem sido utilizada com relativo sucesso no tratamento da periodontite agressiva (HAAS et al., 2008) e crônica (SEFTON et al., 1996; SMITH et

al., 2002; HAFFAJEE et al., 2007, 2008; GOMI et al., 2007). Além disso, esse antibiótico já é utilizado com sucesso em odontologia para o tratamento de hiperplasia gengival induzida pela ciclosporina, uma droga normalmente utilizada por indivíduos que receberam transplante de órgãos (TORGÖZ et al., 2004; RAMALHO et al., 2007). Esses resultados mostraram-se superiores aos observados com outros antibióticos sistêmicos, como o metronidazol (CHAND et al., 2004).

A azitromicina é o primeiro membro de uma classe de antibióticos denominada azalídeos, que é derivada dos macrolídeos. É um antibiótico semi-sintético que difere da eritromicina pela substituição de um grupo metil por um nitrogênio na posição 9a de sua estrutura. A inserção deste nitrogênio distingue a azitromicina dos macrolídeos e esta diferença melhora a estabilidade ácida tornando-a mais biodisponível via oral em comparação à eritromicina (HOEPELMAN et al., 1995). O mecanismo de ação da azitromicina é o mesmo dos macrolídeos. Ela atravessa a parede celular e se liga à sub-unidade 50S do ribossomo, interferindo na síntese de polipeptídeos bacterianos, tendo assim uma ação bacteriostática. A azitromicina é rapidamente absorvida por células como os leucócitos, monócitos, macrófagos e fibroblastos, e distribuída para os tecidos, mantendo uma concentração de 10 a 100 vezes maior nos tecidos do que no soro (HOEPELMAN et al., 1995). Pelo fato de ser transportada por células fagocitárias a azitromicina é rapidamente levada aos sítios que apresentam infecção e inflamação (HOEPELMAN et al., 1995). Esse mecanismo foi também comprovado nos sítios com lesões periodontais (BLANDIZZI et al., 1999; GOMI et al., 2007). A captação de azitromicina pelos macrófagos e leucócitos ocorre por até 24 horas, diferentemente da eritromicina que ocorre somente nos primeiros 30 minutos. Isso determina uma concentração intracelular de azitromicina até 10 vezes maior que a de eritromicina. Outro ponto importante é que a liberação deste antibiótico pelos macrófagos e fibroblastos ocorre lentamente, aumentando a sua meia-vida (GLADUE et al., 1989, 1990). Essas propriedades farmacocinéticas, como boa absorção e a concomitante liberação lenta diretamente no sítio da infecção, permitem a administração da azitromicina por períodos curtos de tempo, o que facilita sobremaneira a adesão do paciente ao tratamento. A posologia normalmente recomendada para essa droga na literatura médica é um comprimido de 500 mg por 3 a 5 dias. Isso facilita a colaboração do paciente e representa uma grande vantagem da azitromicina em relação a outros antibióticos normalmente utilizados em periodontia, como a

combinação de metronidazol e amoxicilina, que é normalmente administrada de 7 a 10 dias em dosagens diárias de até 3g total, das duas drogas, ao dia.

A concentração de azitromicina no fluido gengival foi estudada por Gomi et al. (2007). Utilizando um protocolo de 500mg uma vez ao dia durante 3 dias, os autores avaliaram a concentração deste antibiótico nos tecidos ao redor de bolsas periodontais de indivíduos com periodontite crônica. Foi encontrada uma concentração tecidual de 2,92 +/- 1,88 μg/g no quarto dia após o início do tratamento com azitromicina; 1,47 +/- 0,71 μg/g no sétimo dia e de 0,54 +/- 0,27 μg/g no décimo quarto dia pós-terapia, nos tecidos ao redor das bolsas periodontais. Durante este período de avaliação as concentrações teciduais de azitromicina ficaram acima da concentração inibitória mínima (MIC) para *P. intermedia* e *A. actinomycetemcomitans* por 14 dias, e para *P. gingivalis* por 7 dias.

O uso da azitromicina sistêmica no tratamento da doença periodontal crônica concomitante à RAR foi estudado em indivíduos não-fumantes (SEFTON et al., 1996; SMITH et al., 2002; GOMI et al., 2007a ; HAFFAJEE et al., 2007, 2008) e fumantes (MASCARENHAS et al., 2005), assim como na periodontite agressiva (HAAS et al., 2008). Em geral, esses autores observaram uma maior redução na média de PS e NIC nos sítios moderados e profundos e melhores resultados microbiológicos com o uso do antibiótico. Sefton et al. (1996) trataram 46 pacientes com doença periodontal crônica que foram divididos em dois grupos terapêuticos, um que recebeu RAR associada à azitromicina sistêmica e outro RAR associada à medicação placebo. O grupo teste demonstrou uma maior tendência na redução da média de unidades formadoras de colônias (UFC) de pigmentação negra (BPR); porém, sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos. A *P. gingivalis* sofreu uma redução significativa no grupo teste comparada ao grupo controle na décima semana após as terapias, mas essa diferença não foi mantida até a vigésima segunda semana de avaliação. Já a proporção de espiroquetas estava significativamente menor no grupo teste do que no controle em 3, 6, 10 e 22 semanas pós-terapia. Em relação aos resultados clínicos, que foram posteriormente publicados por Smith et al. (2002), o grupo que tomou AZM mostrou uma tendência a reduções mais profundas na média de boca toda para os parâmetros de PS e NIC. Além disso, os indivíduos do grupo teste apresentaram uma maior redução no percentual de bolsas ≥ 4mm durante o período do estudo. Outro trabalho que demonstrou o benefício da azitromicina adjunto à RAR foi publicado por Gomi et al.

(2007). Os autores compararam o protocolo de “desinfecção de boca toda” associado à ingestão prévia de azitromicina, com a terapia de RAR convencional realizada por quadrantes. Houve uma redução significativa na profundidade de sondagem no grupo teste, quando comparada ao grupo controle nas semanas 13 e 25 pós-terapia. A avaliação microbiológica foi realizada por meio de cultura para a contagem do número total de bactérias das amostras e da proporção de BPR. Foi também utilizado o teste de PCR para identificar seis bactérias periodontopatogênicas. BPR, *T. forsythia, T. denticola, P. gingivalis, A. actinomycetencomitans, P. intermedia e P. nigrescens* não foram detectadas nas semanas 2, 5 e 13 pós-terapia no grupo teste; porém houve detecção dessas espécies e colônias no grupo controle. Apenas o *A. actinomycetencomitans* não foi detectado no grupo controle nas sessões de reavaliação.

Apesar de que os dois estudos mencionados acima observaram os efeitos da azitromicina sistêmica em alguns patógenos periodontais, existe uma grande carência na literatura sobre os efeitos deste antibiótico no perfil microbiano subgengival, ou seja, nos níveis e proporções de patógenos periodontais e de espécies bacterianas compatíveis com o hospedeiro. Sabe-se que esse tipo de avaliação é fundamental para se definir com mais segurança o verdadeiro papel de diversos antibióticos sistêmicos na terapia periodontal. Ao nosso conhecimento o único estudo que avaliou os efeitos desse antibiótico no perfil microbiológico subgengival de pacientes com periodontite crônica foi recentemente publicado por Haffajee et al. (2008). Os autores compararam quatro tratamentos periodontais: a RAR somente ou em combinação com três antibióticos sistêmicos (azitromicina, metronidazol e doxaciclina de baixa dosagem). Os grupos que utilizaram RAR + metronidazol e RAR + azitromicina apresentaram resultados melhores do que a RAR somente. Duas semanas após a RAR os indivíduos que tomaram AZM mostraram alterações mais benéficas do que o grupo de RAR na composição da microbiota subgengival, como a redução significativa de todas as espécies do complexo vermelho e de cinco espécies do complexo laranja. Um ano após os tratamentos foi observada uma melhora discreta nos parâmetros clínicos da azitromicina sistêmica sobre a RAR (Haffajee et al., 2007). Os autores ressaltaram que esses benefícios modestos podem ter ocorrido pelo fato dos pacientes que participaram do estudo apresentarem doença periodontal de leve a moderada. Uma vez que as maiores vantagens dos antibióticos sistêmicos são observadas em pacientes com doença

periodontal mais avançada (HERRERA et al., 2002; HAFFAJEE et al., 2003), seria importante estudar os benefícios da azitromicina nesses indivíduos.

## 2. PROPOSIÇÃO

Avaliar os efeitos clínicos e microbiológicos da azitromicina de uso sistêmico no tratamento de indivíduos com doença periodontal crônica generalizada.

# 3. MATERIAL E MÉTODOS

## 3.1 Cálculo da potência

O tamanho amostral ideal para garantir uma potência adequada a esse estudo clínico controlado foi calculado com base nos seguintes parâmetros: a) Clínico: diferenças de pelo menos 1 mm no NIC entre os grupos experimentais para sítios com PS > 6 mm. O desvio padrão estabelecido para essas alterações foi de 1,0 mm; b) Microbiológico: diferenças de pelo menos 3.5% na proporção de complexo vermelho entre os grupos experimentais. O desvio padrão estabelecido foi de 3.4%.

Os desvios padrões clínico e microbiológico foram estabelecidos com base em estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa (FERES et al., 1999 e 2001; FAVERI et al., 2006; MATARAZZO et al., 2008, FERES et al., 2009) e foi utilizado $\alpha$=0,05. Foi encontrada uma potência superior a 80% para uma amostragem de 15 pacientes, tanto para a variável clínica quanto para a microbiológica. Considerando-se uma média de desistência de aproximadamente 20%, optou-se por incluir 20 indivíduos por grupo.

## 3.2 Seleção de indivíduos

Quarenta indivíduos com evidências de doença periodontal crônica foram selecionados na Clínica Odontológica da Universidade Guarulhos. Todos os participantes em potencial foram informados dos objetivos do estudo, seus riscos e benefícios, incluindo os tipos de medições clínicas que foram realizadas, a forma pela qual as amostras de placa subgengival foram coletadas e as duas modalidades terapêuticas que foram empregadas. Os indivíduos que concordaram em participar do estudo responderam os questionários médico e odontológico e assinaram um formulário de consentimento livre e esclarecido (ANEXO B). O indivíduo recebeu uma cópia do formulário de consentimento. O protocolo desse estudo foi aprovado pelo comitê de ética e pesquisa da Universidade Guarulhos (UnG).

### 3.3 Critérios de inclusão e exclusão

Todos os indivíduos tinham mais de 30 anos de idade, com um mínimo de 15 dentes presentes e pelo menos cinco sítios com PS e/ou NIC ≥ 6 mm. Os critérios de exclusão foram: indivíduos alérgicos a azitromicina (AZM) e similares; gestantes; lactantes; indivíduos com doenças sistêmicas que possam alterar a progressão ou tratamento das infecções periodontais (por exemplo, diabetes, AIDS, etc.); indivíduos com condições sistêmicas que necessitem de cobertura antibiótica para procedimentos periodontais de rotina (por exemplo, febre reumática, próteses cardíacas, etc.); e indivíduos que tenham recebido terapia periodontal ou feito uso de antibiótico ou soluções anti-sépticas orais nos últimos 6 meses.

### 3.4 Delineamento experimental

Os indivíduos foram selecionados e aleatoriamente distribuídos em um dos dois grupos terapêuticos. Cada grupo incluiu 20 indivíduos. O Grupo controle recebeu apenas RAR e o Grupo teste RAR em combinação com a AZM sistêmica na dosagem de 500mg, uma vez ao dia, por 5 dias (HENRY et al., 2003).

Inicialmente todos os indivíduos receberam monitoramento clínico e microbiológico seguindo o protocolo especificado nos itens 3.5 e 3.7 (avaliação clínico periodontal e avaliação microbiológica), seguidos de RAR e instruções de higiene oral (IHO). A terapia básica de raspagem foi finalizada em no máximo 14 dias. Neste dia os dois grupos iniciaram a ingestão do medicamento, sendo o grupo controle placebo e o grupo teste a terapia antibiótica. Noventa dias após o término da RAR todos os indivíduos foram monitorados novamente clínica e microbiologicamente e receberam manutenção profissional que incluiu RAR e instruções de higiene oral (Tabela 1).

**Tabela 1.** Desenho experimental

| | | Inicial dia (-14) | Dia 0 | Dia 5 | Dia 90 |
|---|---|---|---|---|---|
| Pacientes | Placebo n=20 | Ex. clínico Coleta Microb. IHO RAR | Início terapia antibiótica | Término terapia antibiótica | Coleta Microb. Ex. clínico Manutenção |
| | Azitromicina n=20 | | | | |

## 3.5 Avaliação clínico-periodontal

### 3.5.1 Calibração dos examinadores

A metodologia utilizada para a calibração dos examinadores foi similar àquela empregada por Araújo et al. (2003), onde as mensurações clínicas foram realizadas em apenas um quadrante, o superior direito (quadrante 1). Os exames clínicos foram realizados por dois examinadores diferentes, em duas seqüências, realizadas no mesmo dia. Na primeira seqüência, o exame clínico foi realizado pelo examinador “A”, e após 10 minutos o examinador “B” realizou o exame, no mesmo quadrante, do mesmo indivíduo. Um intervalo de 30 minutos foi estabelecido para que a segunda etapa de mensurações fossem realizadas. Nesta segunda etapa o mesmo protocolo foi usado, e o mesmo quadrante examinado, enquanto que as mensurações seguiram uma ordem inversa quanto ao examinador “A” e “B”, para diluir possíveis erros devido à ordem de sondagem.

As avaliações clínicas foram realizadas utilizando-se sondas periodontais manuais (PC15-BR – HU-FRIEDY®) para as medições de PS e NIC. Foram avaliados seis sítios por dente (mesio-vestibular, vestibular, disto-vestibular, mesio-lingual, lingual, disto-lingual). Todas as mensurações clínicas foram realizadas no mesmo momento, conforme supracitado. Os dados obtidos nos exames clínicos periodontais foram anotados em fichas clínicas elaboradas para tal finalidade e analisados com o programa Microsoft Excel.

A variabilidade intra e inter-examinadores foi calculada utilizando as médias do erro padrão das medidas (e.p.m.) dos operadores. O cálculo para o e.p.m. foi feito por meio da raiz quadrada da variabilidade do sítio específico, que foi calculada pela divisão da soma da diferença entre duas medidas elevada ao quadrado, dividida pelo número de pares de mensuração, da seguinte forma: e.p.m.

$= \sqrt{(\Sigma D^2 / 2N)}$; (onde D=Diferença entre os dois valores médios para cada dente por sujeito entre examinadores, e N=Número de sujeitos). A variabilidade intra-examinadores foi determinada por valores de medida do mesmo examinador em duas ocasiões diferentes.

A variabilidade entre examinadores foi determinada pela diferença obtida por dois examinadores na mesma ocasião, com intervalos de 10 minutos, a um nível de significância de 95%.

Após todos os cálculos realizados a variabilidade inter-examinadores foi de 0,25 mm para PS e de 0,29 mm para NIC. Já a média intra-examinadores foi de 0,22 mm para PS e 0,27 mm para NIC para o primeiro examinador (M.R.); e para o segundo examinador (E.M.S.) foi de 0,23 mm para PS e 0,26 mm para NIC. Sendo assim, o erro padrão da medida foi inferior a 0,5mm.

### 3.5.2 Exame clínico

Para realização do exame clínico periodontal foram utilizados espelho plano n°5 (Duflex®), pinça para algodão (Duflex®) e sonda periodontal milimetrada Carolina do Norte (PC15-BR – HU-FRIEDY®). Na primeira visita, medições clínicas foram executadas em seis sítios por dente (mesio-vestibular, vestibular, disto-vestibular, mesio-lingual, lingual, disto-lingual) em todos os dentes da arcada excluindo-se os terceiros molares. As medições foram registradas na ficha de exame periodontal. Os parâmetros clínicos avaliados incluiram: PS (mm) e NIC (mm), presença (1) ou ausência (0) de placa supragengival visível, de sangramento gengival, de sangramento à sondagem, de supuração (HAFFAJEE et al., 1997). Todas as medições clínicas foram repetidas nos dia 0 e dia 90.

## 3.6 Procedimentos terapêuticos

### 3.6.1 Terapia periodontal básica

Após o registro das medidas clínicas, todos os indivíduos receberam IHO e sessões de RAR com curetas Gracey, número 5/6; 7/8; 11/12 e 13/14 (Hu-Friedy®, Chicago) sob anestesia local (HAFFAJEE et al., 1997). As sessões de RAR tiveram uma duração de aproximadamente uma hora e foram realizadas em um período de no máximo 14 dias.

As demais necessidades de tratamento odontológico, quando observadas, foram encaminhadas às demais disciplinas da Clínica Odontológica da Universidade Guarulhos.

### 3.6.2 Administração de azitromicina sistêmica e placebo

Indivíduos do grupo teste receberam RAR combinados à administração de 500mg/dia de AZM por via oral (dose única diária) durante 5 dias, iniciada ao final da terapia periodontal básica. O antibiótico foi gratuitamente fornecido aos indivíduos. Os indivíduos foram monitorados quanto às reações adversas da medicação e para controle da cooperação na ingestão da droga nos intervalos pré-determinados. Os indivíduos do grupo controle receberam comprimidos de placebo (talco farmacêutico) e foram orientados para seguirem o mesmo regime dos indivíduos que tomaram a AZM (dose única diária).

## 3.7 Avaliação microbiológica

### 3.7.1 Seleção dos sítios teste para análise microbiológica

Em cada grupo, foram selecionados 9 sítios não adjacentes com profundidades de bolsa e/ou nível de inserção < 4mm (3 sítios), 4 a 6mm (3 sítios) e > 6mm (3 sítios). Amostras de placa subgengival foram coletadas destes sítios antes da terapia periodontal básica (Consulta Inicial), e 90 dias após o término da RAR.

### 3.7.2 Coleta de amostras de biofilme subgengival

A coleta das amostras de biofilme dos sítios selecionados foi realizada sempre após às medições clínicas. Após a remoção de cálculo e biofilme supragengivais, as amostras foram retiradas com curetas Gracey do tipo minifive 11-12 estéreis, posicionadas na porção mais apical dos sítios e em um único golpe de raspagem no sentido ápico-coronal. As amostras foram imediatamente depositadas em tubos plásticos individuais contendo 150µL de solução tampão TE 10 mM Tris-HCL (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, EUA), 1 mM EDTA (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, SP, Brasil), pH 7,6, e a estas foi acrescentado 100µL de NaOH (Labsynth) a 0,5M para que o DNA bacteriano permanecesse viável por um longo período de tempo. Esses tubos plásticos foram previamente identificados com o código do indivíduo, data e sítio, e após a coleta foram armazenados sob refrigeração a -20ºC até as amostras serem analisadas por meio da técnica do *checkerboard DNA-DNA hybridization* para 40 cepas bacterianas no Laboratório de Pesquisa em Odontologia II da UnG.

### 3.7.3 Cepas bacterianas e condições de crescimento

A lista das 40 cepas bacterianas utilizadas neste estudo para o preparo das sondas de DNA está apresentada na Tabela 2. Todas as cepas foram adquiridas liofilizadas da ATCC (Americam Type Culture Collection, Rockville, MD, EUA) ou do Forsyth Institute (Boston, MA, EUA). O conteúdo liofilizado foi reidratado em caldo para crescimento de *Mycoplasma* (Difco Laboratories, Detroit, MI, EUA) e cultivado em ágar-triptose de soja (Difco) contendo 5% de sangue desfibrinado de ovelha (BBL, Baltimore Biological Laboratories, Cockeysville, MD, EUA) a 35ºC sob condição de anaerobiose (80% $N_2$, 10% $CO_2$, 10% $H_2$). Algumas bactérias foram cultivadas em meios de cultura enriquecidos de forma a suprir suas necessidades nutricionais. *T. forsythia*, por exemplo, foi cultivada em ágar-triptose de soja com 5% de sangue desfibrilado de ovelha e 10 µg/mL de ácido N-acetil murâmico (NAM) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA); enquanto *P. gingivalis* cresceu em um meio similar, suplementado com 5% de sangue desfibrilado de ovelha, 0,3 µg/mL de menadiona (Sigma) e 5 µg/mL de hemina (Sigma). As espécies *T. denticola* e *Treponema socranskii* foram cultivados em caldo para crescimento de *Mycoplasma* suplementado com 1 mg/mL de glicose (Sigma), 400 µg/mL de niacinamida (Sigma), 150 µg/mL de espermina tetraidroclorídrica (Sigma), 20 µg/mL de isobutirato de

sódio (ICN, Costa Mesa, CA, EUA), 1 mg/mL de L-cisteína (Sigma), 5 µg/mL de tiamina pirofosfato (Sigma) e 0,5% de soro bovino (Laborclin, São José dos Pinhais, PR, Brasil).

### 3.7.4 Isolamento do DNA e preparo das sondas

As cepas bacterianas foram cultivadas anaerobicamente na superfície de ágar-sangue, com exceção das duas espécies de espiroquetas, que foram cultivadas em caldo, por 3 a 7 dias. As colônias foram raspadas e depositadas em tubos plásticos para microcentrífuga de 1,5mL contendo 1mL de solução TE (pH 7,6). As células foram lavadas duas vezes por centrifugação na solução-tampão de TE a 3.500xg por 10 minutos. Em seguida, as cepas Gram-negativas foram novamente suspensas e lisadas com SDS (dodecilsulfato de sódio, $C_{12}H_{25}NaO_4S$, Labsynth) a 10% e proteinase K (Sigma) em uma concentração de 20mg/mL. As cepas de bactérias Gram-positivas foram lisadas em 150µL de uma mistura enzimática contendo 15mg/mL de lisozima (Sigma) e 5mg/mL de acromopeptidase (Sigma) em solução tampão TE (pH 8,0). O DNA foi isolado e purificado como descrito por Smith *et al*. (1989). As sondas genômicas foram preparadas para cada uma das 40 espécies pela marcação de 1µg do DNA bacteriano com digoxigenina, por meio do *random primer digoxigenin labeling kit* (Roche Diagnostics, Indianápolis, IN, EUA), de acordo com o método descrito por Feinberg & Vogelstein (1983). As espécies avaliadas foram selecionadas segundo suas associações com diferentes tipos de doenças ou saúde periodontal (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 1994; SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2005).

### *3.7.5 Checkerboard DNA-DNA Hybridization*

As suspensões de biofilme subgengival foram fervidas em banho-maria por 10 minutos e, em seguida, neutralizadas pela adição de 0,8 ml de acetato de amônio a 5M. Cada suspensão de biofilme dental contendo o DNA livre foi depositada em uma das canaletas do *Minislot* 30 (Immunetics, Cambridge, MA, EUA – Figura 1) e transferida para a membrana de *nylon* (15 x 15 cm) com carga positiva (Amersham Biosciences UK Limited, Buckinghamshire, Inglaterra). As duas últimas das 30 canaletas do *Minislot* foram ocupadas por controles contendo uma mistura

das espécies de microrganismos investigados pelas sondas, nas concentrações correspondentes a $10^5$ e $10^6$ células, ou seja, 1 ηg e 10 ηg de DNA de cada espécie, respectivamente (HAFFAJEE et al., 1997). A membrana foi removida do Minislot 30 e o DNA nela concentrado foi fixado por aquecimento em forno a 120℃ por 20 min. A membrana foi pré-hibridizada a 42°C, por 1 hora, em uma solução contendo 50% formamida (Vetec Química Fina Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), 1% caseína (Vetec), 5 x solução salina citratada (SSC) (1 x SSC= 150mM NaCl (Vetec), 15M de citrato de sódio (J.T.Baker, Edo. de Méx., México) , pH 7,0, 25mM de fosfato de sódio ($Na_2HPO_4$, Labsynth) pH 6,5 e 0,5 mg/mL de RNA de levedura (Sigma). Em seguida, a membrana foi posicionada no *Miniblotter* 45 (Immunetics, Cambridge, MA, EUA – Figura 2) com as linhas contendo o DNA das amostras e dos controles posicionadas perpendicularmente às canaletas do aparato. Em cada canaleta do *Miniblotter* 45 foi adicionada uma sonda de DNA, diluída a aproximadamente 20 ηg/mL, em 130 µL de solução de hibridização composta de 45% formamida, 5 x SSC, 20mM de $Na_2HPO_4$ (pH 6,5), 0,2 mg/ml de RNA de levedura, 10% de sulfato de dextrano (Amersham) e 1% caseína. A hibridização ocorreu dentro de um período mínimo de 20 horas, a 42°C.

Após o período de hibridização, a membrana foi removida do *Miniblotter* 45 (Immunetcs), lavada por 40 minutos a 65ºC numa solução adstringente composta por 1% de SDS, 1mM de EDTA e 20mM de $Na_2HPO_4$, a fim de remover sondas que não hibridizaram completamente. Em seguida, a membrana foi imersa por 1 hora em uma solução contendo 1% de ácido maleico ($C_4H_4O_4$, Vetec), 3M NaCl, 0,2M NaOH (Labsynth), 0,3% Tween 20 (Vetec), 0,5% caseína, pH 8,0, e, logo após, por 30 minutos, na mesma solução contendo o anticorpo anti-digoxigenina conjugado à fosfatase alcalina (Roche) em uma concentração de 1:10.000. A membrana foi, então, lavada duas vezes, por 20 minutos, em uma solução de 0,1M de ácido maleico, 3M de NaCL, 0,2M de NaOH, 0,3% de Tween 20, pH 8,0, e 1 vez, por 5 minutos, em uma solução de 0,1M de Tris HCl, 0,1M de NaCl, pH 9,5.

Para a detecção dos sinais a membrana foi incubada por 45 minutos a 37℃ em uma solução detectora contendo substrato para fosfatase alcalina, *CDP-Star™ Detection Reagent* (Amersham). Em seguida, a membrana foi colocada em um cassete, Chassi Radiográfico 30 x 40 cm (Konex, São Paulo, SP, Brasil), sob um filme radiográfico 18 x 24 cm (Agfa Gevaert, NV, Bélgica) por aproximadamente 40 minutos. O filme foi posteriormente revelado (Figura 3) manualmente pelo método

convencional temperatura-tempo, de acordo com orientações do fabricante. As soluções utilizadas foram da marca Kodak (Kodak Brasileira Com. e Ind. Ltda, São José dos Campos, SP, Brasil), mantidas a temperatura de 20ºC.

A leitura dos filmes radiográficos foi realizada por um único examinador treinado, calibrado e cego para as terapias empregadas. A leitura foi realizada duas vezes, em dias diferentes, para conferência de resultados. Cada sinal produzido por uma determinada sonda na amostra de biofilme foi comparado, em intensidade, ao sinal produzido pela mesma sonda nas duas linhas de controles contendo $10^5$ e $10^6$ bactérias. Desta forma, o número 0 foi registrado quando não houve detecção do sinal; 1 equivaleu a um sinal menos intenso que o controle de $10^5$ células; 2 equivaleu a $10^5$ células; 3 entre $10^5$ e $10^6$ células; 4 a aproximadamente $10^6$ células e 5 mais de $10^6$ células (Tabela 3). Estes registros foram utilizados para determinar os níveis das diferentes espécies investigadas nas diferentes amostras avaliadas.

**Tabela 2.** Relação das cepas bacterianas empregadas para a confecção das sondas de DNA. As espécies estão agrupadas por complexos bacterianos (SOCRANSKY *et al.*, 1998; SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2002)

| Espécies | Cepas |
|---|---|
| **Complexo Azul** | |
| *Actinomyces gerencseriae* | 23860[a] |
| *Actinomyces israelii* | 12102[a] |
| *Actinomyces naeslundii I* | 12104[a] |
| *Actinomyces naeslundii II* | 43146[a] |
| **Complexo Roxo** | |
| *Actinomyces odontolyticus* | 17929[a] |
| *Veillonella parvula* | 10790[a] |
| **Complexo Amarelo** | |
| *Streptococcus gordonii* | 10558[a] |
| *Streptococcus intermedius* | 27335[a] |
| *Streptococcus mitis* | 49456[a] |
| *Streptococcus oralis* | 35037[a] |
| *Streptococcus sanguinis* | 10556[a] |
| **Complexo Verde** | |
| *Aggregatibacter actinomycetemcomitans a + b* | 43718[a] 29523[a] |
| *Capnocytophaga gingivalis* | 33624[a] |
| *Capnocytophaga ochracea* | 33596[a] |
| *Capnocytophaga sputigena* | 33612[a] |
| *Eikenella corrodens* | 23834[a] |
| **Complexo Laranja** | |
| *Campylobacter gracilis* | 33236[a] |
| *Campylobacter rectus* | 33238[a] |
| *Campylobacter showae* | 51146[a] |
| *Eubacterium nodatum* | 33099[a] |
| **Complexo Laranja (cont.)** | |
| *Fusobacterium nucleatum* ssp *nucleatum* | 25586[a] |
| *Fusobacterium nucleatum* ssp *polymorphum* | 10953[a] |
| *Fusobacterium nucleatum* ssp *vincentii* | 49256[a] |
| *Fusobacterium periodonticum* | 33693[a] |
| *Parvimonas micra* | 33270[a] |
| *Prevotella intermédia* | 25611[a] |
| *Prevotella nigrescens* | 33563[a] |
| *Streptococcus constellatus* | 27823[a] |
| **Complexo Vermelho** | |
| *Tannerella forsythia* | 43037[a] |
| *Porphyromonas gingivalis* | 33277[a] |
| *Treponema denticola* | B1[b] |
| **Outras Espécies** | |
| *Eubacterium saburreum* | 33271[a] |
| *Gemella morbillorum* | 27824[a] |
| *Leptotrichia buccalis* | 14201[a] |
| *Neisseria mucosa* | 19696[a] |
| *Prevotella melaninogenica* | 25845[a] |
| *Propionibacterium acnes I + II* | 11827[a] 11828[a] |
| *Selenomonas noxia* | 43541[a] |
| *Streptococcus anginosus* | 33397[a] |
| *Treponema socranskii* | S1[b] |

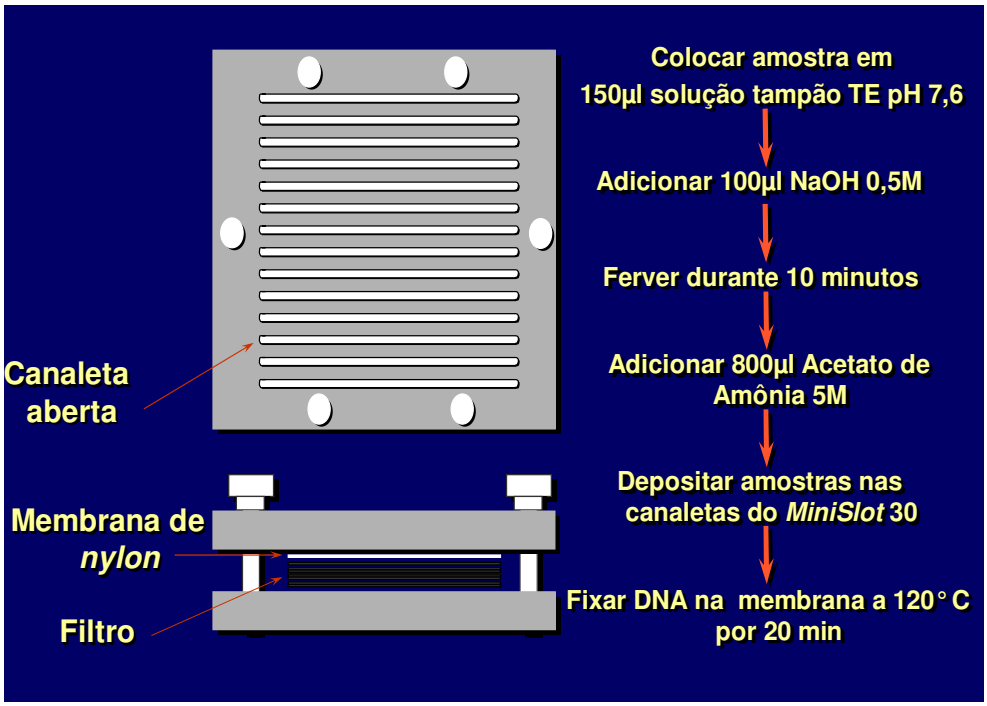


**Figura 1.** Representação gráfica do Minislot 30 (Immunetics, Cambridge, MA, EUA) e resumo da preparação e colocação das amostras de biofilme subgengival na membrana de nylon (técnica checkerboard DNA-DNA hybridization).

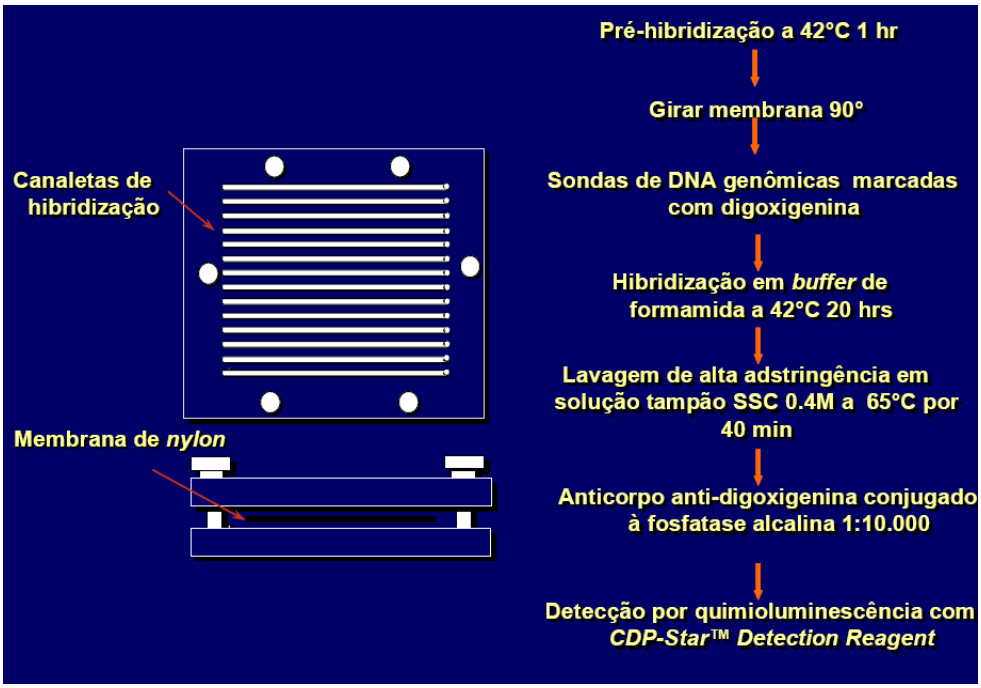


**Figura 2.** Representação gráfica do *Miniblotter* 45 (Immunetics, Cambridge, MA, EUA) e resumo das etapas de hibridização e detecção das espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival (técnica *checkerboard DNA-DNA hybridization*).

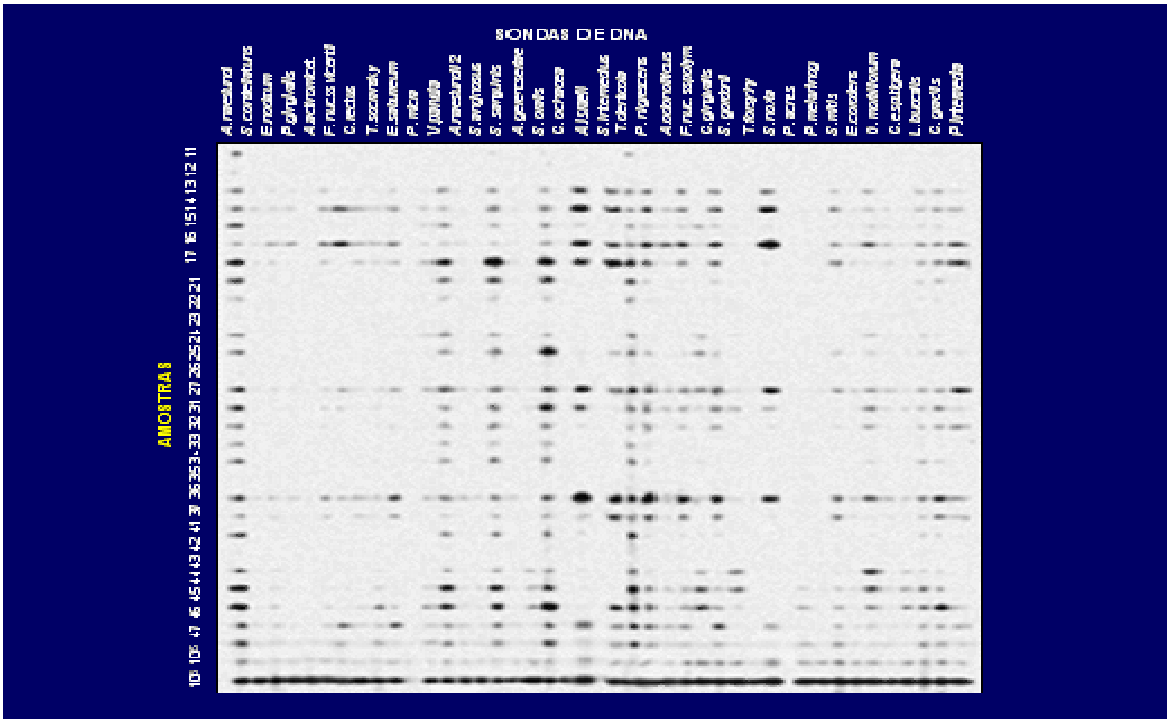


**Figura 3.** Representação esquemática do padrão de hibridização entre as bactérias presentes nas amostras de biofilme e as sondas de DNA (técnica *checkerboard DNA-DNA hybridization*).

**Tabela 3.** Índice utilizado para a determinação dos níveis dos microrganismos nas amostras de biofilme subgengival.

| ÍNDICE | NÍVEL DO MICRORGANISMO | CONTAGEM |
|---|---|---|
| **0** | **Não detectado** | **0** |
| **1** | **Menos de $10^5$ células** | **10.000** |
| **2** | **Aproximadamente $10^5$ células** | **100.000** |
| **3** | **Entre $10^5$ e $10^6$ células** | **500.000** |
| **4** | **Aproximadamente $10^6$ células** | **1.000.000** |
| **5** | **Mais de $10^6$ células** | **10.000.000** |

## 3.8 Análise estatística

### 3.8.1 Dados clínicos

A média dos parâmetros clínicos avaliados foi computada para cada indivíduo e depois expressos em médias por grupo. As diferenças dentro de cada grupo, entre os tempos experimentais foram avaliadas utilizando o teste de Wilcoxon. O teste U de Mann-Whitney foi utilizado para examinar as diferenças entre os dois grupos terapêuticos. A significância estatística foi estabelecida em 5% ($p \leq 0,05$).

### 3.8.2 Dados microbiológicos

Os dados microbiológicos resultaram da análise das 40 espécies bacterianas em 9 amostras de biofilme subgengival por indivíduo, e foram expressos de três maneiras: contagens (níveis), % de contagem das sondas de DNA (proporção) e % de sítios colonizados (prevalência). Todos os dados iniciais (níveis, proporções e prevalência) foram analisados pelo teste U de Mann-Whitney para detectar possíveis diferenças significantes entre os dois grupos terapêuticos.

Para comparar os níveis médios de cada uma das espécies bacterianas, os dados foram expressos como contagem x $10^5$ em cada sítio e foram avaliados por indivíduo e depois entre indivíduos, dentro de cada grupo, em cada tempo do estudo.

De maneira semelhante, a proporção e a prevalência de cada espécie foram computadas para cada sítio e depois foram calculadas as médias entre os sítios em cada indivíduo, e então entre os indivíduos de um mesmo grupo terapêutico em cada tempo experimental.

Diferenças nos níveis médios ou nas proporções de microrganismos dentro de cada grupo, entre o início do estudo e aos 90 dias após RAR foram avaliadas por meio dos teste de Wilcoxon. A significância estatística foi estabelecida em 5%. Todas as análises foram realizadas utilizando ajustes para comparações

múltiplas, considerando $p < 0,00125$ ($p < 0,05$), como proposto por Socransky et al. (1991).

# 4. RESULTADOS

## 4.1 Resultados clínico-periodontais

Os 40 indivíduos incluídos no estudo no tempo inicial compareceram à consulta de avaliação aos 90 dias após os tratamentos. As características epidemiológicas e as médias dos parâmetros clínicos observados no exame inicial, nos dois grupos terapêuticos estão apresentados na Tabela 4. Os resultados demonstram homogeneidade da amostra em relação aos parâmetros clínicos, uma vez que não houve diferenças estatísticas entre os grupos para nenhum dos parâmetros avaliados.

A Figura 4 mostra as médias dos parâmetros clínicos avaliados no exame inicial e pós-tratamento nos dois grupos. Nota-se que as duas terapias utilizadas levaram a uma melhora significativa em todos os parâmetros clínicos avaliados, incluindo presença ou ausência de placa, sangramento gengival ou à sondagem e supuração, assim como na média de PS e NIC. A avaliação clínico-periodontal aos 90 dias após o término da terapia mecânica está representada na Tabela 5. Aqui novamente não foram observadas diferenças estatísticas significantes para nenhum dos parâmetros avaliados. Porém, houve uma tendência a uma maior redução no percentual de redução dos sítios com sangramento à sondagem nos indivíduos que tomaram AZM ($p=0,052$).

**Tabela 4.** Média (± DP) dos parâmetros clínicos, e características epidemiológicas, no exame inicial, para os indivíduos dos dois grupos terapêuticos.

| Parâmetros clínicos | Grupos terapêuticos | | Mann-Whitney (p) |
|---|---|---|---|
| | RAR n=20 | RAR + AZM n=20 | |
| Idade | 43,52 ± 5,9 | 44,4 ± 7,42 | 0,821 |
| Masc/Fem | 12/8 | 12/8 | - |
| Fumantes | 5 | 5 | - |
| IP (%) | 74,59% ± 23,75 | 81,96% ± 15,49 | 0,301 |
| IG (%) | 44,90% ± 24,68 | 52,36% ± 29,11 | 0,414 |
| SS (%) | 78,03% ± 16,40 | 77,43% ± 24,76 | 0,602 |
| Sup (%) | 7,43% ± 11,23 | 12,54 ± 17,14 | 0,62 |
| PS (mm) | 4,79 ± 0,90 | 4,74 ± 0,86 | 0,678 |
| NIC (mm) | 5,41 ± 1,20 | 5,30 ± 0,97 | 0,718 |

DP: Desvio Padrão; RAR: Raspagem e Alisamento Radicular; AZM: Azitromicina; IP: Índice de Placa; IG: Índice de Sangramento Gengival; SS: Sangramento à Sondagem; Sup: Supuração; PS: Profundidade de Sondagem; NIC: Nível de Inserção Clínico;

**Tabela 5.** Média (± DP) dos parâmetros clínicos, aos 90 dias pós-terapia, para os indivíduos dos dois grupos.

| Parâmetros clínicos | Grupos terapêuticos | | U Mann-Whitney (p) |
|---|---|---|---|
| | RAR n=20 | RAR+ AZM n=20 | |
| IP (%) | 32,35% ± 20,57 | 34,68% ± 20,83 | 0,640 |
| IG (%) | 17,56% ± 14,28 | 17,64% ± 19,09 | 0,883 |
| SS (%) | 24,38% ± 21,85 | 18,00% ± 25,06 | 0,052 |
| Sup (%) | 0,28% ± 1,00 | 0,00% ± 0,00 | 0,62 |
| PS (mm) | 3,36 ± 0,50 | 3,32 ± 0,51 | 0,659 |
| NIC (mm) | 4,54 ± 1,07 | 4,34 ± 0,84 | 0,565 |

DP: Desvio Padrão; RAR: Raspagem e Alisamento Radicular; AZM: Azitromicina; IP: Índice de Placa; IG: Índice de Sangramento Gengival; SS: Sangramento a Sondagem; Sup: Supuração; PS: Profundidade de Sondagem; NIC: Nível de Inserção Clínico.

A Figura 5 mostra a redução da PS e do NIC entre o início do estudo e 90 dias pós-tratamento. Nota-se que os dois tratamentos reduziram significativamente a média de PS e NIC, não apresentando diferença estatística entre os dois grupos.

A Figura 6 apresenta os mesmos tipos de dados da Figura 5; porém, para as diferentes categorias de sítios, que foram separados por diferentes PS no tempo inicial em rasos (1-3mm), intermediários (4-5mm) e profundos (≥ 6mm). Também não houve diferença significativa entre os grupos.

## 4.2 Resultados microbiológicos

A composição da microbiota subgengival nos dois grupos terapêuticos mostrou-se com perfis semelhantes, ou seja, não foram encontradas diferenças estatísticas em contagem ou proporções para nenhuma das espécies avaliadas, entre os dois grupos experimentais, no início do estudo (Figuras 7 e 8).

A Figura 7 apresenta os níveis (média de contagem $x10^5$) das 40 espécies bacterianas subgengivais no início do estudo e aos 90 dias pós-terapia, para os dois grupos terapêuticos. No grupo controle foram observadas reduções pós-terapia em duas espécies bacterianas do complexo vermelho (*T. forsythia* e *P. gingivalis*) e aumento em outras duas espécies (*V. parvula, E.* corrodens). No grupo que tomou AZM sete espécies sofreram redução significativa, todas elas pertenciam aos complexos vermelho e laranja, que abrigam a maior parte dos periodontopatógenos (*C. rectus, E. nodatum*, *F. nucleatum ssp. nucleatum, P. intermedia, T. forsythia*, *P. gingivalis*, *T. denticola*).

As médias percentuais das espécies avaliadas, antes e após os tratamentos, estão representadas na Figura 8. De forma geral, as duas terapias atuaram de modo mais evidente sobre os complexos laranja e vermelho. Porém, essas alterações foram mais marcantes no grupo da AZM. As proporções dos três patógenos do complexo vermelho foram reduzidas entre o início do estudo e 90 dias pós-terapia nos dois grupos. Porém, é importante observar que as proporções de dois desses patógenos, *T. forsythia* e *P. gingivalis,* ficaram significativamente menores no grupo teste do que no grupo controle, aos 90 dias. Em relação ao do complexo laranja, duas espécies foram significativamente afetadas pela terapia de RAR (*E. nodatum* e *P. micra*), e quatro espécies pela terapia de RAR + AZM (E. nodatum, F. nucleatum ssp nucleatum, *P. micra* e *P. intermedia*). Em relação às espécies consideradas compatíveis com o hospedeiro, *V. parvula, S. sanguinis* e *E.*

*corrodens* mostraram aumento pós-terapia no grupo controle, assim como *V. parvula* e *C. ochracea* no grupo teste. Curiosamente, *A. actinomycetemcomitans* apresentou um aumento significativo em proporções aos 90 dias no grupo controle.

A Figura 9 mostra as alterações ocorridas na contagem bacteriana total e nas proporções dos complexos microbianos após os tratamentos. As áreas dos gráficos foram ajustadas para refletir a contagem total de microrganismos em cada grupo terapêutico, nos dois tempos experimentais. A contagem bacteriana total foi reduzida após os tratamentos nos dois grupos experimentais. Quando os dois grupos foram comparados em cada tempo, não foram observadas diferenças estatísticas no início do estudo. Porém, aos 90 dias o grupo que associou AZM, apresentou os resultados mais satisfatórios, ou seja, contagem bacteriana total inferior ao grupo de RAR.

As 40 espécies microbianas identificadas por meio das sondas de DNA foram agrupadas de acordo com os complexos microbianos descritos por Socransky et al. (1998). As proporções das espécies pertencentes a cada complexo foram somadas e a proporção total de cada complexo foi determinada. Pôde-se observar que as proporções dos diferentes complexos microbianos foram semelhantes no início do estudo, sem diferenças estatísticas entre os dois grupos experimentais. Os complexos presentes em maiores proporções no início do estudo foram o vermelho e o laranja. Todas as terapias levaram a uma redução significativa nas proporções do complexo vermelho que passou de 21,9% para 1,2% das espécies avaliadas no grupo de AZM, e de 28,8% para 4,7% no grupo controle. Já a proporção do complexo laranja reduziu nos dois grupos terapêuticos, porém não houve diferença estatística após 3 meses de acompanhamento. De forma geral, as proporções dos complexos considerados benéficos, verde, roxo, amarelo e azul aumentaram após as terapias, sendo que esse aumento foi mais pronunciado para o grupo de AZM que mostrou alterações significantes em três complexos (azul, roxo e amarelo); enquanto que o grupo controle sofreu aumento em apenas dois complexos (azul e roxo). Comparando as proporções dos dois grupos experimentais ao final do estudo, foi possível notar que os indivíduos que tomaram AZM mostrava proporções significativamente menores do complexo vermelho quando comparado ao grupo que foi tratado somente com RAR.

## 5. DISCUSSÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar as alterações clínicas e microbiológicas da RAR associada ou não à AZM sistêmica no tratamento de indivíduos com doença periodontal crônica.

Já está bem determinado na literatura periodontal que para se alcançar benefícios clínicos é necessário alterar drasticamente o perfil microbiológico associado à doença para um perfil de saúde periodontal (TELES et al., 2006). Neste sentido, diversos antibióticos sistêmicos têm sido utilizados em combinação à RAR para auxiliar na eliminação ou redução dos patógenos periodontais e o concomitante aumento nos níveis e proporções das espécies bacterianas compatíveis com o hospedeiro (para revisão, HERRERA et al., 2002, HAFFAJEE et al., 2003). Em geral os estudos mostram benefícios clínicos e microbiológicos com a utilização desses antibióticos; benefícios esses que variam de acordo com o tipo de droga administrada, com a população estudada e com a adesão dos pacientes ao protocolo terapêutico (GUERRERO et al., 2007). A maior parte dos antibióticos estudados até hoje em periodontia, como o metronidazol, a amoxicilina e a tetraciclina, necessita ser ingerida várias vezes ao dia por períodos prolongados de tempo. Um exemplo clássico é o metronidazol, que é tomado 3 vezes ao dia por 7 a 14 dias. Vale destacar que a administração de antibióticos sistêmicos durante longos períodos de tempo é a principal causa da falta de colaboração do paciente (GREENBERG, 1984). Uma das maiores vantagens da AZM é a sua posologia, uma vez que esse antibiótico é administrado apenas uma vez ao dia por curtos períodos de tempo, de 3 a 5 dias.

A dosagem e duração ideais da AZM para o uso no tratamento da infecção periodontal ainda não foram testadas. Logo, no presente estudo foi utilizada uma cápsula de 500 mg de AZM ao dia, de acordo com estudos prévios, que utilizaram essa mesma dosagem por um período de 3 dias no tratamento periodontal (SEFTON et al., 1996; BLANDIZZI et al., 1999; SMITH et al., 2002; GOMI et al., 2007 a, b; HAFFAJEE et al., 2007, 2008). A decisão de estender de 3 para 5 dias o tempo de administração foi tomada com base em um estudo médico recente que sugerem que

5 ou 6 dias de administração da AZM pode potencializar os efeitos desta medicação no tratamento de doença como a sinusite bacteriana aguda (HENRY et al., 2003). Outra vantagem da AZM é a sua rápida absorção por células fagocitárias, como leucócitos, monócitos e macrófagos. Essa característica contribui para que a AZM chegue rapidamente aos tecidos infeccionados (HOEPELMAN et al., 1995), incluindo sítios com destruição periodontal (BLANDIZZI et al., 1995; GOMI et al., 2007), e que mantenha uma concentração de 10 a 100 vezes maior nos tecidos do que no soro.

Os resultados do questionário de efeitos adversos (ANEXO A) mostraram que a maioria dos indivíduos não relatou efeitos colaterais importantes, e que esses efeitos adversos foram observados tanto no grupo teste quanto no grupo controle. Alguns efeitos adversos apareceram com maior freqüência no grupo controle, como gosto metálico, dor de cabeça ou tontura; enquanto outros, como fraqueza e sono excessivo se igualaram nos dois grupos. O único efeito adverso descrito apenas no grupo teste foi a presença de diarréia em 10% dos indivíduos que ingeriram AZM. Uma informação relevante é que todos os indivíduos responderam que tomariam novamente a medicação se fosse necessário (ANEXO C).

## 5.1 Aspectos clínico-periodontais

As duas terapias empregadas no presente estudo levaram a uma melhora significativa nos parâmetros clínicos periodontais em 90 dias, ou seja, 3 meses pós-tratamento. Esses benefícios foram observados nas avaliações de média de boca toda e também nas realizadas por diferentes categorias de PS inicial (bolsas rasas, intermediárias e profundas). Porém, não foram observadas diferenças significativas entre os dois grupos terapêuticos neste tempo de avaliação. Esses dados estão de acordo com o estudo de Haffajee et al. (2007) que também não demonstraram diferenças entre a RAR isoladamente ou associada à AZM no tratamento de indivíduos com periodontitie crônica aos 3 meses de avaliação. Porém, resultados superiores para o antibiótico começaram a ser observados longitudinalmente. Os indivíduos que tomaram AZM sistêmica exibiram uma menor média de PS e NIC em sítios profundos aos 6 e 12 meses pós-tratamento. Haas et al. (2008) também observaram vantagens para a utilização deste antibiótico, especialmente em bolsas intermediárias 1 ano após o tratamento de indivíduos com periodontite agressiva.

Porém, nas avaliações anteriores de 3 e 6 meses essas diferenças não foram observadas.

Por outro lado, outros autores relataram alguns benefícios clínicos da AZM sistêmica em períodos mais curtos de observação (Smith et al., 2002, Gomi et al., 2007, Mascarenhas et al., 2005). Mascarenhas et al. (2005) observaram que a média de PS em sítios inicialmente intermediários (4-6 mm) estava significativamente menor no grupo de AZM do que no grupo controle aos 6 meses pós-terapia. Nas bolsas inicialmente profundas esse benefício foi observado para os parâmetros de PS e NIC já aos 3 meses. Porém, é importante destacar que esse estudo foi realizado em indivíduos fumantes, que normalmente não respondem bem ao tratamento mecânico tradicional, tornando mais evidente os benefícios das terapias adjuntas. Já os estudos de Smith et al. (2002) e Gomi et al. (2007) também foram realizados em indivíduos não-fumantes com periodontite crônica, e ambos os estudos mostraram benefícios clínicos na utilização da AZM em 3 meses após a antibioticoterapia, que foram mantidos até aproximadamente 6 meses.

Diferenças na efetividade da RAR podem explicar os resultados aparentemente controversos em termos de benefícios clínicos observados nos estudos de Smith et al. (2002) e Gomi et al. (2007) em comparação com o presente estudo. Os indivíduos que receberam RAR no estudo de Gomi et al. (2007) tiveram uma redução de 0,7 mm em PS na média de boca toda 3 meses após a terapia, enquanto que no presente estudo essa redução foi de 1,64 mm. Smith et al. (2002) apresentaram os dados separados por diferentes categorias de bolsa. Os sítios inicialmente profundos (PS > 6 mm) do grupo controle reduziram em média 2,22 mm na PS, em contraste com 3,22 mm de redução observada neste estudo. Em resumo, as melhoras obtidas nos grupos controle nos estudos de Gomi et al. (2007) e Smith et al. (2002) foram inferiores às observadas no presente estudo. Esse fato pode ter implicação direta nas diferenças mais profundas observadas entre os grupos teste e controle por aqueles autores, pois quando os resultados da RAR são pouco satisfatórios torna-se mais fácil de observar vantagens clínicas no grupo teste. Cionca et al. (2009) discutiram elegantemente este ponto recentemente, ressaltando a importância de se realizar procedimentos controles (RAR) de alto padrão, para que os antibióticos sistêmicos não sejam utilizados como um mecanismo de compensação para falhas nos procedimentos mecânicos.

## 5.2 Aspectos microbiológicos

Ao nosso conhecimento apenas um estudo anterior avaliou o efeito da AZM sistêmica no perfil microbiológico subgengival de indivíduos com periodontite (Haffajee et al., 2008). Outros dois estudos também realizaram avaliações microbiológicas; porém, em poucas espécies bacterianas (Sefton et al., 1996, Gomi et al., 2007).

No presente estudo as duas terapias, controle e teste, levaram a uma melhora no perfil microbiológico subgengival. Porém, ao contrário dos resultados clínicos, diferenças importantes foram observadas entre os grupos. Os indivíduos que tomaram AZM tiveram os melhores benefícios na composição da microbiota subgengival, em comparação com o grupo de RAR.

De forma geral, os patógenos periodontais do complexo vermelho, *T. forsythia*, *P. gingivalis* e *T. denticola* foram reduzidos por ambas as terapias. Porém, os níveis individuais de *T. denticola* não foram significativamente diminuídas no grupo controle (Figura 7), e a proporção do complexo vermelho como um todo se mostrou significativamente menor no grupo teste do que no grupo controle aos 3 meses pós-terapia (Figura 9). Outro ponto importante foi o efeito dos tratamentos nos patógenos do complexo laranja. A terapia antibiótica levou à redução significativa nos níveis e proporções individuais de um maior número de espécies do que a terapia controle (Figuras 7 e 8). Esses resultados estão de acordo com outros estudos que também demonstraram uma maior efetividade sobre os patógenos do complexo vermelho e laranja quando a AZM foi utilizada (SEFTON et al., 1996; GOMI et al., 2007; HAFFAJEE et al., 2008). Sefton et al. (1996) e Gomi et al. (2007) observaram que os indivíduos que tomaram AZM tiveram uma maior redução nos BPR do que aqueles tratados somente com RAR. Gomi et al. (2007) também realizaram PCR para seis patógenos periodontais dos complexos vermelho (*T. denticola, T. forsythia, P. gingivalis*), laranja (*P. intermedia, P. nigrescens*) e *A. actinomycetemcomitans.* Nenhuma dessas espécies foi detectada no ambiente subgengival dos indivíduos do grupo teste até 3 meses após o tratamento, enquanto que todas elas foram detectadas no grupo controle. No estudo de Haffajee et al. (2008) a RAR em combinação com AZM sistêmica também foi capaz de reduzir os níveis das três espécies do complexo vermelho após 2 semanas de avaliação, ao

contrário da RAR somente. Os autores também observaram uma redução em contagem em um maior número de espécies do complexo laranja para os grupos que utilizaram antibióticos sistêmicos (AZM ou metronidazol). Porém, essas alterações não foram mantidas até 3 meses pós-tratamento.

As espécies compatíveis com o hospedeiro dos complexos azul, amarelo, verde e roxo foram minimamente reduzidas, e na maioria dos casos sofreram aumento pós-terapia. Efeitos mais benéficos foram novamente observados no grupo teste, principalmente quando as proporções dos complexos bacterianos foram avaliadas. Houve um aumento significativo nas proporções de 3 complexos compatíveis com saúde (azul, roxo e amarelo) no grupo teste, enquanto que no grupo controle este aumento ocorreu em apenas dois complexos (azul e roxo). A comparação desses dados é limitada, pois como mencionado anteriormente, apenas um estudo até o momento avaliou o efeito da AZM sobre um grande número de microorganismos subgengivais, incluindo as espécies benéficas (HAFFAJEE et al., 2008). Ao contrário dos nossos dados, Haffajee et al. (2008) não observaram um maior aumento nas espécies benéficas no grupo de AZM em relação ao controle, durante o período de 1 ano de avaliação.

No geral, os efeitos da AZM no perfil microbiológico subgengival em comparação à RAR foram mais profundos e benéficos neste estudo do que no de Haffajee et al. (2008). Uma possível explicação para essa divergência de resultados pode ser a diferença no grau de destruição periodontal das populações estudadas. A média de PS inicial neste estudo variou entre 4,74 mm a 4,79 mm, e de NIC entre 5,3mm e 5,41 mm, enquanto que no estudo de Haffajee et al. (2008) esses valores variaram, respectivamente, entre 2,92 a 3,11 e 3,03 a 3,42. Ou seja, diferentemente dos indivíduos do presente estudo que apresentavam periodontite crônica severa, aqueles do estudo de Haffajee et al. (2008), apresentavam destruição periodontal de leve a moderada. Esse fato pode ter contribuído para a falta de benefícios alcançados pela AZM no estudo de Haffajee et al. (2008), uma vez que as duas revisões sistemáticas sobre os efeitos dos antibióticos sistêmicos no tratamento periodontal sugerem que os maiores benefícios desses agentes são observados em indivíduos com maior destruição peridontal e também em sítios profundos.

## 5.3 Considerações finais

De forma geral, apesar da AZM associada à RAR não ter demonstrado benefícios clínicos adicionais aos obtidos com a RAR isoladamente, essa terapia causou alterações mais profundas e benéficas na composição da microbiota subgengival. É importante ressaltar que muitas vezes as alterações microbiológicas precedem as clínicas. Isso ocorre principalmente em casos de indivíduos que nunca receberam tratamento. Nesses casos, como a melhora inicial é sempre muito pronunciada, torna-se mais difícil de observar diferenças clínicas pontuais entre terapias, que podem se tornar mais evidentes longitudinalmente. Um dos principais fatores para se definir os resultados clínicos longitudinais são os benefícios observados no perfil microbiológico. Quanto mais compatível com saúde for a recolonização subgengival, maiores as chances dos parâmetros clínicos permanecerem estáveis ao longo do tempo (TELES et al., 2006). Logo, o acompanhamento longitudinal dos indivíduos do presente estudo será fundamental para determinar se os benefícios microbiológicos observados até aqui serão mantidos, e também para definir se esses benefícios irão determinar melhoras clínicas a longo prazo.

## 6. CONCLUSÃO

A combinação de AZM sistêmica à RAR não levou a benefícios clínicos adicionais aos observados com a RAR aos 3 meses pós-terapia. Porém, essa terapia promoveu uma recolonização bacteriana subgengival mais compatível com saúde periodontal neste tempo de avaliação.

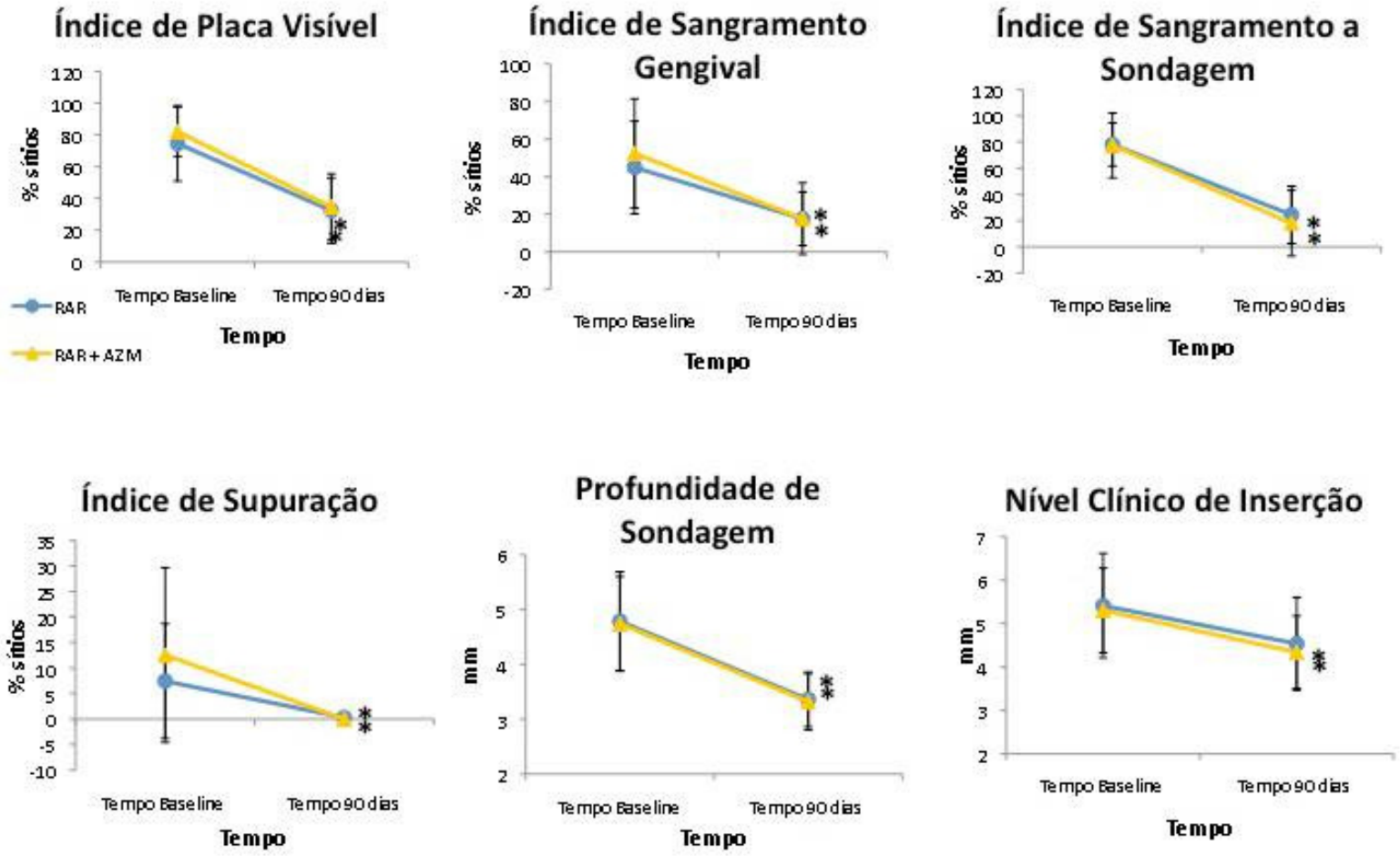


**Figura 4**. Média dos parâmetros clínicos avaliados no início do estudo e aos 90 dias pós terapia, nos dois grupos terapêuticos. RAR: Raspagem e alisamento radicular; RAR + AZM: Raspagem e alisamento radicular associado à azitromicina. Diferenças significativas entre os tempos experimentais foram avaliadas por meio do teste Wilcoxon (*p<0,001)

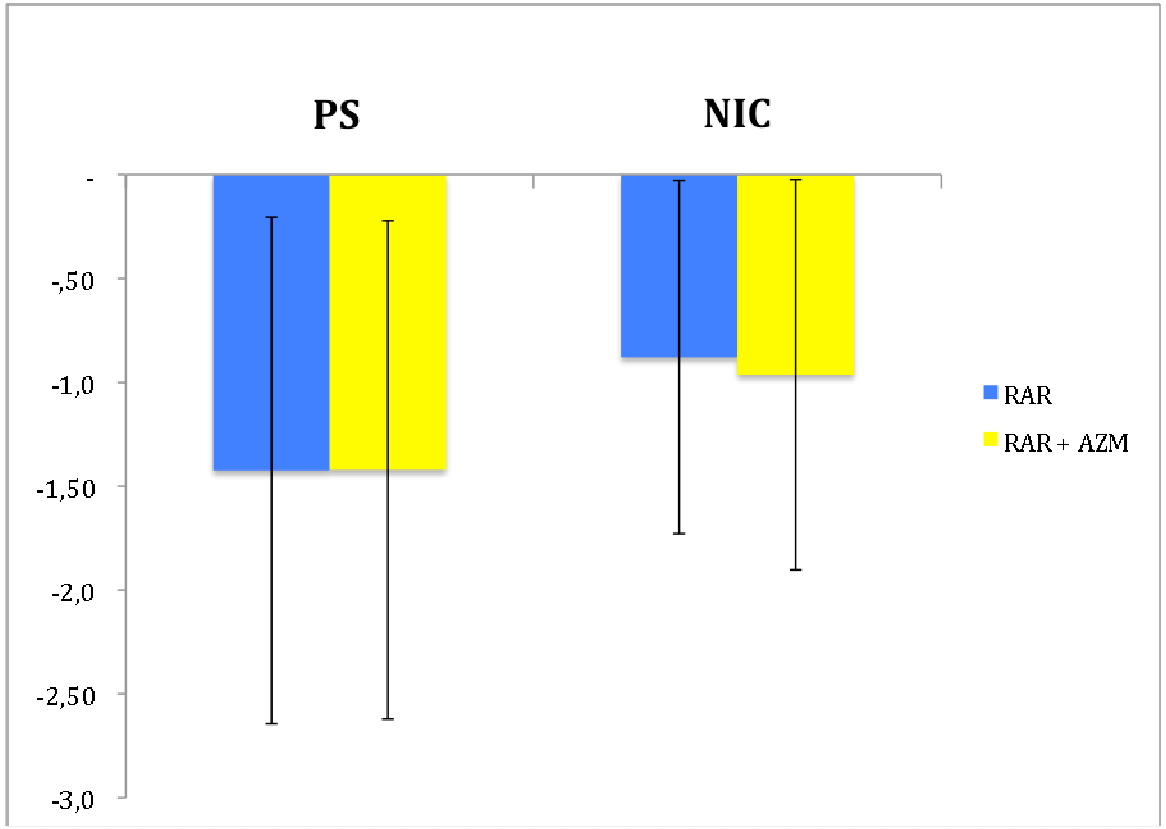


**Figura 5.** Alterações entre o início do estudo e 90 dias após raspagem e alisamento radicular (RAR) nas médias de profundidade de sondagem (PS) e nível de inserção clínico (NIC) para os dois grupos terapêuticos. AZM: azitromicina.
Diferenças significativas nas alterações de PS e NIC em cada grupo foram avaliadas por meio do teste Wilcoxon (*p<0,001), e entre os grupos por meio do teste U de Mann-Withney (p>0,05)

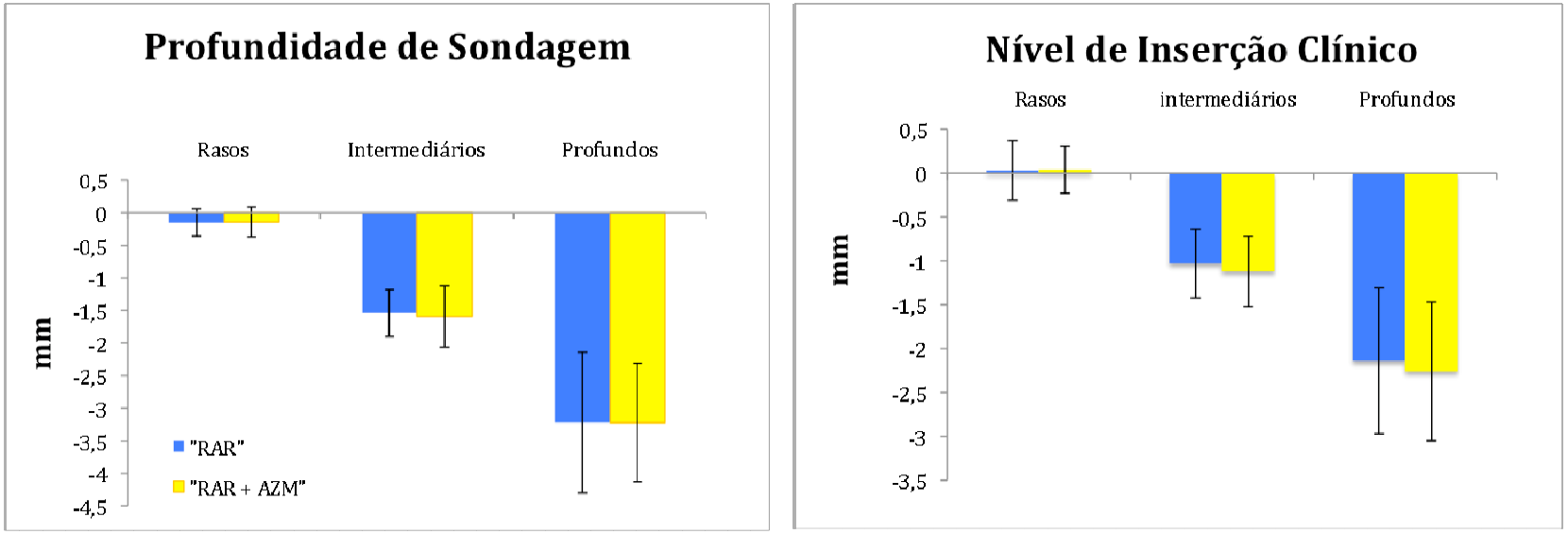


**Figura 6.** Alterações entre o início do estudo e 90 dias após raspagem e alisamento radicular (RAR) nas médias de profundidade de sondagem (PS) e nível de inserção clínico (NIC) nos sítios categorizados por profundidade de sondagem inicial em rasos (PS<4mm), intermediários (PS 4-6mm) e profundos (PS≥7mm). Diferenças significativas nas alterações de PS e NIC em cada grupo foram avaliadas por meio do teste Wilcoxon (*p<0,001), e entre os grupos por meio do teste U de Mann-Withney (p>0,05)

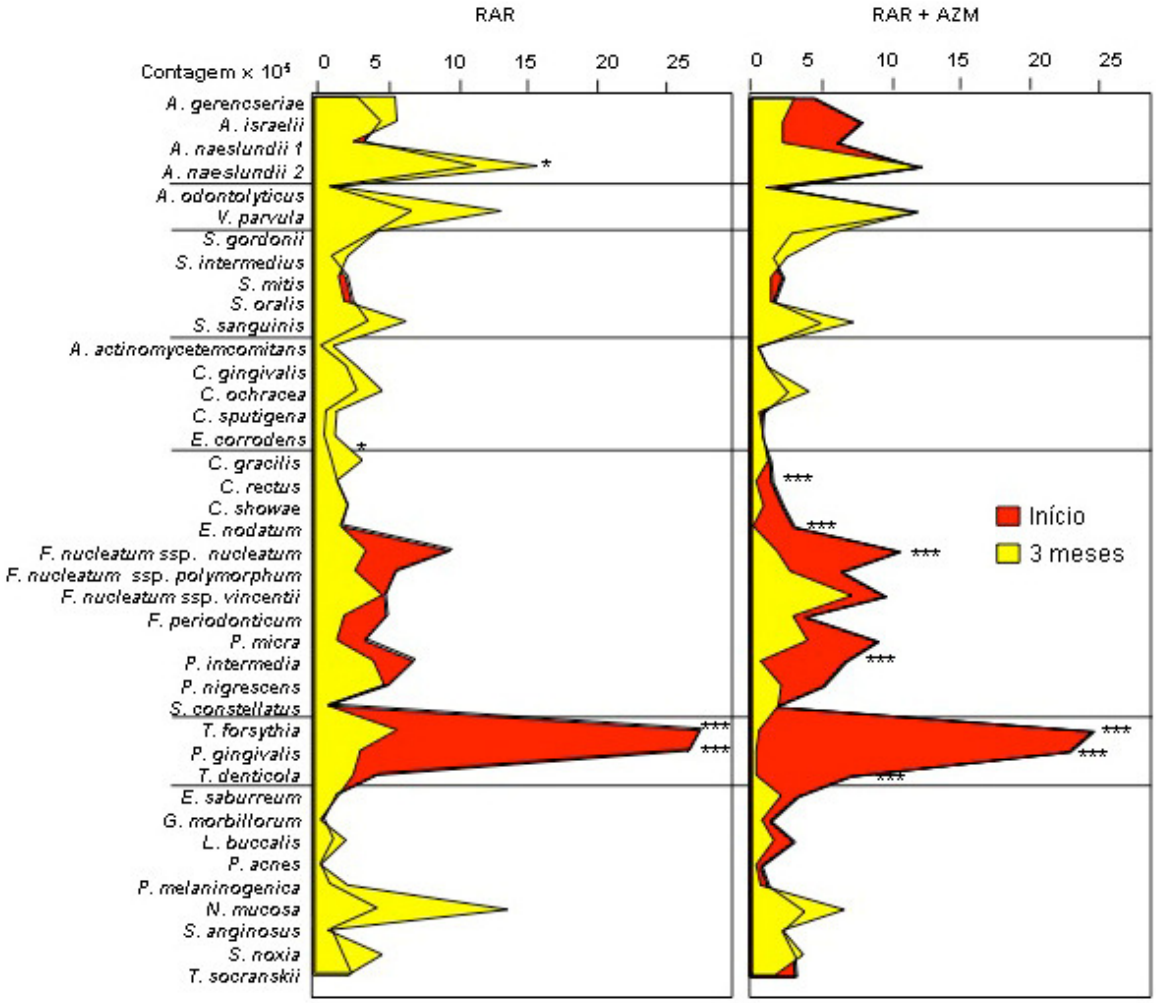


**Figura 7.** Perfil microbiano das médias de contagem (x10⁵) das 40 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival no início do estudo e 90 dias pós-terapia, nos dois grupos terapêuticos.
RAR: Raspagem e alisamento radicular; AZM: Azitromicina.
Teste de Wilcoxon (* p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001): indicam diferenças estatisticamente significantes entre os tempos.

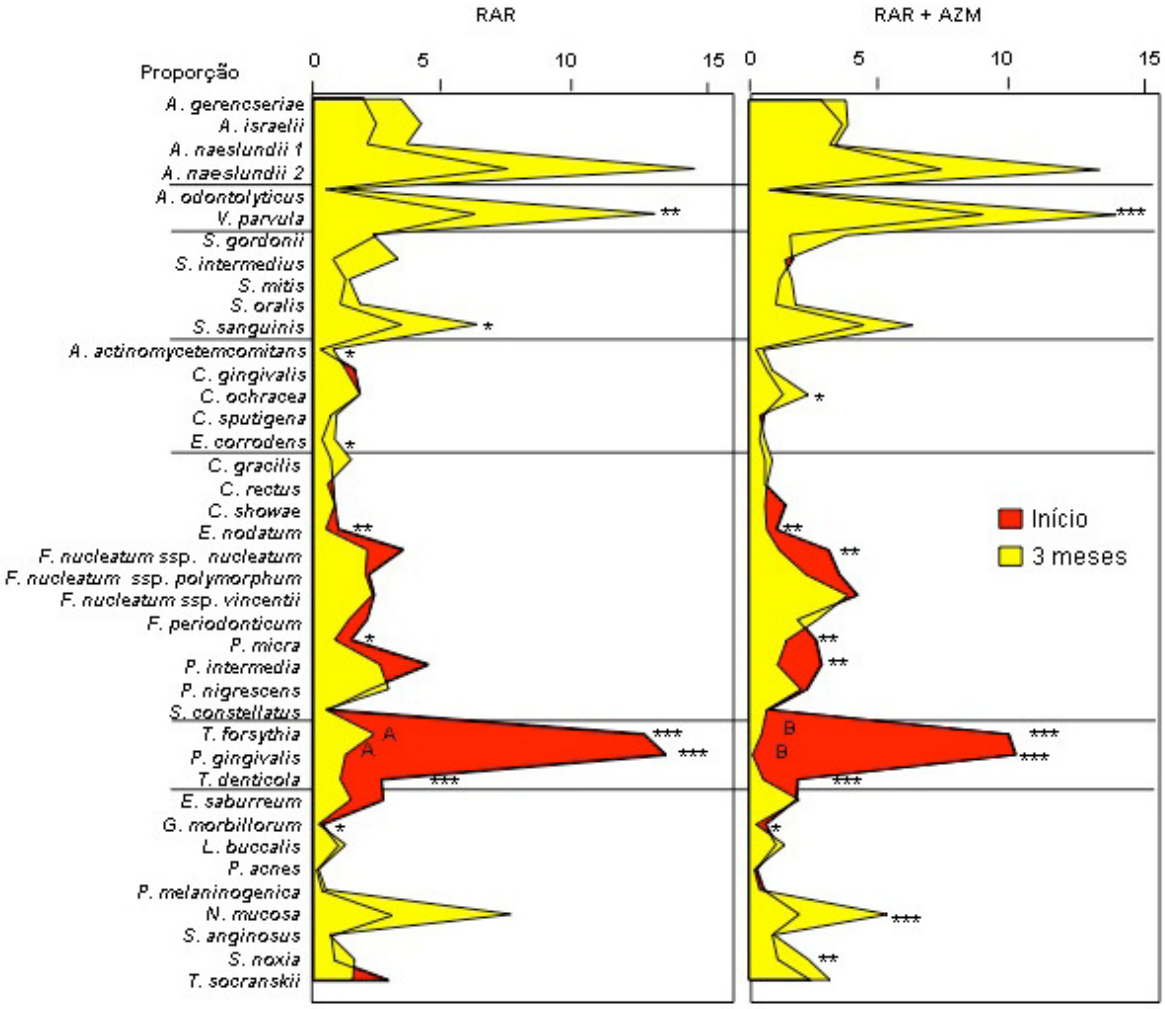


**Figura 8.** Perfil microbiano das médias de proporção das 40 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival no início do estudo e 90 dias pós-terapia, nos dois grupos terapêuticos.
RAR: Raspagem e alisamento radicular; AZM: Azitromicina.
Teste de Wilcoxon (* p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001): indicam diferenças estatisticamente significantes entre os tempos.
Teste U de Mann-Whitney (p<0,05): Letras distintas indicam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

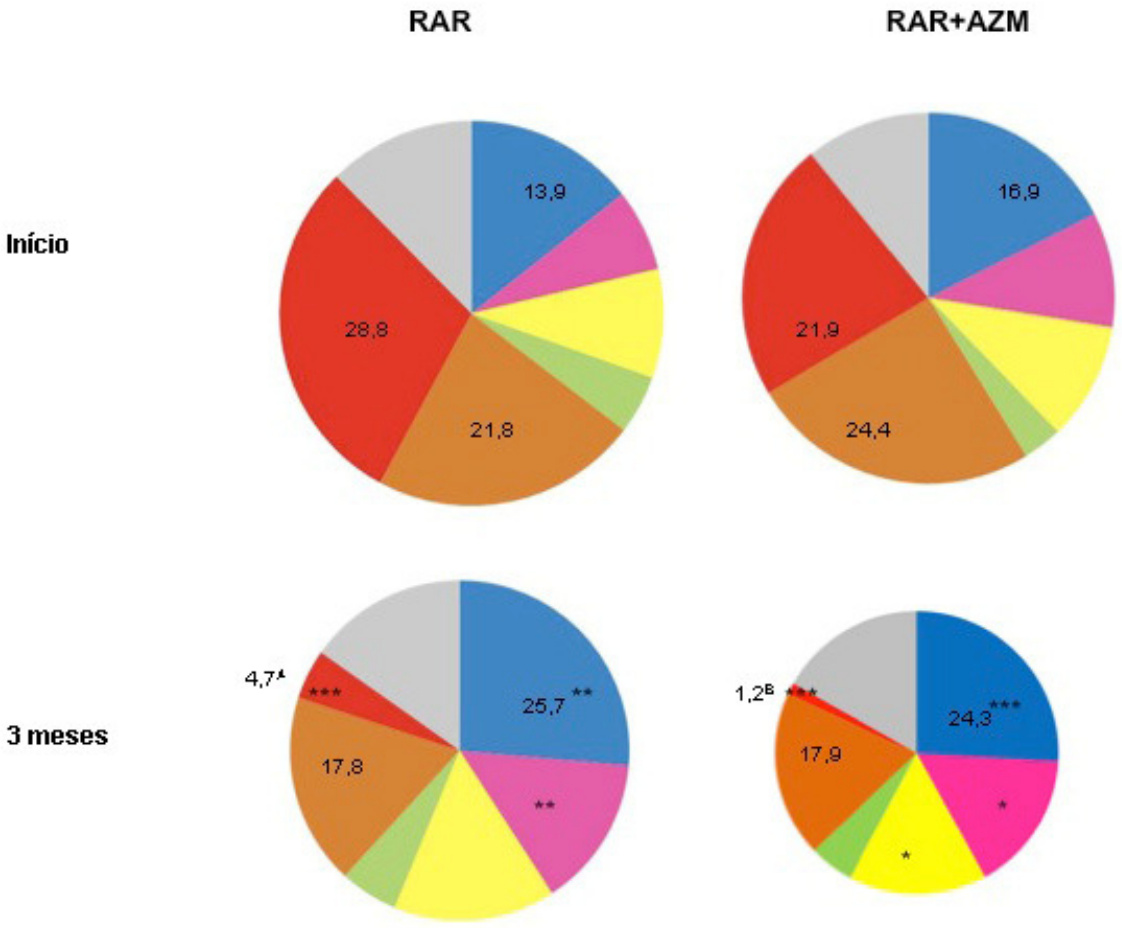


**Figura 9.** Proporções dos complexos microbianos presentes nas amostras de biofilme subgengival no início do estudo e 90 dias pós-terapia, nos dois grupos terapêuticos. As áreas dos gráficos foram ajustadas para refletir a quantidade total de microorganismos. As espécies foram agrupadas de acordo com os complexos microbianos descritos por Socransky et al., (1998). Teste de Wilcoxon (* p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001): indicam diferenças estatisticamente significantes entre os tempos. Teste U de Mann-Whitney (p<0,05): Letras distintas indicam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Araújo MW, Hovey KM, Benedek JR, Grossi SG, Dorn J, Wactawski-Wende J, Genco RJ, Trevisan M. Reproducibility of probing depth measurement using a constant-force electronic probe: analysis of inter- and intraexaminer variability. J Periodontol. 2003; 74: 1736-40.

Armitage GC. Development of a classification system for periodontal disease and conditions. Annals of Periodontology. 1999; 4: 1-6.

Avila-Campos MJ, Sacchi CT, Whitney AM, Steigerwalt AG, Mayer LW: Specific primer for AP-PCR identification of Actinobacillus actinomycetemcomitans. J Clin Periodontol. 1999; 26: 699–704.

Badersten A, Nilvéus R, Egelberg J. Effect of nonsurgical periodontal therapy. I.Moderately advanced periodontitis. J Clin Periodontol. 1981; 8: 57-72.

Badersten A, Nilvéus R, Egelberg J. Effect of nonsurgical periodontal therapy II. Severely advanced periodontitis. J Clin Periodontol. 1984; 11: 63-76.

Berglundh T, Krok L, Liljenberg B, Westfelt E, Serino G, Lindhe, J. The use of metronidazole and amoxicillin in the treatment of advanced periodontal disease. A prospective, controlled clinical trial. J Clin Periodontol. 1998; 25: 354-62.

Blandizzi C, Malizia T, Lupetti A, Pesce D, Gabriele M, Giuca MR, et al. Periodontal tissue disposition of azithromycin in patients affected by chronic inflammatory periodontal diseases. J Periodontol. 1999; 70: 960-66.

Carvalho LH, D'Ávila GB, Leão A, Haffajee AD, Socransky SS, Feres M. Scaling and root planing, systemic metronidazole and professional plaque removal in the treatment of chronic periodontitis in a Brazilian population. I. Clinical results. J Clin Periodontol. 2004; 31:1070-6.

Carvalho LH, D'Avila GB, Leão A, Goncalves C, Haffajee AD, Socransky SS et al. Scaling and root planing, systemic metronidazole and professional plaque removal in the treatment of chronic periodontitis in a Brazilian population II - microbiological results. J Clin Periodontol. 2005; 32: 406-11.

Chand DH, Quattrocchi J, Poe SA, Terezhalmy GT, Strife CF, Cunningham RJ. Trial of metronidazole vs. Azithromycin for treatment of cyclosporine-induced gingival overgrowth. Pediatr Transplant. 2004 Feb; 8(1): 60-4.

Christersson LA, Albini B, Zambon JJ, Wikesjö UM, Genco RJ. Tissue localization of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontitis. I. Light, immunofluorescence and electron microscopic studies. J Periodontol. 1987 Aug; 58(8): 529-39.

Christersson LA, Wikesjö UM, Albini B, Zambon JJ, Genco RJ. Tissue localization of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontitis. II. Correlation between immunofluorescence and culture techniques. J Periodontol. 1987 Aug; 58(8): 540-5.

Cionca N, Giannopoulou C, Ugolotti G, Mombelli A. Amoxicillin and metronidazole as an adjunct to full-mouth scaling and root planing of chronic periodontitis.J Periodontol. 2009 Mar; 80(3): 364-71.

Cobb CM. Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence-based perspective of scaling and root planing. J Clin Periodontol. 2002; 29 Suppl 2: 6-16.

Colombo AP, Teles RP, Torres MC, Souto R, Rosalém WJ, Mendes MC, Uzeda M. Subgingival microbiota of Brazilian subjects with untreated chronic periodontitis. J Periodontol. 2002 Apr; 73(4): 360-9.

Cugini MA, Haffajee AD, Smith C, Kent Jr. RL, Socransky SS. The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal disease: 12-month results. J Clin Periodontol. 2000; 27: 30-6.

Faveri M, Gursky LC, Feres M, Shibli JA, Salvador SL, de Figueredo LC. Scaling and root chlorhexidine mouthrinses in the treatment of chronic periodontitis: a randomized, placebo-controlled clinical trial. J Clin Periodontol. 2006 Nov; 33 (11): 819-28.

Faveri M, Mayer MP, Feres M, de Figueiredo LC, Dewhirst FE, Paster BJ. Microbiological diversity of generalized aggressive periodontitis by 16S rRNA clonal analysis. Oral Microbiol Immunol. 2008 Apr; 23(2): 112-8.

Feinberg AP, Vogelstein B. A technique for radiolabeling DNA restriction endoniclease fragments to high specific activity. Anal Biochem. 1983 Jul 1; 132(1): 6-13.

Feres M, Haffajee AD, Goncalves C, Allard K, Som S, Smith C et al. Systemic doxycycline administration in the treatment of periodontal infections. I. Effect on the subgengival microbiota. J Clin Periodontol. 1999; 26: 775-83.

Feres M, Haffajee AD, Allard K, Som S, Socransky, SS. Change in subgingival microbial profiles in adult periodontitis subjects receiving either systemically-administered amoxicillin or metronidazole. J Clin Periodontol. 2001; 28: 597-609.

Feres M, Gursky L, Faveri M, Tsuzuki C, Figueiredo LC. Clinical and microbiological benefits of strict supragingival plaque control as part of the active phase of periodontal therapy. J Clin Periodontol. 2009 – *in press*

Gladue RP, Bright GM, Isaacson RE, Newborg MF. In vitro and in vivo uptake of azithromycin (CP-62,993) by phagocytic cells: possible mechanism of delivery and release at sites of infection. Antimicrob Agents Chemother. 1989 Mar; 33(3): 277-82.

Gladue RP, Snider ME. Intracellular accumulation of azithromycin by cultured human fibroblasts. Antimicrob Agents Chemother. 1990 Jun; 34(6): 1056-60.

Goldman RC, Fesik SW, Doran CC. Role of protonated and neutral forms of macrolides in binding to ribosomes from gram-positive and gram-negative bacteria. Antimicrob Agents Chemother. 1990; 34(3): 426-431.

Gomes SG, Piccinin FB, Oppermann RV, Susin C, Nonnenmacher CI, Mutters R. Periodontal status in smokers and never-smokers: clinical findings and real-time polymerase chain reaction quantification of putative periodontal pathogens. J Periodontol. 2006 Sep;77(9):1483-90.

Gomi K, Yashima A, Iino F, Kanazashi M, Nagano T, Shibukawa N, Ohshima T, Maeda N, Arai T. Drug concentration in inflamed periodontal tissues after systemically administered azithromycin. J Periodontol. 2007; 78: 918-23.

Gomi K, Yashima A, Nagano T, Kanazashi M, Maeda N, Arai T. Effects of full-mouth scaling and root planing in conjunction with systemically administered azithrmycin. J Periodontol. 2007; 78: 422-29.

Greenberg RN. Overview of patient compliance with medication dosing: a literature review. Clin Ther. 1984; 6(5): 592-9.

Guerrero A, Echeverría JJ, Tonetti MS. Incomplete adherence to an adjunctive systemic antibiotic regimen decreases clinical outcomes in generalized aggressive periodontitis patients: a pilot retrospective study. J Clin Periodontol. 2007 Oct; 34(10): 897-902. Epub 2007 Aug 17.

Gusberti FA, Syed SA, Lang NP. Combined antibiotic (metronidazole) and mechanical treatment effects on the subgingival bacterial flora of sites with recurrent periodontal disease. J Clin Periodontol. 1988; 15: 353-359.

Haas AN, de Castro GD, Moreno T, Susin C, Albandar JM, Oppermann RV, Rösing CK. Azithromycin as an adjunctive treatment of aggressive periodontitis: 12-months randomized clinical Trial. J Clin Periodontol. 2008; 35: 696-704

Haffajee AD, Dibart S, Kent RL Jr, Socransky SS. Clinical and microbiological changes associated with the use of 4 adjunctively administered agents in the treatment of periodontal infections. J Clin Periodontol. 1995; 22: 618-627.

Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent Jr RL, Socransky SS. The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. J Clin Periodontol. 1997; 24: 324-34.

Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent RL Jr, Socransky SS. Clinical and microbiological features of subjects with adult periodontitis who responded poorly to scaling and root planing. J Clin Periodontol. 1997 Oct;24(10):767-76.

Haffajee AD, Socransky SS, Gunsolley JC. Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. Ann Periodonto. 2003(b); 8(1): 115-81.

Haffajee AD, Torresyap G, Socransky SS. Clinical changes following four different periodontal therapies for the treatment of chronic periodontitis: 1 year results. J Clin Periodontol. 2007; 34: 243–253.

Haffajee AD, Patel M, Socransky SS. Microbiological changes associated with four different periodontal therapies for the treatment of chronic periodontitis. Oral Microbiol Immunol. 2008; 23: 148-57.

Henry DC, Riffer E, Sokol WN, Chaudry NI, Swanson RN. Randomized double-blind study comparing 3- and 6-day regimens of azithromycin with a 10-day amoxicillin-clavulanate regimen for treatment of acute bacterial sinusitis. Antimicrob Agents Chemother. 2003 Sep; 47(9): 2770-4.

Herrera D, Sanz M, Jepsen S, Needleman I, Roldan S. A systematic rewiew on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planning in periodontitis patients. J Clin Periodontol. 2002; 29(Suppl 3): 136-59

Herrera D, Alonso B, León R, Roldán S, Sanz M. Antimicrobial therapy in periodontitis: the use of systemic antimicrobials against the subgingival biofilm. J Clin Periodontol. 2008 Sep; 35(8 Suppl): 45-66. Review.

Hoepelman IM, Schneider MME. Azithromycin: the first of the tissue-selective azalides. Int J Antimicrob Agents. 1995 May; 5(3): 145-67.

Löe H, Anerud A, Boysen H, Smith M. The natural history of periodontal disease in man. Study design and baseline data. J Periodontal Res. 1978 Nov; 13(6): 550-62.

Löe 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 46 years of age. J Clin Periodontol. 1986 May; 13(5): 431-45.

Loesche WJ. Chemotherapy of dental plaque infections. Oral Sci Rev.1976;9:65-107.

Loesche WJ, Giordano JR, Hujoel P, Schwarez J, Smith BA. Metronidazole in periodontitis:reduced need for surgery. J Clin Periodont. 1992; 19: 103-112.

Mascarenhas P, Gapski R, Al-Shammari K, Hill R, Sohren S, Fenno JC et al. Clinical response of azithromycin as an adjunct to non-surgical periodontal therapy in smokers. J Periodont. 2005; 76: 426-36.

Matarazo F, Figueiredo LC, Cruz SE, Faveri M, Feres M. Clinical and microbiological benefits of systemic metronidazole and amoxicillin in the treatment of smokers with chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled study. J Clin Periodontol. 2008 Oct; 35(10): 885-96.

Moeintaghavi A, Talebi-ardakani MR, Haerian-ardakani A, Zandi H, Taghipour S, Fallahzadeh H, Pakzad A, Fahami N. Adjunctive affects of systemic amoxicilin and metronidazole with scaling and root planing: a randomized, placebo controlled clinical Trial. I Contemp Dent Pract. 2007; Jul 1; 8(5): 51-9.

Pahkla ER, Koppel T, Naaber P, Saag M, Loivukene K. The efficacy of non-surgical and systemic antibiotic treatment on smoking and non-smoking periodontitis patients. Stomatologija. 2006; 8(4): 116-21.

Quirynen M, De Soete M, Boschmans G, Pauwels M, Coucke W, Teughels W, van Steenberghe D. Benefit of “one-stage full-mouth disintection” is explained by disinfection and root planing within 24 hours: a randomized controlled trial. J Clin Periodontol. 2006 Sep; 33(9): 639-47.

Ramalho VL, Ramalho HJ, Cipullo JP, Azoubel R, Burdmann EA. Comparison of azithromycin and oral hygiene program in the treatment of cyclosporine-induced gingival hyperplasia. Ren Fail. 2007; 29(3): 265-70.

Rodrigues RM, Goncalves C, Souto R, Feres-Filho EJ, Uzeda M, Colombo AP. Antibiotic resistance profile of the subgingivel microbiota following systemic or local tetracycline therapy. J Clin Periodontol. 2004; 31(6): 420-7.

Rooney J, Wade WG, Sprague SV, Newcombe RG, Addy M. Adjunctive effects to non-surgical periodontal therapy of systemic metronidazole and amoxicillin alone and combined. A placebo controled study. J Clin Periodontol. 2002; 29: 342-350.

Sefton AM, Maskell JP, Beighton D, Whiley A, Shain H, Foyle D, Smith SR, Smales FC, Williams JD. Azithromycin in the treatment of periodontal disease. Effect on microbial flora. J Clin Periodontol. 1996; 23: 998-1003.

Serino G, Rosling B, Ramberg P, Hellström M-K, Socransky SS, Lindhe J. The effect of systemic antibiotics in the treatment of patients with recurrent periodontitis. J Clin Periodontol. 2001; 28: 411-8.

Smith GL, Socransky SS, Smith CM. Non-isotopic DNA probes for the identification of subgingival microoganisms. Oral Microbiol Immunol. 1989 Mar; 4(1): 41-6.

Smith SR, Foyle, DM, Daniels J, Joyston-Bechal S, Smales FC, Sefton A, Williams JA. double-blind placebo controlled trial of azithromycin as an adjunct to non-surgical treatment of periodontitis in adult: clinical results. J Clin Periodontol. 2002; 29: 54–61.

Socransky SS, Haffajee AD, Dzink JL, Hillman JD. Associations between microbial species in subgingival plaque samples.Oral Microbiol Immunol. 1988 Mar; 3(1):1-7

Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Dibart S. Relation of counts of microbial species to clinical status at the sampled site. J Clin Periodontol. 1991 Nov; 18(10): 766-75.

Socransky SS, Smith C, Martin L, Paster BJ, Dewhirst FE, Levin AE. "Checkerboard" DNA-DNA hybridization. Biotechniques. 1994 Oct; 17(4): 788-92.

Socransky SS, Haffajee AD. Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. Periodontol 2000. 1994 Jun; 5: 7-25

Socransky SS, Haffajee AD. Implications of periodontal microbiology for the treatment of periodontal infections. J Clin Periodontol. 1994; 18: 688-93.

Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C., Kent Jr RL. Microbial complexes in subgingival plaque. J Clin Periodontol. 1998; 25: 134-44.

Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic target. Periodontol 2000, 2002; 28: 12-55.

Socransky SS & Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. Periodontology 2000. 2005; 38: 135-87.

Söder B, Nedlich U, Jin LJ. Longitudinal effect of non-surgical treatment and systemic metronidazole for 1 week in smokers and non-smokers with refractory periodontitis: a 5-year study. J Periodontol. 1999; 70 (7): 761-71.

Teles RP, Haffajee AD, Socransky SS. Microbiological goas of periodontal therapy. Periodontol 2000. 2006; 42: 180-218.

Torgöz B, Sári HI, Yildiz O, Aslan S, Sipahioglu M, Okten T, Oymak O, Utas C. Effects of azithromycin on cyclosporine-induced gingival hyperplasia in renal transplant patients. Transplant Proc. 2004 Nov: 36(9): 2699-702

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; discussion 90-1.

Van Winkelhoff, Rams TE, Slots J. Systemic antibiotic therapy in periodontics, Periodontol 2000. 1996 Feb; 10: 45-78.

Watanabe K, Frommel TO. Detection of Porphyromonas gingivalis in oral plaque samples by use of the polymerase chain reaction. J Dent Res. 1993 Jun;72(6):1040-4.

Winkel EG, Van Winkelhoff AJ, Timmerman MF, Vangsted T, Van der Velden U. Effects of metronidazole in patients with "refractory" periodontitis associated with Bacteroides forsythus. J Clin Periodontol. 1997; 24: 573-579.

Winkel EG, Van Winkelhoff AJ, Van der Velden U. Additional clinical and microbiological effects of amoxicillin and metronidazole after initial periodontal therapy. J Clin Periodontol. 1998 Nov; 25(11 Pt 1): 857-64.

Winkel EG, Van Winkelhoff AJ, Timmerman MF, Van der Velden U, Van der Weijden GA. Amoxicillin plus metronidazole in the treatment of adult periodontitis patients. A double-blind placebo controled study. J Clin Periodontol. 2001; 28:296-305.

Ximénez-Fyvie LA, Haffajee AD, Som S, Thompson M, Torresyap G, Socransky SS. The effect of repeated professional supragingival plaque removal on the composition of the supra- and subgingival microbiota. J Clin Periodontol. 2000 Sep; 27(9): 637-47.

# ANEXOS

**ANEXO A** – QUESTIONÁRIO DE EFEITOS ADVERSOS (CÁPSULAS)

Nome:_____Data:____/_____/_

| **Marque um X na resposta para cada uma das perguntas abaixo:** | **Sim** | **Não** | **Não sei** |
|---|---|---|---|
| 1. Você conseguiu tomar os medicamentos como lhe foi | | | |
| 2. Você sentiu algum mal-estar devido ao medicamento que tomou? | | | |
| 3. Sentiu náuseas ou vômito? | | | |
| 4. Teve diarréia neste período? | | | |
| 5. Sentiu algum gosto metálico na boca? | | | |
| 6. Sentiu dor de cabeça ou tontura? | | | |
| 7. Caso tenha sentido algum dos problemas das perguntas anteriores , isso atrapalhou o seu dia-a-dia? | | | |
| 8. Os medicamentos provocaram mau humor ou irritação? | | | |
| 09. Sentiu fraqueza ou falta de ânimo para o trabalho? | | | |
| 10. Teve sono excessivo devido aos medicamentos? | | | |
| 11. Os horários do medicamento prejudicaram o seu dia-a-dia? | | | |
| 12. Você tomaria os medicamentos novamente caso fosse | | | |

## ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

UnG universidade guarulhos

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Por esse instrumento particular declaro, para os efeitos éticos e legais, que eu (nome)_____ ____, (nacionalidade)_____, (profissão) _____, portador do R.G. _____, C.I.C. _____, residente e domiciliado à Rua _____, telefone _____, na cidade de _____, Estado de _____, concordo em participar dessa pesquisa – AVALIAÇÃO CLÍNICA E MICROBIOLÓGICA DA ASSOCIAÇÃO DA AZITROMICINA DE USO SISTÊMICO EM INDIVÍDUOS FUMANTES E NÃO-FUMANTES COM PERIODONTITE CRÔNICA. Estou ciente que essa pesquisa pretende estudar o efeito do uso de um antibiótico (azitromicina) associados ao tratamento tradicional de raspagem na eliminação da doença periodontal. A doença periodontal é a inflamação das gengivas e pode levar até a perda dos dentes. É causada pela presença de placa dentária, uma camada localizada na superfície dos dentes e composta por microrganismos (bactérias) que causam a inflamação das gengivas. Para participar desse estudo é necessário ter a doença periodontal, estar com boa saúde geral, não ter sofrido tratamento nas gengivas, nem tomado antibióticos nos últimos 6 meses, e quando mulheres, não estar grávida ou amamentando.

Os participantes serão submetidos a seis exames completos dos dentes e das gengivas que serão efetuados por profissionais formados em Odontologia, sob a supervisão de professores na Clínica Odontológica da UnG. Os exames serão realizados antes e após o tratamento da inflamação das gengivas. Nesta oportunidade, amostras de placa dentária serão coletadas por meio de curetas odontológicas estéreis para a realização do exame microbiológico e identificação dos microrganismos envolvidos na doença periodontal.

O tratamento utilizado será de raspagem das superfícies dos dentes (coroa e raíz) sob anestesia local, e uso de antibiótico diário (azitromicina 1x/dia) que ajudam na eliminação dos microrganismos (germes) presentes na placa dentária causadora das doenças nas gengivas.

Guarulhos, ____ de _____ de 200 _ .

_____ _____

Assinatura do Voluntário

Dra. Magda Feres – CRO-SP 77.854
Pesquisador Responsável

(continuação)

Alguns sintomas como enjôo, dor de cabeça, gosto ruim na boca podem aparecer por causa do uso do antibiótico. Neste caso, o medicamento poderá ser suspenso imediatamente sem prejuízo do tratamento básico da doença periodontal. Caso alguma voluntária fique grávida, ela será imediatamente afastada do estudo e o uso do antibiótico será interrompido, sem nenhum prejuízo ao tratamento.

Os indivíduos participantes do estudo receberão os medicamentos além da raspagem dos dentes, no entanto alguns receberão o antibiótico azitromicina e outros receberão os chamados "antibióticos placebo" – sem a substância química ativa. Essa escolha será realizada ao acaso, e durante a realização do estudo o participante não poderá ser informado sobre qual medicamento recebeu, pois isto comprometeria os resultados.

Estes procedimentos são simples, além de serem completamente indolores. O estudo terá uma duração de aproximadamente 24 meses e envolverá várias consultas (12 visitas em média) de aproximadamente 1 hora. Indivíduos que necessitarem de outros tratamentos serão encaminhados às diferentes especialidades na Clínica de Graduação após a conclusão deste estudo.

Recebi todas as informações sobre a minha participação nesse estudo, e a garantia de novos esclarecimentos que julgar necessários durante o decorrer da pesquisa. Também fui verbalmente informado sobre os possíveis benefícios e riscos, assim como, todos os passos desse experimento serão acompanhados por um Pesquisador Responsável. Os procedimentos são simples, não oferecem risco diferente de um tratamento odontológico comum e serão realizados por profissionais com experiência.

Tomei conhecimento de que não terei custos extras e que tenho plena liberdade para recusar a participação na referida pesquisa a qualquer momento, sem penalização alguma. Autorizo, para os devidos fins, o uso, a divulgação e a publicação dos dados e resultados obtidos do relatório geral da pesquisa. Recebi a garantia do sigilo que assegura a privacidade dos participantes do estudo, uma vez que os dados obtidos são confidenciais.

Por estar de pleno acordo com o presente termo, assino abaixo o mesmo.

Guarulhos, ____ de _____ de 200 __ .

_____ _____

Assinatura do Voluntário

Dra. Magda Feres – CRO-SP 77.854
Pesquisador Responsável

Endereço para contato com o Pesquisador Responsável:
Universidade Guarulhos – Rua Nilo Peçanha, 81. Centro. Guarulhos –SP.
Telefone: 6464-1769 ou 9222-3239

## ANEXO C – TABELA COM A PORCENTAGEM DE RESPOSTAS DO QUESTIONÁRIO DE EFEITOS ADVERSOS

| Questionário | RAR (%) | | AZM (%) | |
|---|---|---|---|---|
| | SIM | NÃO | SIM | NÃO |
| 1. Você conseguiu tomar os medicamentos como lhe foi orientado? | 100 | 0 | 100 | 0 |
| 2. Você sentiu algum mal-estar devido ao medicamento que tomou? | 5 | 95 | 10 | 90 |
| 3. Sentiu náuseas ou vômito? | 0 | 100 | 0 | 100 |
| 4. Teve diarréia neste período? | 0 | 100 | 10 | 90 |
| 5. Sentiu algum gosto metálico na boca? | 15 | 85 | 10 | 90 |
| 6. Sentiu dor de cabeça ou tontura? | 10 | 90 | 5 | 95 |
| 7. Caso tenha sentido algum dos problemas das perguntas anteriores , isso atrapalhou o seu dia-a-dia? | 5 | 95 | 5 | 95 |
| 8. Os medicamentos provocaram mau humor ou irritação? | 5 | 95 | 5 | 95 |
| 09. Sentiu fraqueza ou falta de ânimo para o trabalho? | 10 | 90 | 5 | 95 |
| 10. Teve sono excessivo devido aos medicamentos? | 15 | 85 | 15 | 85 |
| 11. Os horários do medicamento prejudicaram o seu dia-a-dia? | 0 | 100 | 0 | 100 |
| 12. Você tomaria os medicamentos novamente caso fosse necessário? | 100 | 0 | 100 | 0 |

# Livros Grátis

( http://www.livrosgratis.com.br )

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo