



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

EDUARDO DE MESQUITA SAMPAIO

**AZITROMICINA NO TRATAMENTO DA PERIODONTITE CRÔNICA –
ACOMPANHAMENTO CLÍNICO E MICROBIOLÓGICO EM 06 MESES**

Guarulhos
2009

EDUARDO DE MESQUITA SAMPAIO

**AZITROMICINA NO TRATAMENTO DA PERIODONTITE CRÔNICA –
ACOMPANHAMENTO CLÍNICO E MICROBIOLÓGICO EM 06 MESES**

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

Orientadora: Prof^a. Dra. Magda Feres
Co-orientadora: Prof^a. Dra. Luciene C. de Figueiredo

Guarulhos
2009

S192a Sampaio, Eduardo de Mesquita
Azitromicina no tratamento da periodontite crônica – acompanhamento clínico e microbiológico em 06 meses / Eduardo de Mesquita Sampaio. Guarulhos, SP, 2009.

69 f.; 31 cm

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

Orientador: Prof. Dr^a. Magda Feres
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Luciene C. de Figueiredo
Bibliografia: f. 59-65

1. Periodontite Crônica. 2 alisamento radicular. 3. azitromicina. 4. Tratamento periodontal. 5. Terapia periodontal I. Título. II. Universidade Guarulhos.

CDD 22st 617.632

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de MESTRADO, intitulada "AZITROMICINA NO TRATAMENTO DA PERIODONTITE CRÔNICA – ACOMPANHAMENTO CLÍNICO E MICROBIOLÓGICO EM 06 MESES" em sessão pública realizada em 17 de Dezembro de 2009 considerou o candidato Eduardo de Mesquita Sampaio aprovado com louvor.

COMISSÃO EXAMINADORA:

1. Profa. Dra. Magda Feres (UnG)



2. Prof. Dr. Luiz Antonio Pugliesi Alves de Lima (FOUSP)



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



Guarulhos, 17 de Dezembro de 2009.

Dedico este trabalho à minha mãe, que me ensinou que com muito trabalho, suor, garra, ética e amor podemos conseguir tudo aquilo que sonhamos, e à Isabel, por me apoiar e renovar minhas forças nos momentos difíceis, sempre com muito amor e compreensão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida e por tudo que ela pôde oferecer-me.

À minha mãe, Sarita, pelo exemplo de pessoa que sempre foi, e pela educação com muito amor e carinho que sempre nos deu e por sempre estar ao nosso lado. Por me preparar para a vida, com todas as dores e alegrias que ela oferece, ensinando-me a comemorar os momentos felizes e a levantar a cabeça, respirar fundo e seguir em frente nos momentos difíceis. Por me ensinar a viver.

À Isabel, minha noiva, por me receber com um sorriso no rosto e um abraço forte em todos os momentos. Por me amar e me re-ensinar a amar sem medo. Hoje, meu Porto Seguro.

Ao meu pai, Geraldo, por me mostrar o prazer da leitura e assim despertar minha eterna curiosidade.

Às minhas irmãs, Camila e Ana Paula, e meus cunhados, Biro e Rodrigo, por me ensinarem que a vida pode ser mais tranqüila, e por me darem minhas quatro sobrinhas (Bruna, Julia, Isabela e Caroline), que em diversos momentos conseguiam me fazer rir e faziam-me lembrar de como é bom ser criança sem preocupações ou responsabilidades.

À minha tia Neusa, presente em todos os momentos de minha vida. Pelo eterno carinho, amor, compreensão e auxílio em meu dia-a-dia.

Ao “padrasto” Carlos Eduardo, pela amizade e por estar sempre à disposição para ajudar e auxiliar o próximo.

Aos meus sogros, Carmen e Salvador, e aos meus cunhados, Alice e Flávio, Diego e Paula e Breno e Mari, por sempre estarem dispostos a organizar nossas diversas “bagunças” em sua casa.

Ao grande amigo Marcelo da Rocha, repito suas palavras, pois apesar de tê-lo conhecido durante o curso de mestrado se transformou em um irmão e a quem devo parte desse trabalho.

À minha orientadora Professora Magda Feres, que desde o início me deu oportunidades e acreditou em mim, e pelo exemplo de um verdadeiro mestre, guiando seus alunos para o melhor caminho, sempre à disposição para ensinar e resolver qualquer problema. Obrigado pelos ensinamentos e pela confiança.

Ao professor e amigo Marcelo de Faveri, pelo exímio mestre, pesquisador e professor, que instiga em seus alunos sempre a dúvida, fazendo-os pensar e crescer. Por toda a

disposição e paciência em sempre me guiar em minhas eternas dúvidas e questionamentos.

À professora Poliana Duarte, exemplo de mestre e pesquisadora “insaciável”.

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

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

Aos amigos do curso de mestrado, Marcelo, Marcelão, Kelly, Jô, Vanessa, Datte, Juliana, Geisla e Joyce, pelo convívio amigável e divertido desses anos. Uma turma definitivamente ESPECIAL!!!

Aos colegas Marcelão, Rafael e Jô, pela ajuda profissional e parceria.

Ao grande professor e amigo Fábio Bastos Neto, pelo incentivo, auxílio e oportunidades oferecidas.

Aos amigos André e Flavio, pela eterna amizade.

Aos amigos do mestrado em dentística, Perito, Binho, Vioti e Pena pela companhia.

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

À Ariana, por permitir que eu não ficasse louco nesse período. Literalmente.

Aos funcionários da Universidade pela atenção durante esse período, principalmente a Cristina Zoucas, Cínthia Lobo e Adriana 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, Jadson, Fernanda, Thiago e Paula pela ajuda durante o atendimento aos pacientes.

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

Um homem precisa viajar. Por sua conta, não por meio de histórias, imagens, livros ou TV. Precisa viajar por si, com seus olhos e pés para entender o que é seu. Para um dia plantar as próprias árvores e dar-lhes valor. Conhecer o frio para desfrutar o calor. E o oposto. Sentir a distância e o desabrigo para estar bem sob o próprio teto. Um homem precisa viajar para lugares que não conhece para quebrar essa arrogância que nos faz ver o mundo como o imaginamos, e não simplesmente como é ou pode ser. Que nos faz professores e doutores do que não vimos, quando deveríamos ser alunos e simplesmente ir ver. É preciso questionar o que se aprendeu. É preciso ir tocá-lo.

Amyr Klink

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. Um estudo duplo-cego, placebo controlado e randomizado foi realizado em 40 indivíduos com periodontite crônica generalizada. Os indivíduos foram aleatorizados no grupo controle que receberam RAR isoladamente (n=20) ou no grupo teste que receberam RAR em combinação com AZM (n=20; 500mg; uma vez ao dia durante 5 dias). Todos os indivíduos foram avaliados clinicamente e microbiologicamente no exame inicial e aos 3 e 6 meses 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". As duas terapias levaram a uma melhora nos parâmetros clínicos avaliados, sem diferença significativa entre os grupos aos 6 meses. Porém, os indivíduos do grupo teste mostraram um menor percentual de sítios com PS \geq 5mm e SS pós-terapia, quando comparado aos pacientes do grupo controle. 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, que manteve proporções significativamente reduzidas desse complexo (1,94%) em comparação com o grupo controle (8,42%) aos 6 meses ($p < 0,05$). Os níveis e proporções de algumas espécies individuais do complexo laranja também foram reduzidos para ambos os grupos, sendo que a RAR mostrou ligeira vantagem sobre a AZM na redução desses patógenos. A AZM sistêmica leva a um benefício adicional na composição da microbiota subgengival. Porém, aos 6 meses pós-terapia esse benefício ainda não se reflete integralmente nos parâmetros clínicos.

Palavras-chave: periodontite crônica, azitromicina, terapia antibiótica, raspagem e alisamento radicular, microbiologia

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the clinical and microbiological effects of scaling and root planing (SRP) alone or in combination with systemic azithromycin (AZM) in the treatment of periodontitis. A randomized double-blind, placebo controlled trial was conducted in 40 individuals with generalized chronic periodontitis. Subjects were randomized in the control group who received SRP alone (n=20) or in the test group who received SRP combined with AZM (n=20, 500mg, once a day for 5 days). All subjects were evaluated clinically and microbiologically at baseline and at 3 and 6 months post-therapy. Six sites per tooth were evaluated for the parameters of probing depth (PD), clinical attachment level (CAL) and percentage of sites presenting visible plaque (PI), gingival bleeding (GI), bleeding on probing (BOP) and suppuration (Sup). Nine biofilm samples were collected per subject and analyzed for 40 bacterial species by Checkerboard DNA-DNA Hybridization. Both therapies led to an improvement in clinical parameters evaluated without significant difference between groups in 6 months. However, subjects in the test group showed a lower percentage of sites with PD \geq 5mm and BOP post-therapy, when compared with patients in the control group. The two treatments led to a significant reduction in mean levels and proportion of red complex species. However, this reduction was most marked in the group treated with AZM, which maintained significantly reduced proportions of this complex (1.94%) compared with the control group (8.42%) at 6 months ($p < 0.05$). The levels and proportions of some individual species of the orange complex were also reduced in both groups, and SRP showed a slight advantage over AZM in the reduction of these pathogens. The systemic AZM leads to an additional benefit in the composition of subgingival microbiota. However, at 6 months post-therapy this benefit is not fully evident in the clinical parameters.

Keywords: chronic periodontitis, azithromycin, antibiotic, scaling and root planning, microbiology.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|----------|---|----|
| Figura 1 | Representação gráfica do Minislot 30 (Immunitics, Cambridge, MA, EUA) e resumo da preparação e colocação das amostras de biofilme subgengival na membrana de nylon (técnica <i>checkerboard DNA-DNA hybridization</i>)..... | 32 |
| Figura 2 | Representação gráfica do <i>Miniblotter</i> 45 (Immunitics, Cambridge, MA, EUA) e resumo das etapas de hibridização e detecção das espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival (técnica <i>checkerboard DNA-DNA hybridization</i>)..... | 32 |
| Figura 3 | Representação esquemática do padrão de hibridização entre as bactérias presentes nas amostras de biofilme e as sondas de DNA (técnica <i>checkerboard DNA-DNA hybridization</i>)..... | 33 |
| Figura 4 | Média dos parâmetros clínicos avaliados no início do estudo e aos 3 e 6 meses pós-terapia, nos dois grupos terapêuticos..... | 37 |
| Figura 5 | Alterações entre o início do estudo e 3 e 6 meses após raspagem e alisamento radicular (RAR) nas médias de profundidade de sondagem (PS) e nível de inserção clínico (NIC) para os dois grupos terapêuticos..... | 38 |
| Figura 6 | Alterações entre o início do estudo e 3 e 6 meses 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)..... | 40 |
| Figura 7 | Freqüência média de sítios com profundidade de sondagem (PS) <5mm, PS ≥ 5mm e SS- e PS≥5mm e SS nos diversos tempos experimentais | 41 |
| Figura 8 | Médias de contagem ($\times 10^5$) das 40 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival no início do estudo e 3 e 6 meses pós-terapia, nos dois grupos terapêuticos - comparações intra-grupos..... | 45 |
| Figura 9 | Médias de contagem ($\times 10^5$) das 40 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival no início do estudo e 3 e 6 meses pós-terapia, nos dois grupos terapêuticos - comparações inter-grupos..... | 46 |

| | | |
|-----------|--|----|
| Figura 10 | Médias de proporção das 40 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival no início do estudo e 3 e 6 meses pós-terapia, nos dois grupos terapêuticos - comparações intra-grupos..... | 47 |
| Figura 11 | Médias de proporção das 40 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival no início do estudo e 3 e 6 meses pós-terapia, nos dois grupos terapêuticos- comparações inter-grupos..... | 48 |
| Figura 12 | Proporções dos complexos microbianos presentes nas amostras de biofilme subgengival no início do estudo e 3 e 6 meses pós-terapia, nos dois grupos terapêuticos. | 49 |

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..... | 31 |
| Tabela 3 | Índice utilizado para a determinação dos níveis dos microrganismos nas amostras de biofilme subgengival..... | 33 |
| Tabela 4 | Média (\pm DP) dos parâmetros clínicos, e características epidemiológicas, no exame inicial, para os indivíduos dos dois grupos terapêuticos..... | 36 |
| Tabela 5 | Média (\pm DP) dos parâmetros clínicos, aos 6 meses 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..... | 26 |
| 3.7 | Avaliação microbiológica..... | 26 |
| 3.7.1 | Seleção dos sítios teste para análise microbiológica..... | 26 |
| 3.7.2 | Coleta de amostras de biofilme subgengival..... | 27 |
| 3.7.3 | Cepas bacterianas e condições de crescimento..... | 27 |
| 3.7.4 | Isolamento do DNA e preparo das sondas..... | 28 |
| 3.7.5 | <i>Checkerboard DNA-DNA Hybridization</i> | 28 |
| 3.8 | Análise estatística..... | 34 |
| 3.8.1 | Dados clínicos..... | 34 |
| 3.8.2 | Dados microbiológicos..... | 34 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 4. | RESULTADOS..... | 35 |
| 4.1 | Resultados clínico-periodontais..... | 35 |
| 4.2 | Resultados microbiológicos..... | 42 |
| 5. | DISCUSSÃO..... | 50 |
| 5.1 | Aspectos clínico-periodontais..... | 51 |
| 5.2 | Aspectos microbiológicos..... | 53 |
| 5.3 | Considerações finais..... | 56 |
| 6. | CONCLUSÃO..... | 58 |
| | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 59 |
| | ANEXOS..... | 66 |

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). A microbiota associada a essas infecções já está bem estabelecida na literatura, onde temos a gengivite sendo decorrente do acúmulo indiferenciado de bactérias na margem gengival, enquanto que as periodontites estão associadas ao aumento nos níveis e proporções de bactérias específicas (Løe et al. 1978, 1986)

Socransky & Haffajee (1994) demonstraram que o perfil microbiológico difere entre os pacientes saudáveis e aqueles com periodontite, e que os microorganismos se organizam em um sistema complexo denominado biofilme. O biofilme dos indivíduos saudáveis apresenta 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 onde prevalecem espécies patogênicas que são responsáveis pelo início e a progressão da perda de inserção periodontal. 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), sendo então fundamental a relação entre os patógenos periodontais e o seu “habitat” para o início e progressão da doença. A capacidade do hospedeiro em combater os patógenos periodontais é outro fator que interfere diretamente na progressão da periodontite. Isto foi demonstrado em uma pesquisa com 48 indivíduos com periodontite crônica, onde 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 determinada 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, 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 subgingival de 185 indivíduos (160 com periodontite e 25 saudáveis) (SOCRANSKY et al., 1998) e descreveram cinco complexos bacterianos principais nas amostras de biofilme subgingival 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 *Selenomonas noxia* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sorotipo b não se correlacionaram com outras espécies. Posteriormente, algumas espécies de actinomicetos (*Actinomyces gerencseriae*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces naeslundii* e *Actinomyces oris*) 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 PS, SS e supuração (Sup), além de promover um ganho no nível de inserção clínica (NIC) e mantê-lo estável ao longo do tempo. 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 à remoção de microorganismos, cálculo, cemento e dentina contaminados do ambiente subgingival, de maneira a transformá-lo em um ambiente compatível com saúde periodontal. A RAR proporciona melhora nos parâmetros clínicos da periodontite (para revisão, ver Van der Weijden et al., 2002). Porém, o efeito deste procedimento na alteração do perfil microbiológico subgingival 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 meses após o tratamento e 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*. Em uma avaliação 12 meses pós-terapia desses mesmos pacientes, Cugini et al. (2000) demonstraram que essas alterações foram mantidas quando os pacientes foram incluídos em um programa de terapia periodontal de suporte trimestral. 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 periodontite, 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 tem 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 a RAR no tratamento da periodontite 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 (AZM) 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). 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 (TOKGÖZ 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 AZM 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 AZM 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 AZM é o mesmo dos macrolídeos. Ela atravessa a parede celular e se liga à subunidade 50S do ribossomo, interferindo na síntese de polipeptídios bacterianos, tendo assim uma ação bacteriostática. A AZM 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 AZM 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 AZM 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 AZM 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 AZM 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 500mg por 3 a 5 dias (HENRY et al., 2003). Isso facilita a colaboração do paciente e representa uma grande vantagem da AZM em relação a outros antibióticos normalmente utilizados em periodontia, como a combinação de metronidazol e amoxicilina, que é normalmente administrada de 7 a 14 dias em dosagens diárias de até 3g total, das duas drogas, ao dia (WINKEL et al., 2001; GUERRERO et al., 2005; MATARAZZO et al., 2008; MESTNIK et al., 2009).

A concentração de AZM no tecido 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 $2,92 \pm 1,88 \mu\text{g/g}$ no quarto dia após o início do tratamento com AZM; $1,47 \pm 0,71 \mu\text{g/g}$ no sétimo dia e de $0,54 \pm 0,27 \mu\text{g/g}$ no décimo quarto dia pós-terapia, nos tecidos ao redor das bolsas periodontais. Durante este período de avaliação as concentrações teciduais de AZM ficaram acima da concentração inibitória mínima (MIC) para *P. intermedia* e *A. actinomycetemcomitans* por 14 dias, e para *P. gingivalis* por 7 dias. Os autores consideraram os seguintes valores de MIC₉₀ para essas três espécies, respectivamente: $1,56 \mu\text{g/g}$, $0,2 \mu\text{g/g}$ e $0,39 \mu\text{g/g}$ (SATODA, 2003).

O uso da AZM sistêmica no tratamento da periodontite 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 periodontite crônica que foram divididos em dois grupos terapêuticos, um que recebeu RAR associada à AZM 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 $\geq 4\text{mm}$ durante o período do estudo. Outros trabalhos que demonstraram o benefício da AZM adjunto

à RAR foram publicados por Gomi et al. (2007) e Yashima et al. (2009). Gomi et al. (2007) compararam o protocolo de “desinfecção de boca toda” associado à ingestão prévia de AZM, com a terapia de RAR convencional realizada por quadrantes. Houve uma redução significativa na PS 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. actinomycetemcomitans*, *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. actinomycetemcomitans* não foi detectado no grupo controle nas sessões de reavaliação. Yashima et al. (2009) compararam o protocolo de “desinfecção de boca toda” associado à ingestão prévia de AZM, com a terapia de RAR convencional realizada por quadrantes, associado ou não com AZM. Houve uma redução significativa para os parâmetros PS e NIC e SS, favoráveis aos grupos que utilizaram AZM, quando comparadas com o grupo controle. A avaliação microbiológica foi realizada por meio do teste de PCR para cinco bactérias. *P.gingivalis* foi detectado 1 mês após a terapia no grupo controle, enquanto que nos grupos que utilizaram AZM, a detecção dessa espécie aconteceu somente 9 meses após a terapia. *T. forsythia* foi detectada em todos os grupos 1 mês após a terapia. *A.actinomycetemcomitans* foi detectado nos grupos controle e no grupo que ingeriu AZM associado à RAR em quadrantes um mês após as terapias. *P.intermedia* e *T.denticola* foram detectados 6 meses após a terapia somente no grupo controle.

Apesar de que os estudos mencionados acima observaram os efeitos da AZM sistêmica em alguns patógenos periodontais, existe uma grande carência na literatura sobre os efeitos deste antibiótico no perfil microbiano subgingival, 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 subgingival 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 (AZM, metronidazol e doxaciiclina de baixa dosagem). Os grupos que utilizaram RAR + metronidazol e RAR + AZM 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 AZM 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 periodontite crônica de leve a moderada.

Considerando-se que a AZM é um antibiótico administrado em baixa dosagem e em curta duração, levando assim a menos efeitos colaterais e maior adesão ao tratamento e tendo em vista que o único estudo que avaliou os efeitos deste antibiótico no perfil microbiológico subgengival foi realizado em pacientes com periodontite crônica de leve a moderada (HAFFAJEE et al. 2008), seria relevante estudar os benefícios da AZM em indivíduos com periodontite crônica generalizada.

2. PROPOSIÇÃO

Avaliar os efeitos clínicos e microbiológicos da AZM de uso sistêmico, adjunta à RAR, no tratamento de indivíduos com periodontite 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 (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 25%, optou-se por incluir 20 indivíduos por grupo.

3.2. Seleção de indivíduos

Quarenta indivíduos com evidências de periodontite 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 subgingival 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 30% dos sítios com PS e NIC \geq 4mm e presença de SS. Adicionalmente, os indivíduos deveriam apresentar pelo menos 3 sítios interproximais não contíguos com PS e NIC \geq 7 mm e outros 2 sítios com PS e NIC \geq 6mm.

Os critérios de exclusão foram: indivíduos alérgicos a 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 através de cara ou coroa em um dos dois grupos terapêuticos. Cada grupo incluiu 20 indivíduos. O Grupo controle recebeu RAR em combinação com placebo 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), e receberam adequação do meio bucal, onde foram realizadas as extrações dos dentes que tinham sua exodontia indicada, seguidos de RAR e instruções de higiene oral (IHO). A terapia básica de raspagem foi finalizada em no máximo 14 dias. No último dia da RAR os indivíduos dos dois grupos iniciaram a ingestão do medicamento, sendo o grupo controle placebo, e o grupo teste a terapia antibiótica. O antibiótico foi gratuitamente fornecido aos indivíduos. Três e seis meses após o término da RAR todos os indivíduos foram monitorados novamente clínica e microbiologicamente e receberam manutenção profissional que incluiu RAR e reforços de instruções de higiene oral (Tabela 1).

Tabela 1. Desenho experimental

| | | Exame Inicial Dia (-14) | Dia 0 | Dia 5 | 3 meses | 6 meses |
|-----------|----------------------|--|----------------------------------|-----------------------------------|--|--|
| Pacientes | Placebo n=20 | Ex. clínico Coleta Microb. IHO RAR | Início terapia antibiótica | Término terapia antibiótica | Coleta Microb. Ex. clínico Manutenção | 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 fosse realizada. 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: $e.p.m. = \sqrt{(\sum D^2 /$

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 nº5 (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 e os dentes indicados para exodontia. As medições foram registradas na ficha de exame periodontal. Os parâmetros clínicos avaliados incluíram: -Índice de Placa Visível (IP) (AINAMO & BAY, 1975): presença (score 1) ou ausência (score 0) de placa supragengival visível; -Índice de Sangramento Gengival (IG) (AINAMO & BAY, 1975): presença (score 1) ou ausência (score 0) de sangramento da gengiva marginal, após percorrer levemente a sonda periodontal ao longo do sulco gengival; -Profundidade de Sondagem (PS): distância, em milímetros, entre a margem gengival livre e a porção mais apical sondável do sulco/bolsa periodontal; -Nível de Inserção Clínico (NIC): distância, em milímetros, entre a junção cimento-esmalte e a porção mais apical sondável do sulco/bolsa periodontal; -Sangramento à Sondagem (SS): presença (score 1) ou ausência (score 0) de sangramento, após 20 segundos da sondagem com a sonda periodontal milimetrada; -Supuração (Sup): presença (score 1) ou ausência (score 0) de SUP espontânea ou após 20 segundos da sondagem com a sonda

periodontal milimetrada (HAFFAJEE et al., 1997). Todas as medições clínicas foram repetidas nos dias -14 (Exame Inicial) e 3 e 6 meses após a terapia, sempre pelo mesmo avaliador durante o curso do estudo.

3.6. Procedimentos terapêuticos

3.6.1. Terapia periodontal básica

Após o registro das medidas clínicas, todos os indivíduos receberam IHO e foram submetidos à adequação do meio bucal, com remoção de excessos de restaurações, selamento provisório das lesões cáries cavitadas, curativos endodônticos e exodontias, 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. Todos os indivíduos receberam gratuitamente uma escova dental com cabeça pequena e cerdas macias Colgate Professional[®], Escovas Interdentais cilíndricas Bitufo[®], e foram orientados a utilizar o creme dental Colgate Total[®] (Anacol Ind. E Com. Ltda - Kolynos do Brasil – Colgate Palmolive Co., São Bernardo do Campo, SP, Brasil).

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. 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).

O antibiótico e o placebo foram manipulados especialmente para este estudo na Farmácia de Manipulação Pharmédica (São Paulo, SP, Brasil). Todas as cápsulas (medicação ou placebo) apresentaram a mesma coloração e tamanho, e foram estocados em frascos plásticos leitosos com 05 unidades, devidamente codificados. Apenas o coordenador do estudo tinha conhecimento do código, que foi revelado somente após a análise estatística. Quanto ao controle da ingestão da droga, os indivíduos retornaram à clínica de Odontologia-UnG um dia após a última cápsula de medicação (sexto dia) e foram monitorados pessoalmente e responderam a um questionário sobre possíveis reações adversas da medicação (ANEXO A). Além disso, também foram monitorados no segundo dia de ingestão da medicação, via telefone, por um aluno de iniciação científica.

3.7. Avaliação microbiológica

3.7.1. Seleção dos sítios teste para análise microbiológica

Em cada grupo, foram selecionados 9 sítios interproximais 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 (Exame Inicial), e 3 e 6 meses 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 após as medições clínicas, em uma nova consulta. 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 -20°C 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 (American 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 35°C 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de menadiona (Sigma) e 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de niacinamida (Sigma), 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de espermina tetraidroclorídrica (Sigma), 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de isobutirato de sódio (ICN, Costa Mesa, CA, EUA), 1 mg/mL de L-cisteína (Sigma), 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 microcentrifuga 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 150 μ L 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 1 μ g 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 subgingival 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 (Immunitics, 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 η g e 10 η g 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°C 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 ng/mL, em 130 µL de solução de hibridização composta de 45% formamida, 5 x SSC, 20mM de Na₂HPO₄ (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 (Immunetics), lavada por 40 minutos a 65°C numa solução adstringente composta por 1% de SDS, 1mM de EDTA e 20mM de Na₂HPO₄, 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 (C₄H₄O₄, 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°C 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 20°C.

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

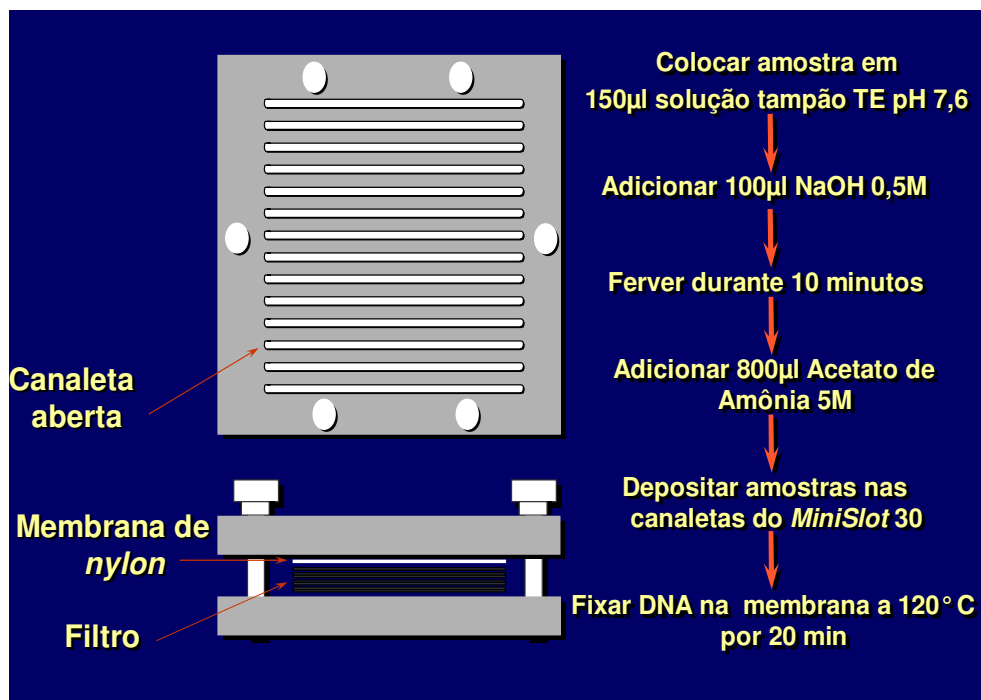


Figura 1. Representação gráfica do Minislot 30 (Immunelectrics, Cambridge, MA, EUA) e resumo da preparação e colocação das amostras de biofilme subgengival na membrana de nylon (técnica checkerboard DNA-DNA hybridization).

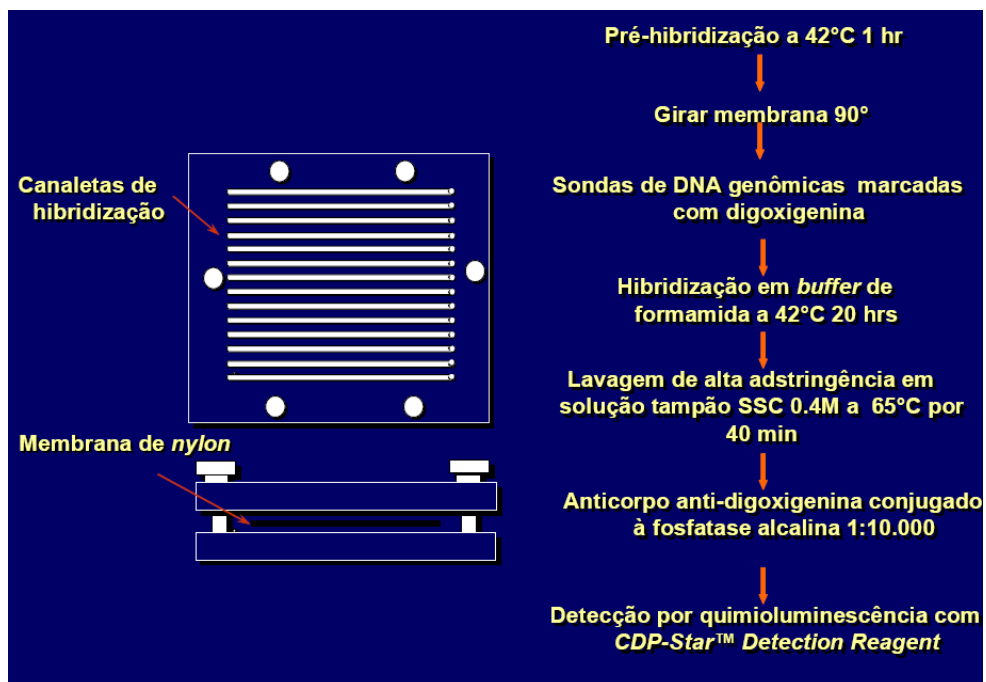


Figura 2. Representação gráfica do *Miniblitter* 45 (Immunelectrics, Cambridge, MA, EUA) e resumo das etapas de hibridização e detecção das espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival (técnica *checkerboard* DNA-DNA hybridization).

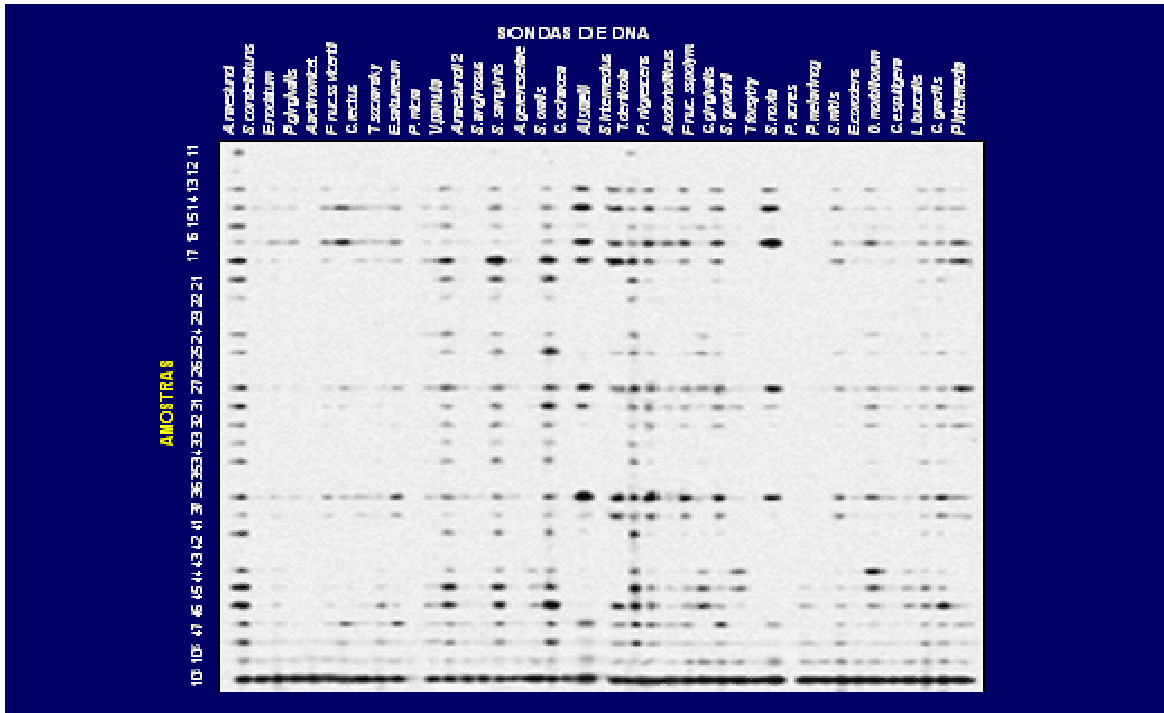


Figura 3. Representação esquemática do padrão de hibridização entre as bactérias presentes nas amostras de biofilme e as sondas de DNA (técnica *checkerboard DNA-DNA hybridization*).

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 expressa em média por grupo. As diferenças dentro de cada grupo, entre os tempos experimentais foram avaliadas utilizando o teste de Friedman. O teste U de Mann-Whitney foi utilizado para examinar as diferenças entre os dois grupos terapêuticos em cada tempo experimental. 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 duas maneiras: contagens (níveis) e % de contagem das sondas de DNA (proporção).

Para comparar os níveis médios de cada uma das espécies bacterianas, os dados foram expressos como contagem $\times 10^5$ 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 de cada espécie foi computada para cada sítio e depois calculada as médias entre os sítios em cada indivíduo, e então entre os indivíduos de um mesmo grupo terapêutico em cada tempo experimental.

Todos os dados (níveis e proporções) foram analisados pelo teste t de student não-pareado para detectar possíveis diferenças significantes entre os dois grupos terapêuticos em cada tempo experimental.

Diferenças nos níveis médios ou nas proporções de microrganismos dentro de cada grupo, entre os tempos experimentais foram avaliadas por meio do teste t de student pareado. A significância estatística foi estabelecida em 5%.

4. RESULTADOS

4.1. Resultados clínico-periodontais

Os 40 indivíduos incluídos no estudo no tempo inicial compareceram à consulta de avaliação 3 e 6 meses após os tratamentos. As características epidemiológicas e as médias dos parâmetros clínicos observados no exame inicial, nos dois grupos terapêuticos estão apresentadas na Tabela 4. Os resultados demonstram homogeneidade da amostra em relação aos parâmetros clínicos, uma vez que não houve diferenças significativas entre os grupos para nenhum dos parâmetros avaliados. A avaliação clínico-periodontal aos 6 meses após o término da terapia mecânica está representada na Tabela 5. Aqui novamente não foram observadas diferenças significativas significantes 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. Diferença significativa entre os grupos foi observada apenas para SS aos 3 meses pós-terapia ($p < 0,05$).

A Figura 5 mostra as reduções na média da PS e do NIC entre o início do estudo e 3 e 6 meses pós-tratamento. Nota-se que os dois tratamentos reduziram a média de PS e NIC, porém não foram observadas diferenças significativas entre os dois grupos.

Tabela 4. Média (\pm 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 \pm 5,9 | 44,4 \pm 7,42 | 0,821 |
| Masc/Fem | 11/9 | 13/7 | - |
| Fumantes | 5 | 5 | - |
| IP (%) | 82,70% \pm 12,91 | 81,39% \pm 15,42 | 0,989 |
| IG (%) | 42,73% \pm 25,50 | 44,45% \pm 24,05 | 0,792 |
| SS (%) | 81,93% \pm 12,86 | 75,78% \pm 24,51 | 0,901 |
| Sup (%) | 7,95% \pm 8,44 | 10,95 \pm 14,06 | 0,55 |
| PS (mm) | 5,02 \pm 0,66 | 4,82 \pm 0,84 | 0,38 |
| NIC (mm) | 5,74 \pm 0,83 | 5,51 \pm 0,94 | 0,55 |

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 (\pm DP) dos parâmetros clínicos, aos 6 meses pós-terapia, para os indivíduos dos dois grupos.

| Parâmetros clínicos | Grupos terapêuticos | | U Mann-Whitney (p) |
|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| | RAR n=20 | RAR+ AZM n=20 | |
| IP (%) | 35,47% \pm 19,02 | 38,20% \pm 16,87 | 0,687 |
| IG (%) | 15,55% \pm 9,04 | 14,78% \pm 11,11 | 0,607 |
| SS (%) | 12,31% \pm 8,83 | 09,91% \pm 7,24 | 0,258 |
| Sup (%) | 0,07% \pm 0,32 | 0,13% \pm 0,54 | 0,989 |
| PS (mm) | 3,36 \pm 0,38 | 3,24 \pm 0,41 | 0,428 |
| NIC (mm) | 4,70 \pm 0,827 | 4,43 \pm 0,81 | 0,365 |

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.

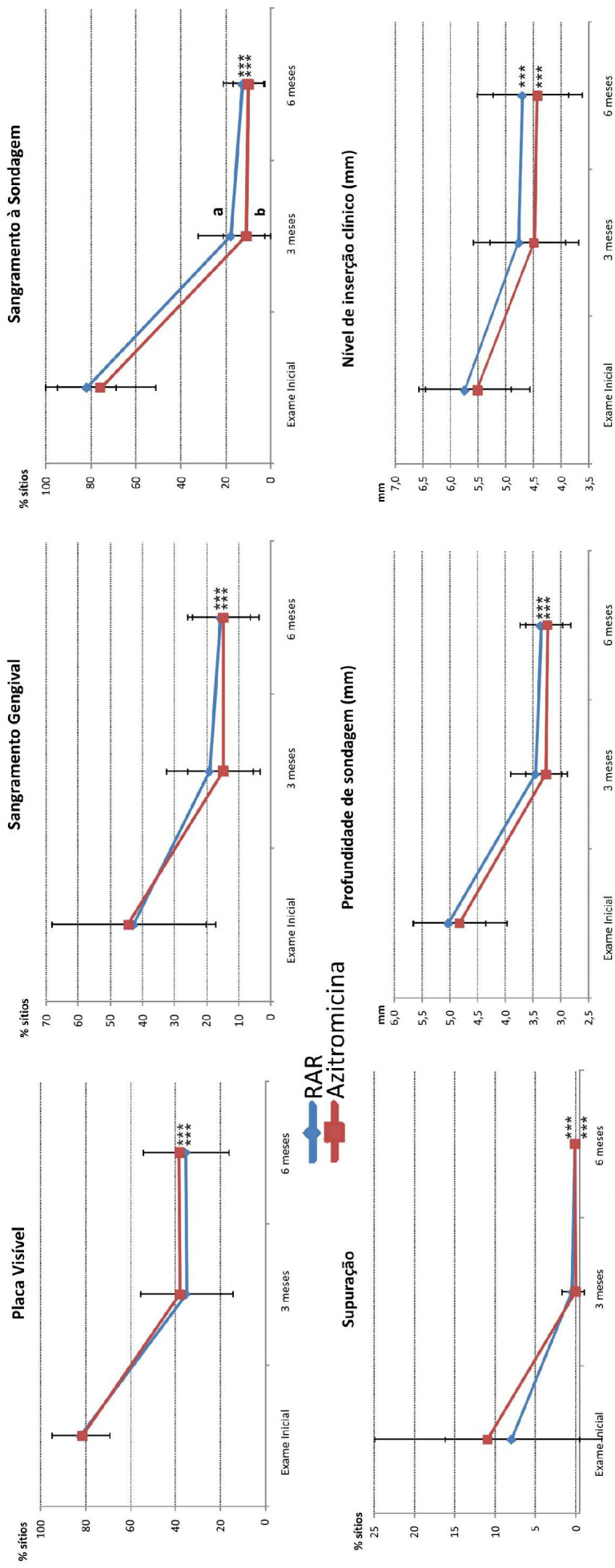


Figura 4 - Média dos parâmetros clínicos avaliados no início do estudo e aos 3 e 6 meses pós-terapia nos dois grupos terapêuticos. Diferenças significativas entre os tempos experimentais foram avaliadas por meio do teste Friedman (***) $p < 0,001$. Diferenças significativas entre os grupos experimentais em cada tempo foram avaliadas por meio do teste U de Mann-Whitney. (Letras diferentes indicam $p < 0,05$).
 RAR: Raspagem e alisamento radicular. Azitromicina: Raspagem e alisamento radicular associado à azitromicina.

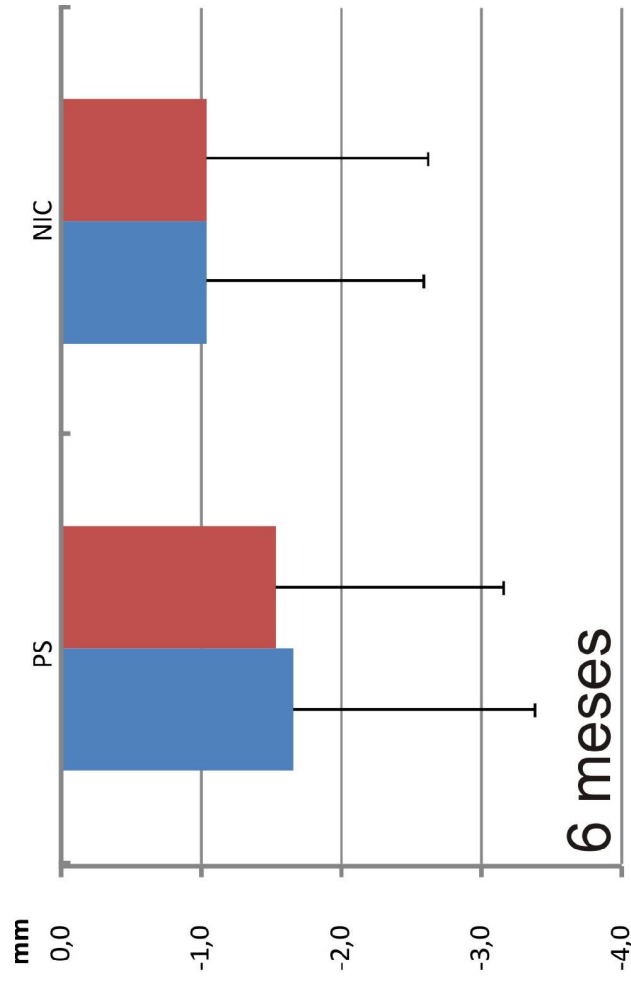
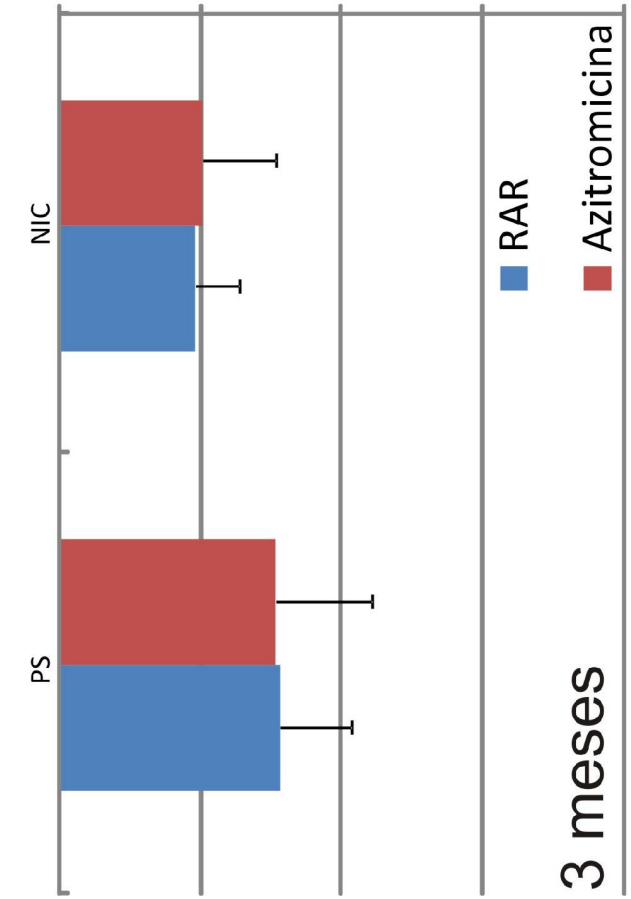


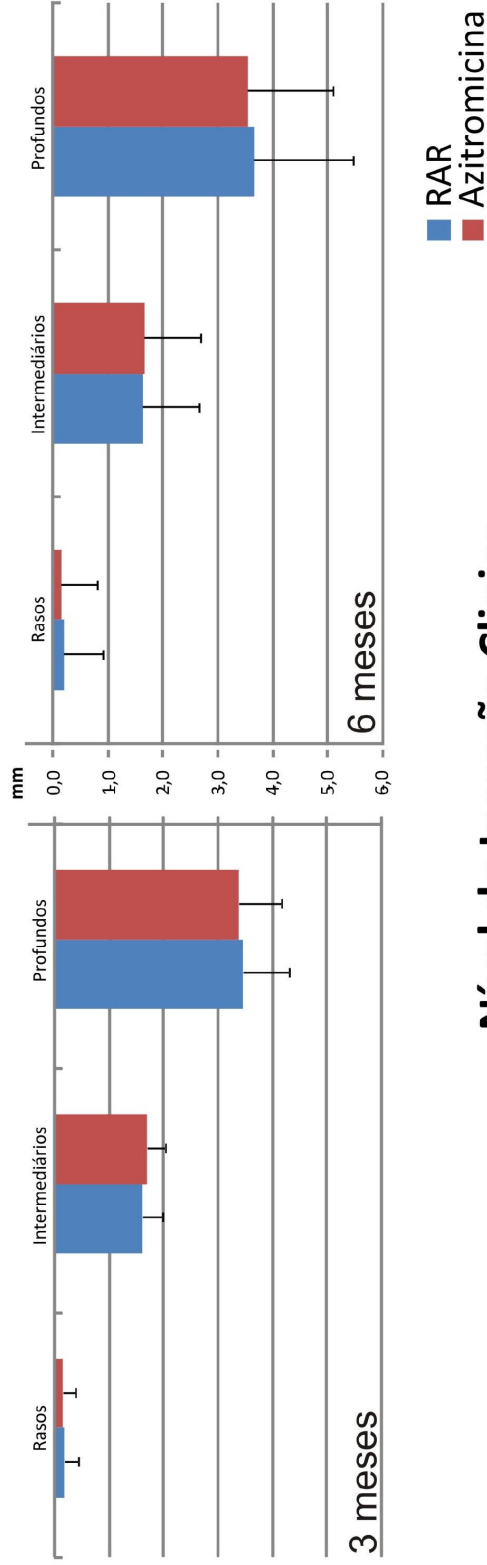
Figura 5 - Alterações entre o início do estudo e 3 e 6 meses após a raspagem e alisamento radicular (RAR) nas médias de profundidade de sondagem (PS) e nível de inserção clínico (NIC) para os dois grupos terapêuticos. Diferenças significativas entre os grupos experimentais em cada tempo foram avaliadas por meio do teste U de Mann-Whitney. Não foram encontradas diferenças significativas ($p > 0,05$). Azitromicina: Raspagem e alisamento radicular associado à azitromicina.

A Figura 6 apresenta os mesmos tipos de dados da Figura 5, porém, para as diferentes categorias de sítios, que foram agrupados de acordo com a PS no tempo inicial em rasos ($<4\text{mm}$), intermediários ($4\text{-}6\text{mm}$) e profundos ($\geq 7\text{mm}$). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.

A Figura 7 apresenta a frequência média de sítios apresentando PS $<5\text{mm}$ e PS $\geq 5\text{mm}$, com ou sem SS aos 3 e 6 meses após as terapias. Em ambos os tempos experimentais o grupo teste mostrou um menor percentual de sítios com PS $\geq 5\text{mm}$ com SS do que o grupo controle. Essa diferença entre os grupos foi significativa aos 3 meses pós-terapia ($p<0,05$) e bem próxima da significância aos 6 meses ($p=0,05$). Aos 3 meses pós-terapia, foram observados 7,1 e 3,4 sítios por paciente com PS $\geq 5\text{mm}$ e SS para os grupos controle e teste, respectivamente; e 7,0 e 4,0 sítios por paciente aos 6 meses.

O ANEXO C traz a porcentagem de respostas do questionário de efeitos adversos. Todos os pacientes ingeriram a medicação conforme prescrito, e afirmaram que tomariam novamente caso fosse necessário. Diarréia foi citada por apenas 10% dos pacientes que ingeriram AZM, sendo esse o único efeito adverso apresentando maior frequência no grupo teste do que no grupo placebo. Gosto metálico, dor de cabeça ou tontura e fraqueza ou falta de ânimo para o trabalho foram mais frequentes nos pacientes do grupo controle, que ingeriram placebo.

Profundidade de Sondagem



Nível de Inserção Clínico

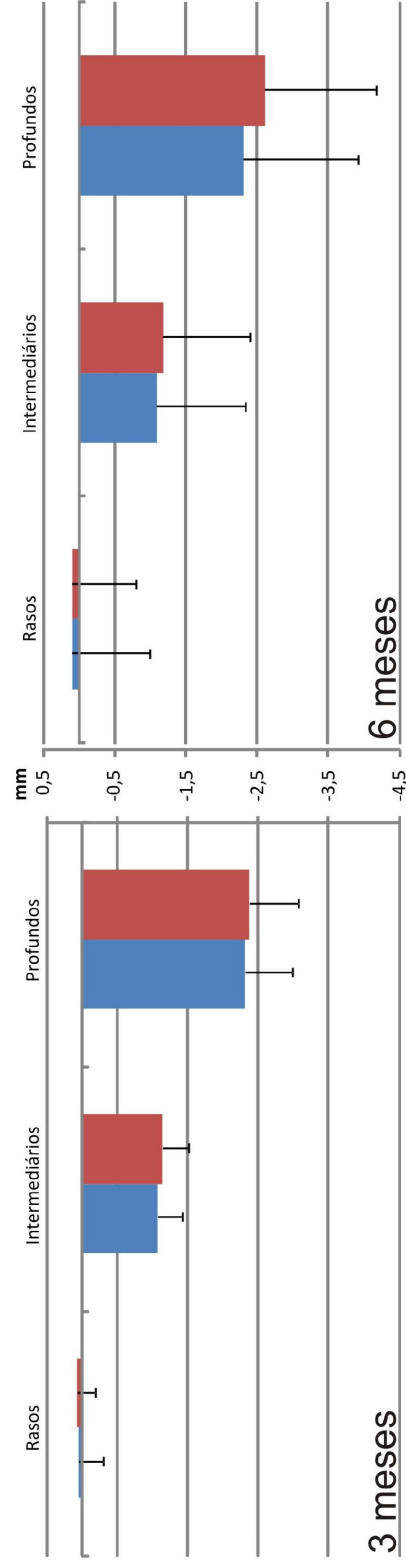


Figura 6 - Alterações entre o início do estudo e 3 e 6 meses após a raspagem e alisamento radicular (RAR) nas médias de profundidade de sondagem (PS) e nível de inserção clínico (NIC) para os sítios agrupados de acordo com a PS inicial em Rasos (PS<4mm), Intermediários (PS 4-6mm) e Profundos (PS ≥ 7mm) para os dois grupos terapêuticos. Diferenças significativas entre os grupos experimentais em cada tempo foram avaliadas por meio do teste U de Mann-Whitney. Não foram encontradas diferenças significativas (p>0,05). Azitromicina: Raspagem e alisamento radicular associado à azitromicina.

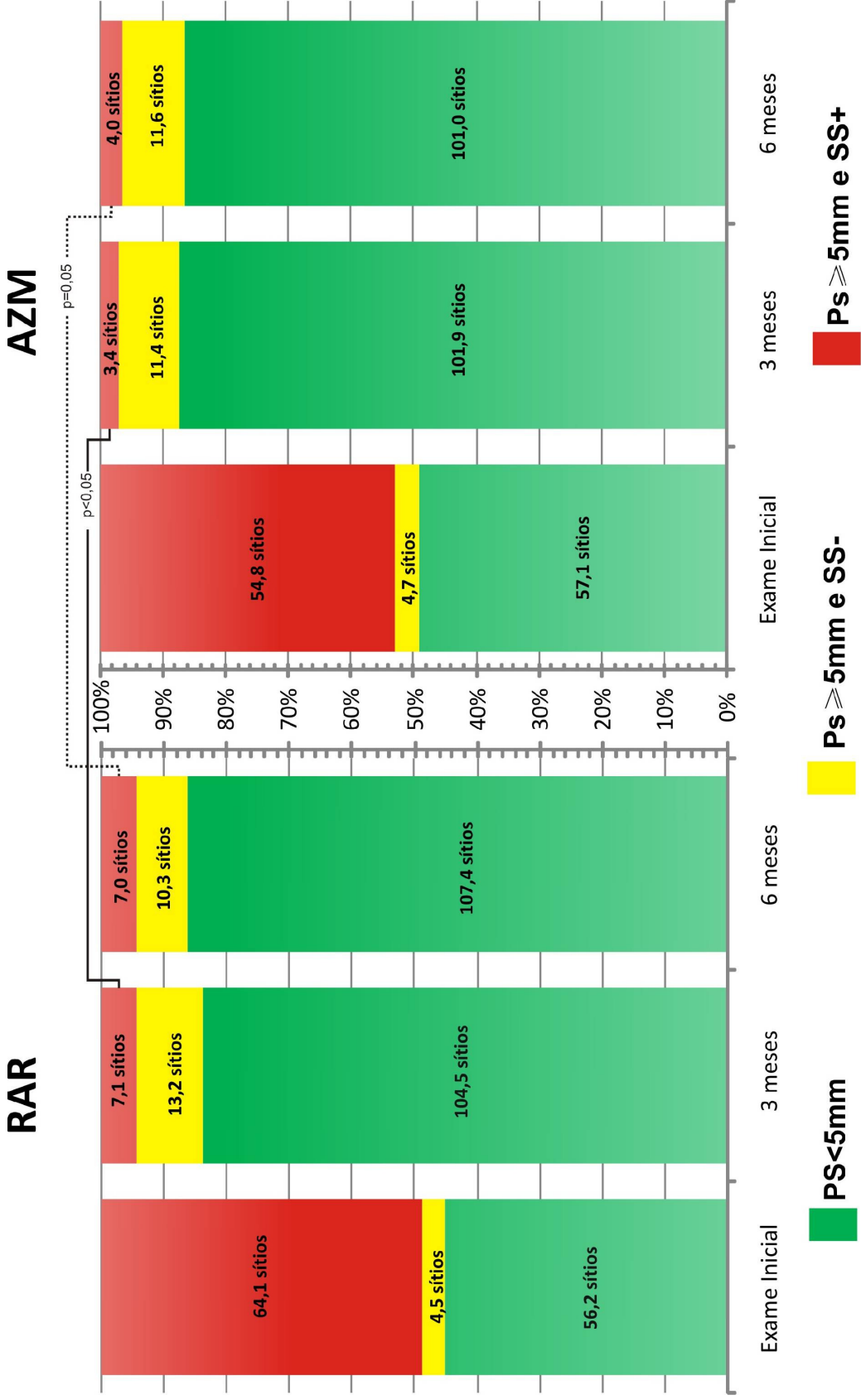


Figura 7 - Frequência média de sítios com profundidade de sondagem (PS) <5mm, PS ≥ 5mm e SS- e PS ≥ 5mm e SS+ nos diversos tempos experimentais.
 Diferenças significativas entre os grupos foram avaliadas por meio do teste U de Mann-Whitney em cada tempo experimental.
 RAR: Raspagem e alisamento radicular.
 AZM: Raspagem e alisamento radicular associado à azitromicina.
 SS- : Ausência de sangramento à sondagem. SS+: Presença de sangramento à sondagem.

4.2. Resultados microbiológicos

A Figura 8 apresenta os níveis (média de contagem $\times 10^5$) das 40 espécies bacterianas subgengivais no início do estudo e aos 3 e 6 meses pós-terapia, para os dois grupos terapêuticos. No grupo controle foram observadas reduções aos 3 meses pós-terapia em oito espécies bacterianas, sendo cinco do complexo laranja (*C. rectus*, *E. nodatum*, *F. nucleatum ss nucleatum*, *F. periodonticum* e *P. micra*), e três do complexo vermelho (*T. forsythia*, *P. gingivalis* e *T. denticola*). Uma espécie do complexo verde estava aumentada (*E. corrodens*). No grupo que tomou AZM, 8 espécies sofreram redução significativa, sendo cinco do complexo laranja (*C. rectus*, *C. showae*, *E. nodatum*, *F. nucleatum ss nucleatum* e *P. intermedia*) e três do complexo vermelho (*T. forsythia*, *P. gingivalis* e *T. denticola*). Uma espécie do complexo verde estava aumentada (*C. ochracea*). Aos 6 meses pós-terapia foram observadas reduções no grupo controle em quatorze espécies bacterianas, sendo uma do complexo roxo (*V. parvula*), oito do complexo laranja (*C. gracilis*, *C. showae*, *E. nodatum*, *F. nucleatum ss nucleatum*, *F. nucleatum ss vicentii*, *P. intermedia*, *P. nigrescens* e *S. constellatus*), três do complexo vermelho (*T. forsythia*, *P. gingivalis* e *T. denticola*) e duas das espécies representadas em cinza (*L. buccalis* e *T. socranskii*). No grupo que tomou AZM quatorze espécies sofreram redução significativa aos 6 meses pós-terapia, sendo uma do complexo roxo (*V. parvula*), sete do complexo laranja (*C. rectus*, *E. nodatum*, *F. nucleatum ss nucleatum*, *F. nucleatum ss polymorphum*, *P. micra*, *P. intermedia*, e *S. constellatus*), três do complexo vermelho (*T. forsythia*, *P. gingivalis* e *T. denticola*) e três espécies que não fazem parte dos complexos microbianos e estão representadas em cinza (*L. buccalis*, *P. melaninogenica* e *T. socranskii*).

A Figura 9 apresenta a comparação dos níveis das espécies avaliadas entre os grupos terapêuticos nos 3 tempos de observação. Não foram encontradas diferenças significativas no início do estudo. Aos 3 meses pós-terapia observou-se níveis significativamente mais baixos no grupo da AZM para 10 das espécies avaliadas (*T. forsythia*, *T. denticola*, *P. intermedia*, *C. rectus*, *C. showae*, *N. mucosa*, *E. corrodens*, *C. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* e *A. israelii*), e aumentados para 5 espécies bacterianas (*V. parvula*, *S. gordonii*, *C. ochracea*, *F. nucleatum ss vicentii* e *P. micra*). Quando os dois grupos foram comparados aos 6 meses,

observou-se níveis significativamente mais baixos no grupo da AZM para *T. forsythia*, e aumentados para 4 (*V. parvula*, *C. gracilis*, *P. micra* e *S. noxia*).

As médias de proporção das espécies avaliadas, antes e após os tratamentos, estão representadas na Figura 10. De forma geral, as duas terapias atuaram de forma mais efetiva na redução dos complexos laranja e vermelho. As proporções dos três patógenos do complexo vermelho foram reduzidas entre o início do estudo e 3 e 6 meses pós-terapia nos dois grupos. Aos 3 meses pós-terapia, 5 espécies do complexo laranja estavam significativamente reduzidas por ambas as terapias, sendo *C. rectus*, *E. nodatum*, *F. nucleatum ss nucleatum*, *F. periodonticum* e *P. micra* no grupo que recebeu apenas RAR; e *C. rectus*, *C. showae*, *E. nodatum*, *F. nucleatum ss nucleatum* e *P. micra* no grupo da AZM. Aos 6 meses pós-terapia *C. rectus*, *E. nodatum*, *P. intermedia*, *P. nigrescens* e *S. constellatus* estavam reduzidas em relação ao início do estudo no grupo controle; e *E. nodatum*, *P. micra* e *P. intermedia* no grupo teste. Em relação às espécies consideradas compatíveis com o hospedeiro, *A. gerencseriae*, *A. israelii*, *A. naeslundii*, *A. oris* e *S. gordonii* mostraram aumento 6 meses pós-terapia no grupo controle, assim como *A. gerencseriae*, *A. naeslundii*, *A. oris* e *S. gordonii* no grupo teste.

As diferenças entre os dois grupos experimentais nas proporções individuais das espécies bacterianas em cada tempo estão representadas na Figura 11. Não foram encontradas diferenças para nenhuma das espécies avaliadas no exame inicial. Aos 3 meses pós-terapia, o grupo que recebeu AZM apresentou proporções significativamente reduzidas para 2 espécies do complexo vermelho (*T. forsythia* e *T. denticola*), 2 do complexo laranja (*P. intermedia* e *C. showae*), e 4 espécies dos complexos verde ou azul (*E. corrodens*, *C. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* e *A. israelii*), além de *N. mucosa*. Outras 6 espécies estavam aumentadas no grupo que recebeu AZM, 3 meses após as terapias (*F. nucleatum ss polymorphum*, *F. nucleatum ss vicentii*, *C. rectus*, *C. ochracea*, *S. gordonii* e *V. parvula*). Aos 6 meses pós-terapia apenas as proporções de *T. forsythia* estavam reduzidas no grupo teste e as de *S. intermedius*, *P. micra* e *P. nigrescens* aumentadas, em relação ao grupo controle.

A Figura 12 mostra as alterações ocorridas 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 significativas entre eles.

Todas as terapias levaram a uma redução significativa nas proporções do complexo vermelho que passou de 22,04% para 1,91% e 1,94% das espécies avaliadas no grupo de AZM, e de 29,33% para 4,78% e 8,42% no grupo controle aos 3 e 6 meses pós-terapia, respectivamente, com diferença significativa entre os grupos aos 6 meses. De forma geral, as proporções dos complexos considerados benéficos, verde, roxo, amarelo e azul aumentaram 3 meses após as terapias, sendo que esse aumento foi mais pronunciado para o grupo de AZM que mostrou alterações significantes em três complexos (verde, azul e amarelo); enquanto que o grupo controle sofreu aumento em apenas dois complexos (azul e amarelo). Comparando as proporções dos diversos complexos microbianos nos dois grupos experimentais aos 6 meses pós-terapia, foi possível notar que os indivíduos que tomaram AZM mostraram proporções significativamente menores do complexo vermelho quando comparado ao grupo que foi tratado somente com RAR.

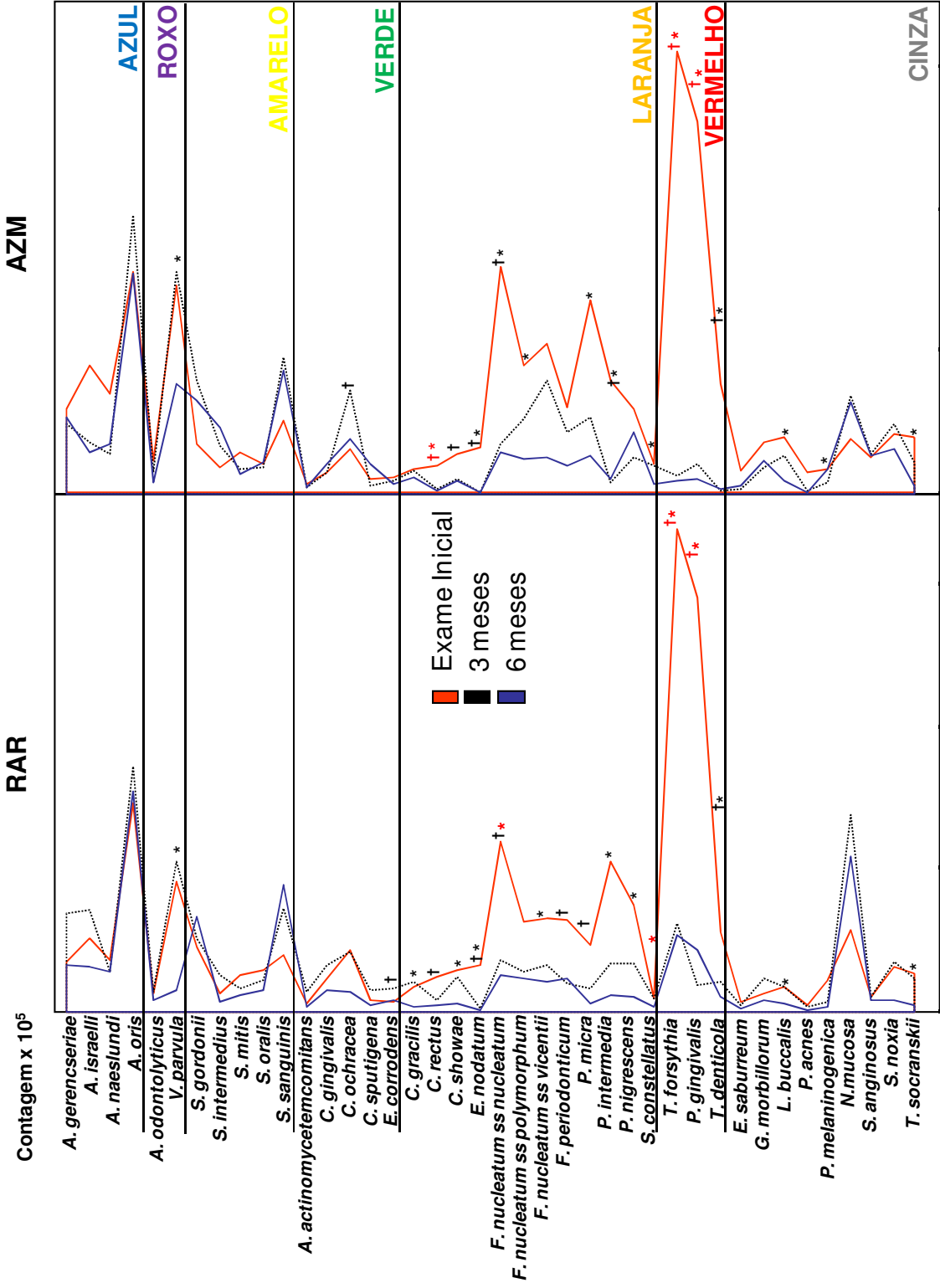


Figura 8 – Médias de contagem ($\times 10^5$) das 40 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgingival no início do estudo e 3 e 6 meses pós-terapia, nos dois grupos terapêuticos. Diferenças significativas entre o exame inicial e os tempos experimentais foram analisadas através do teste t de student pareado.

(†) $p < 0,05$ entre o Exame Inicial e 3 meses; (\dagger) $p < 0,05$ entre o Exame Inicial e 6 meses; (*) $p < 0,05$ entre o Exame Inicial e 6 meses ajustado para comparações múltiplas). RAR: Raspagem e alisamento radicular; AZM: Raspagem e alisamento radicular associado à azitromicina

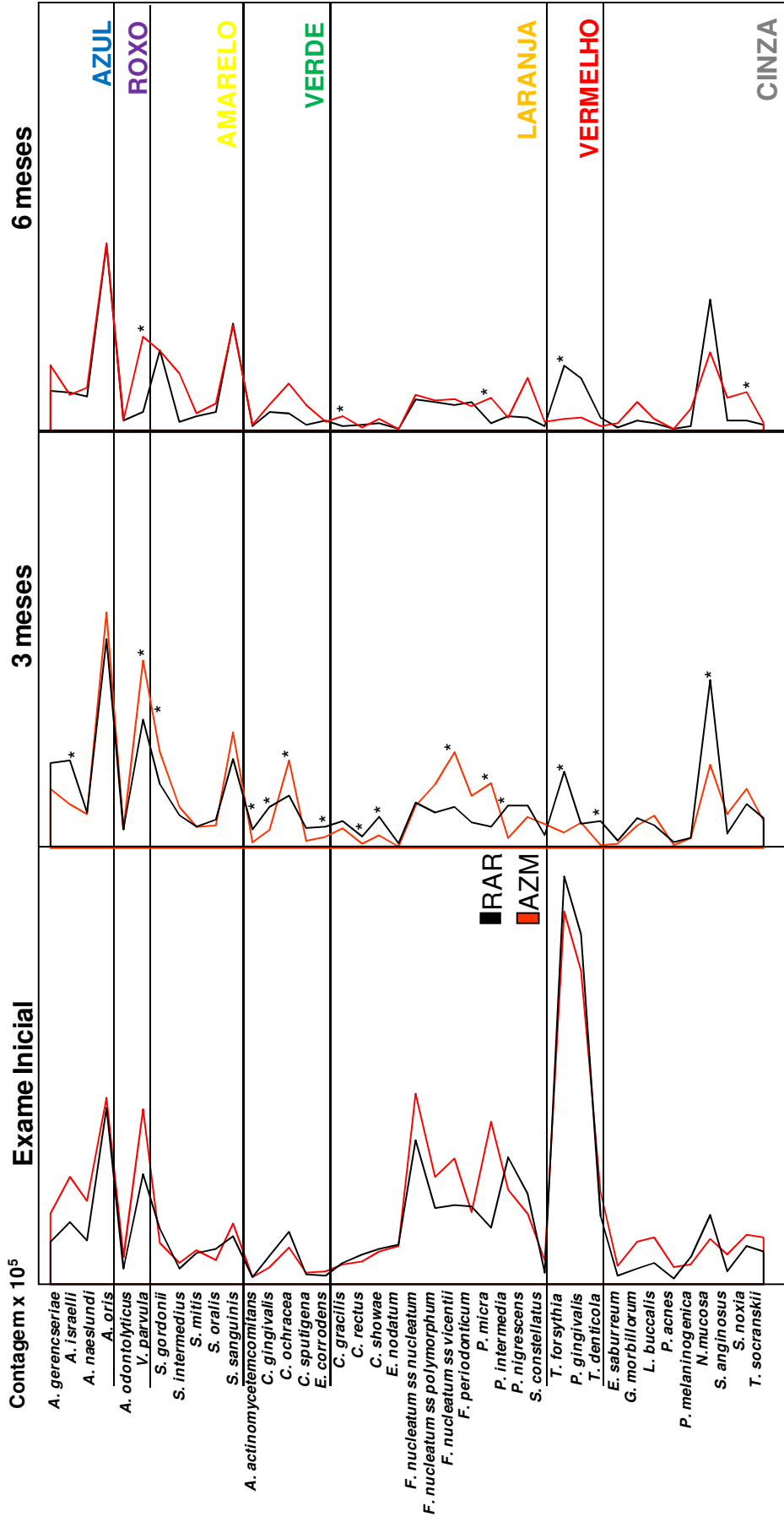


Figura 9 – Médias de contagem ($\times 10^5$) das 40 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgingival no início do estudo e 3 e 6 meses pós-terapia, nos dois grupos terapêuticos. Diferenças significativas entre os grupos experimentais em cada tempo foram analisadas através do teste T de Student. (* $p < 0,05$). RAR: Raspagem e alisamento radicular; AZM: Alisamento radicular associado à azitromicina

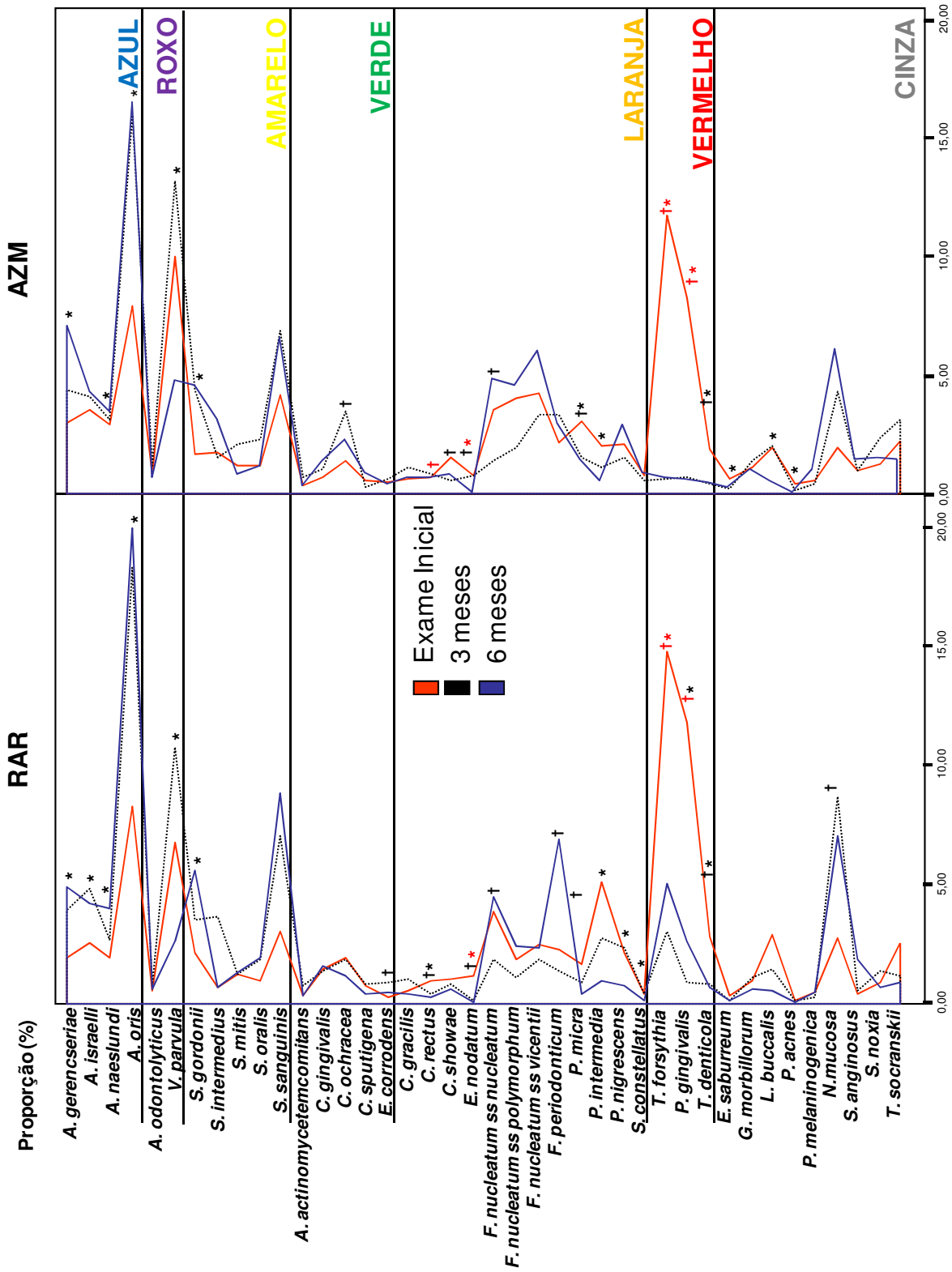


Figura 10 – Médias de proporção das 40 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgingival no início do estudo e 3 e 6 meses pós-terapia, nos dois grupos terapêuticos. Diferenças significativas entre o exame inicial e os tempos experimentais foram analisadas através do teste t de student pareado.

(†) $p < 0,05$ entre o Exame Inicial e 3 meses; * $p < 0,05$ entre o Exame Inicial e 6 meses ajustado para comparações múltiplas).

(*) $p < 0,05$ entre o Exame Inicial e 6 meses; * $p < 0,05$ entre o Exame Inicial e 6 meses ajustado para comparações múltiplas).

RAR: Raspagem e alisamento radicular associado à azitromicina

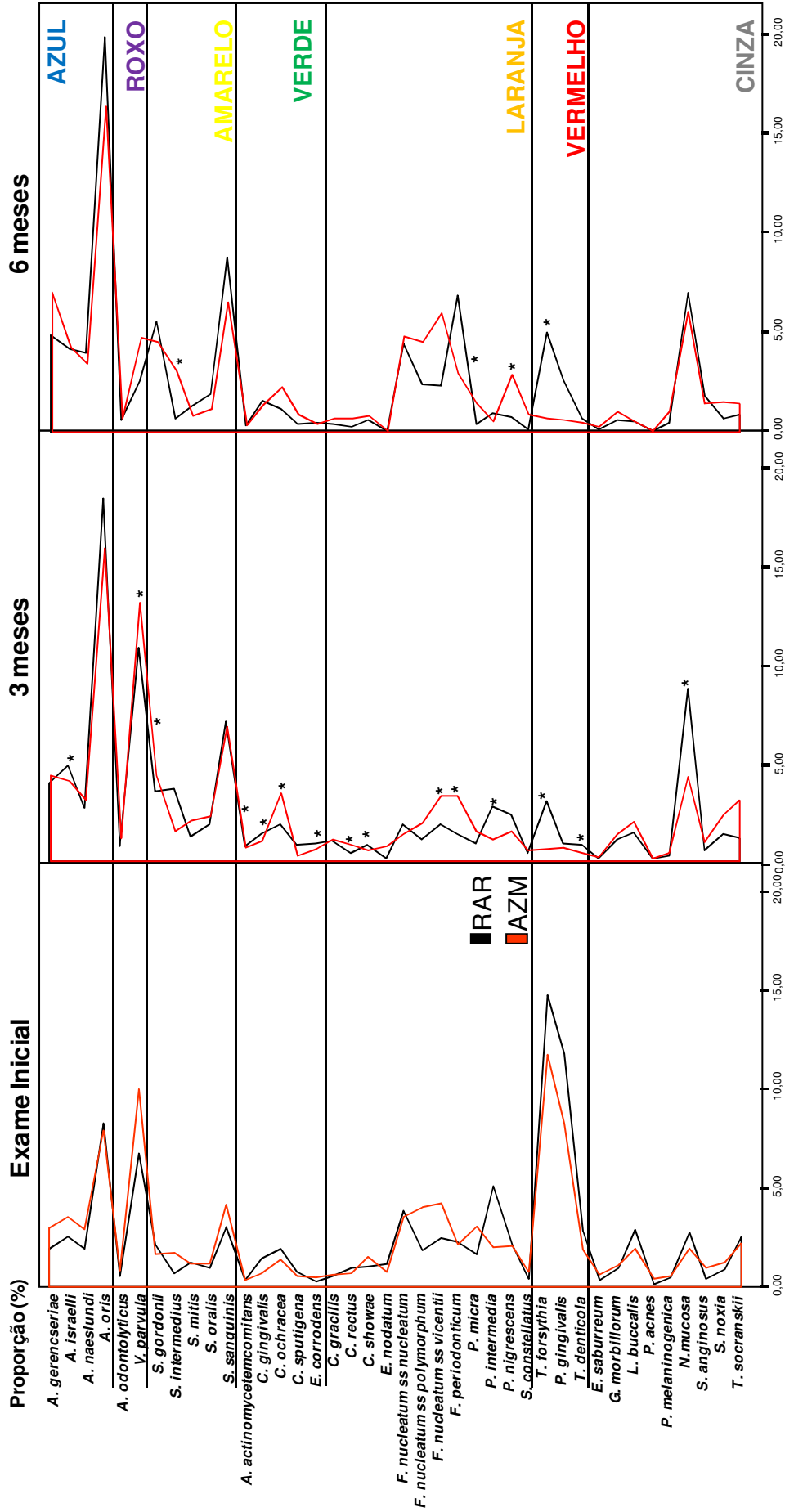


Figura 11 – Médias de proporção das 40 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgingival no início do estudo e 3 e 6 meses pós-terapia, nos dois grupos terapêuticos. Diferenças significativas entre os grupos experimentais em cada tempo foram analisadas através do teste T de Student. (*p<0,05). RAR: Raspagem e alisamento radicular; AZM: Raspagem e alisamento radicular associado à azitromicina

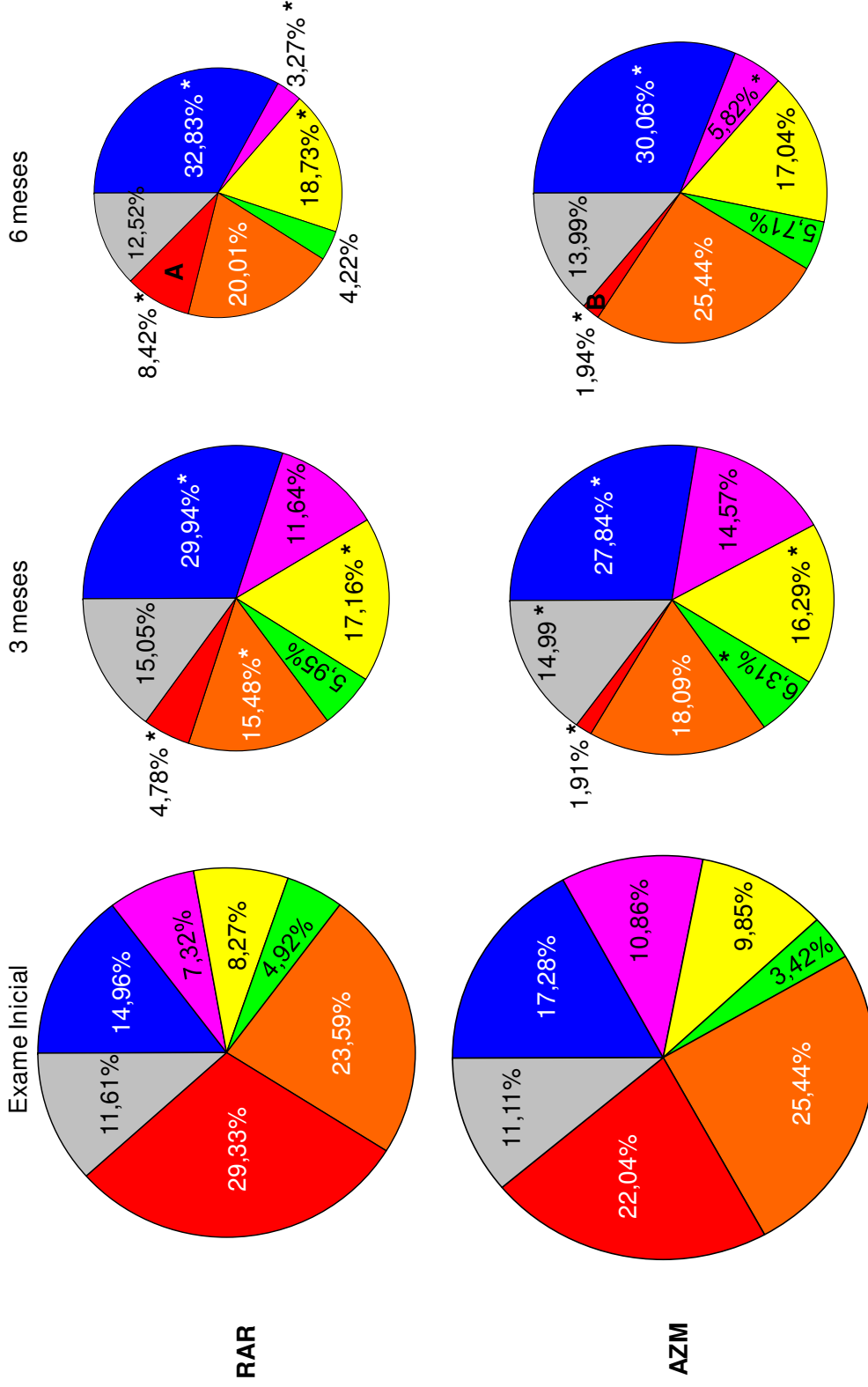


Figura 12 – Proporção dos complexos microbianos presentes nas amostras de biofilme subgingival no início do estudo e aos 3 e 6 meses pós-terapia, nos dois grupos terapêuticos. Diferenças significativas entre o início do estudo e os tempos experimentais foram analisadas através do teste t de student pareado (*p<0,05). Diferenças significativas entre os grupos experimentais em cada tempo foram analisadas através do teste t de student não pareado (Letras diferentes representam p<0,05). A área dos gráficos foi ajustada para representar a quantidade total de bactérias. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos em cada tempo (p>0,05). RAR: Raspagem e alisamento radicular; AZM: Raspagem e alisamento radicular associado à azitromicina.

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 periodontite 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, como 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

sugere 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 frequência 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 diarreia 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 aos 3 e 6 meses pós-tratamento. Esses benefícios foram observados nas avaliações de média de boca toda (Figuras 4 e 5) e também nas realizadas por diferentes categorias de PS inicial (Figura 6). Porém, foi observado um benefício com uso da AZM em relação aos sítios residuais após os tratamentos, uma vez que os indivíduos que tomaram o antibiótico mostraram um menor percentual de sítios com PS \geq 5mm com SS aos 3 e 6 meses (Figura 7). Esse é um dado importante, uma vez que a presença de sítios profundos com SS ao final do tratamento pode ser determinante para a longevidade dos elementos dentários. Matuliene et al. (2008) avaliaram clinicamente 172 pacientes tratados periodontalmente por 3 à 27 anos (média de 11,3 anos) e utilizaram

regressão logística para determinar possíveis fatores de risco para futura perda dentária ou de inserção periodontal. Os autores relataram que dentes com sítios com PS=5mm e SS apresentavam uma taxa de risco relativo de 4,8 para perda dentária comparado com os dentes com sítios com PS até 3mm. Essa taxa de risco relativo era de 7,2 para dentes com sítios com PS=6mm e SS, e de 25,6 para dentes com sítios com PS \geq 7mm e SS.

Haffajee et al. (2007) não demonstraram diferenças entre a RAR isoladamente ou associada à AZM no tratamento de indivíduos com periodontite 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 no tratamento de indivíduos com periodontite agressiva especialmente em bolsas intermediárias 1 ano após o tratamento. 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. Observando as médias de PS ($4,45\text{mm} \pm 0,91$) e NIC ($8,31\text{mm} \pm 1,99$) iniciais do estudo de Gomi et al. (2007) podemos notar que os pacientes avaliados possuíam uma grande retração gengival no início do estudo, sugerindo que esses pacientes já haviam recebido tratamento periodontal anteriormente. Futuros estudos poderiam avaliar os benefícios da AZM em pacientes com periodontite crônica recorrente ou persistente.

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 6 meses após a terapia, enquanto que no presente estudo essa redução foi de 1,66 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 3,56 mm de redução observada no presente 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 subgingival de indivíduos com periodontite crônica (HAFFAJEE et al., 2008). Outros três estudos também realizaram avaliações microbiológicas, porém, em poucas espécies bacterianas e com outras metodologias (SEFTON et al., 1996, GOMI et al., 2007 e YASHIMA et al., 2009).

No presente estudo as duas terapias, controle e teste, levaram a uma melhora no perfil microbiológico subgingival. Algumas diferenças importantes foram observadas entre os grupos. Os indivíduos que tomaram AZM tiveram melhores benefícios na composição da microbiota subgingival, 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 aos 6 meses. É importante destacar que aos 6 meses pós-terapia o grupo teste apresentava níveis e proporções individuais de *T. forsythia* significativamente mais baixos do que os do grupo controle. Além disso, a proporção total desses três patógenos (Figura 12) foi mais profundamente afetada pela AZM. Essa proporção estava reduzida a 1,94% do total das espécies avaliadas nos indivíduos que tomaram antibiótico, contra 8,42% nos indivíduos que receberam apenas RAR ($p < 0,05$). Esses dados são muito importantes uma vez que esses patógenos são os mais intimamente associados com a etiologia das periodontites crônicas (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2005).

Quatro estudos anteriores também avaliaram os efeitos da AZM nas espécies do complexo vermelho. Em concordância com os nossos resultados, Mascarenhas et al. (2005), Gomi et al. (2007) e Yashima et al. (2009) também observaram um benefício em relação aos patógenos do complexo vermelho quando a AZM sistêmica foi associada à RAR. Utilizando PCR, Gomi et al. (2007) observaram que a AZM foi capaz de eliminar *T. denticola*, *T. forsythia* e *P. gingivalis* de 4 sítios subgingivais de indivíduos com periodontite crônica tratados com RAR em uma única sessão e AZM, até 13 semanas pós-tratamento. Porém, todas as três espécies foram detectadas no grupo controle após 5 semanas. Yashima et al (2009), utilizando PCR, observaram que a AZM associada à RAR, realizada em sessão única ou por quadrantes, foi capaz de eliminar *T. denticola* de 4 sítios subgingivais, de pacientes com periodontite crônica por até 12 meses após a terapia. Já *P. gingivalis* foi detectado 9 meses após a terapia e *T. forsythia* após 1 mês. Porém, no grupo controle, os autores já detectaram *T. forsythia* e *P. gingivalis* 1 mês após a terapia e *T. denticola* após 6 meses. Mascarenhas et al. (2005), avaliando uma população de fumantes, observaram que a AZM foi capaz de diminuir a frequência de sítios BANA-positivos (colonizados por *P. gingivalis* e/ou *T. forsythia* e/ou *T. denticola*), de 52,19% para 3,35%; enquanto que no grupo controle essa redução foi de 47,74% para 33,32%. Por outro lado, Haffajee et al. (2008) não observaram um efeito profundo da AZM sobre as espécies do complexo vermelho. Os autores mostraram que a combinação de RAR e AZM foi capaz de reduzir significativamente

os níveis de *T. forsythia*, enquanto que o grupo controle, que recebeu apenas RAR, mostrou redução nos níveis de *T. forsythia* e *P. gingivalis* em 1 ano pós-tratamento.

Um resultado inesperado no presente estudo foi a baixa efetividade da AZM nas proporções das espécies do complexo laranja, individualmente e em conjunto (Figuras 8, 10 e 12). Estudos anteriores do nosso grupo sugerem que a utilização de outros antibióticos sistêmicos, como a combinação do metronidazol e da amoxicilina são mais efetivos do que a RAR na redução desses patógenos (MESTNIK et al., 2009). Uma possibilidade a ser considerada é a resistência aumentada de algumas espécies desse complexo a esse antibiótico. Serrano et al. (2009) detectaram uma alta ocorrência de cepas de *F. nucleatum* e *P. intermedia* resistentes à AZM em uma população colombiana. Haffajee et al. (2008) observaram que aproximadamente 25% dos sítios subgengivais de indivíduos americanos com periodontite crônica apresentavam cepas de *F. nucleatum ss vincentii* resistentes à AZM. Esse percentual foi próximo de 15% para *F. nucleatum ss nucleatum* e de 10% para *F. periodonticum* e *F. nucleatum ss polymorphum*. Esses dados podem explicar a falta de efetividade da AZM nas proporções das espécies de *Fusobacterium* observada no presente estudo.

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. Quando as proporções dos complexos foram avaliadas (Figura 12) observou-se um aumento significativo pós-terapia nas proporções de 2 a 3 complexos compatíveis com saúde nos dois grupos experimentais. Aos 6 meses de observação a soma das proporções dos complexos compatíveis com saúde estava substancialmente aumentada em relação ao início do estudo nos dois grupos, sem aparente diferença entre eles.

5.3. Considerações finais

De forma geral, a AZM associada à RAR não demonstrou benefícios clínicos substanciais aos obtidos com a RAR isoladamente, porém algumas alterações mais benéficas na composição da microbiota subgengival foram observadas, como no efeito adicional do antibiótico nas espécies do complexo vermelho. É importante ressaltar que muitas vezes as alterações microbiológicas precedem as clínicas. Isso ocorre principalmente em casos de indivíduos que nunca receberam tratamento periodontal anterior. 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 no curto prazo. 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).

Uma hipótese a ser levantada para a falta de efetividade clínica da AZM é o pouco efeito deste antibiótico sobre as espécies do complexo laranja. Essas espécies possuem papel importante na etiopatogenia da periodontite crônica porque funcionam como ponte entre os colonizadores primários e as espécies do complexo vermelho, precedendo a colonização desses patógenos. Em um estudo prévio do nosso grupo de pesquisa (MATARAZZO et al. 2008) em indivíduos fumantes com periodontite crônica, também observamos que as três terapias testadas (RAR, RAR + metronidazol ou RAR + metronidazol + amoxicilina) não foram efetivas em reduzir as proporções do complexo laranja, levando inclusive a um aumento nas proporções desse complexo pós-terapia. Com isso, os resultados clínicos ficaram aquém dos esperados. Adicionalmente, no grupo de RAR somente, em que esse complexo sofreu o maior aumento pós-tratamento foram observados os piores resultados clínicos.

O acompanhamento longitudinal dos indivíduos do presente estudo será fundamental para determinar se os benefícios microbiológicos sobre o complexo vermelho serão mantidos e conseqüentemente, outras vantagens clínicas surgirão no grupo teste ao longo do tempo; ou se o pouco efeito observado no complexo

laranja propiciará uma recolonização rápida do complexo vermelho, eliminando longitudinalmente as vantagens microbiológicas e clínicas observadas até aqui.

6. CONCLUSÃO

A combinação de AZM sistêmica à RAR levou a um benefício adicional na composição da microbiota subgengival em indivíduos com periodontite crônica. Porém aos 6 meses pós-terapia, esse efeito benéfico ainda não se refletiu inteiramente nos parâmetros clínicos periodontais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ainamo J, Bay. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*. 1975(4);25:229-35.
- 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.
- Barkai G, Greenberg D, Givon-Lavi N, Dreifuss E, Vardy D, Dagan, R. Community prescribing and resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Emerg Infect Dis*. 2005; 11:829-37.
- 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.
- Bergman M, Huikko S, Huovinen P, Paakkari P, Seppälä H, Finnish Study Group for Antimicrobial Resistance (FiRe Network). Macrolide and azithromycin use are linked to increased macrolide resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006; 50; (11): 3646-50.
- Bertoni G, Sassatelli R, Nigrisole E, Tansini P, Bianchi G, Della Casa G, Bagni A, Bedogni G. Triple therapy with azithromycin, omeprazole, and amoxicillin is highly effective in the eradication of *Helicobacter pylori*: a controlled trial versus omeprazole plus amoxicillin. *Am J Gastroenterol*. 1996; 91: 258-63.
- Blandizzi C, Malizia T, Lupetti A, Pesce D, Gabriele M, Giuca MRI. 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'Ávila GB, Leão A, Gonçalves C, Haffajee AD, Socransky SS. 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.
- Cerdá Zolezzi P, Laplana LM, Calvo CR, Cepero PG, Erazo MC, Gómez-Lus R. Molecular basis of resistance to macrolides and other antibiotics in commensal viridans group streptococci and *Gemella spp.* and transfer of resistance genes to *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004; 48(9):3462-7.
- Chand DH, Quattrocchi J, Poe SA, Terezhalmay 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, Albin 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, Albin 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 Figueiredo 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 endonuclease 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. Systemic doxycycline administration in the treatment of periodontal infections. I. Effect on the subgingival 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; 36: 857-67.
- Garcia-Rey C, Aguilar L, Baquero F, Casal J, Dal-Re R. Importance of local variations in antibiotic consumption and geographical differences of erythromycin and penicillin resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol.* 2002; 40:159-64.
- 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.
- 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 azithromycin. *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.
- Gribajceviæ M, Vanis N, Mesishoviæ R. Clinical effectiveness of omeprazole, azithromycin and amoxicillin in ulcer healing and eradication of *Helicobacter pylori* infection. *Med Arh.* 2003; 57 (1S2):107-10.
- Guerrero A, Griffiths GS, Nibali L, Suvan J, Moles DR, Laurell L, Tonetti MS. Adjunctive benefits of systemic amoxicillin and metronidazole in non-surgical treatment of generalized aggressive periodontitis: a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2005; 32(10): 1096-107.
- 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 review 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.
- Kastner U, Guggenbichler JP. Influence of macrolide antibiotics on promotion of resistance in the oral flora of children. *Infection.* 2001; 29(5):251-6.
- Løe 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.
- Løe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E. Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 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, Hujuel P, Schwarcz J, Smith BA. Metronidazole in periodontitis: reduced need for surgery. *J Clin Periodont.* 1992; 19: 103-112.
- Lukehart SA, Godornes C, Molini BJ, Sonnett P, Hopkins S, Mulcahy F, Engelman J, Mitchell SJ, Rompalo AM, Marra CM, Klausner JD. Macrolide resistance in *Treponema pallidum* in the United States and Ireland. *N engl J Med.* 2004; 351:154-8.
- Mascarenhas P, Gapski R, Al-Shammari K, Hill R, Sohren S, Fenno JC. 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.
- Matuliene G, Pjetursson BE, Salvi GE, Schmidlin K, Brägger , Zwahlen M, Lang NP. Influence of residual pockets on progression of periodontitis and tooth loss: results after 11 years of maintenance. *J Clin Periodontol.* 2008; 35; 8:685-95.
- Mendes C, Kiffer CRV, Blosser-Middleton RS, Jones ME, Karlowsky JA, Barth A, Rossi F, Sandrade S, Sader HS, Thornsberry, Sahm DF. Antimicrobial susceptibility to levofloxacin and other antibacterial agents among common respiratory pathogens – a Brazilian perspective from the GLOVAL surveillance Initiative 2001-2002. *Clin Microbiol Infect.* 2004; 10:521-26.
- Mestnik MJ, Feres M, Figueiredo LC, Duarte PM, Faveri M. Short-term benefits of the adjunctive use of metronidazole plus amoxicillin in the microbial profile and in clinical parameters of subjects with generalized aggressive periodontitis. *J. Clinical Periodont.*, 2009, in press
- Mitchell SJ, Engelman J, Kent CK, Lukehart SA, Godornes C, Klausner JD. Azithromycin-resistant syphilis infection: San Francisco, California, 2000-2004. *Clin Infect Dis.* 2006; 42(3):337-45.
- Moeintaghavi A, Talebi-ardakani MR, Haerian-ardakani A, Zandi H, Taghipour S, Fallahzadeh H, Pakzad A, Fahami N. Adjunctive effects of systemic amoxicillin 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 disinfection" 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.
- Reinert RR, Al-Lahham A, Lemperle M, Tenholte C, Briefs C, Haupts S, Gerards HH, and Lutticken R. Emergence of macrolide and penicillin resistance among invasive pneumococcal isolates in Germany. *J Antimicrob Chemother*. 2002; 49:61–68.
- Rodrigues RM, Goncalves C, Souto R, Feres-Filho EJ, Uzeda M, Colombo AP. Antibiotic resistance profile of the subgingival 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 controlled study. *J Clin Periodontol*. 2002; 29: 342-350.
- Satoda T. the new clinical point of view in medicine for dentistry at the 21st century. *J Jap Assoc Dental Sci*. 2003; 22:11-17.
- 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.
- Antibiotic resistance of periodontal pathogens obtained from frequent antibiotic users. Serrano C, Torres N, Valdivieso C, Castaño C, Barrera M, Cabrales A. *Acta Odontol Latinoam*. 2009;22(2):99-104.
- Silva FM, Eisig JN, Teixeira ACS, Barbuti RC, Navarro-Rodriguez T, Mattar R. Short-term triple therapy with azithromycin for *Helicobacter pylori* eradication: Low cost, high compliance, but low efficacy. *BMC Gastroenterol*. 2008; 08; 20.
- Smith GL, Socransky SS, Smith CM. Non-isotopic DNA probes for the identification of subgingival microorganisms. *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 goals of periodontal therapy. *Periodontol* 2000. 2006; 42: 180-218.
- Tokgöz 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 controlled 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 orientado? | | | |
| 2. Você sentiu algum mal-estar devido ao medicamento que tomou? | | | |
| 3. Sentiu náuseas ou vômito? | | | |
| 4. Teve diarreia 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 necessário? | | | |

ANEXO B – 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 _____,
 _____, na cidade de _____, Estado de _____,

_____ concordo em participar dessa pesquisa – AVALIAÇÃO CLÍNICA E MICROBIOLÓGICA DA ASSOCIAÇÃO DA AZITROMICINA DE USO SISTÊMICO EM INDIVÍDUOS PERIODONTITE CRÔNICA. Estou ciente que essa pesquisa pretende estudar o efeito do uso de um antibiótico (azitromicina) associado ao tratamento tradicional de raspagem na eliminação da periodontite crônica. A periodontite crônica 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 periodontite crônica, 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 nove 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 periodontite crônica.

O tratamento utilizado será de raspagem das superfícies dos dentes (coroa e raiz) 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
 77.854

Dra. Magda Feres – CRO-SP
 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 periodontite crônica. 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
77.854

Dra. Magda Feres – CRO-SP
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 diarreia 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 |