

ANÁLISE DA PLACA BACTERIANA SUBGENGIVAL EM PACIENTES DE RISCO À DOENÇA PERIODONTAL E SUA CAPACIDADE PREVISORA DE PERDA DE INSERÇÃO PERIODONTAL*

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF SUBGINGIVAL PLAQUE IN RISK PATIENTS OF PERIODONTAL DISEASES AND ITS PREDICTIVE VALUE FOR PERIODONTAL ATTACHMENT LOSS

Emildre Costa BARROSO

Aluna do Curso de Doutorado da Disciplina de Periodontia da FOB - USP.

Aguinaldo CAMPOS JÚNIOR

Professor Livre Docente da Disciplina de Periodontia da FOB - USP.

José Alfredo Gomes de MENDONÇA

Aluno do Curso de Doutorado da Disciplina de Periodontia da FOB - USP.

* Parte da Dissertação de Mestrado do Curso de Pós-Graduação em Periodontia da Faculdade de Odontologia de Bauru - USP.

Examinou-se 104 amostras de placa bacteriana subgingival de 25 pacientes adultos com 18 a 45 anos, considerados de risco à doença periodontal, quanto à presença de bactérias periodontopáticas e valor preditor de perda de inserção, usando-se a técnica "slot immunoblot". As bactérias analisadas foram: *P.g.*, *P.i.*, *T.d.*, *A.v.*, *S.sg.* Dos 104 sítios amostrados, apenas 12 apresentaram perda de inserção quando este critério foi avaliado com intervalo de 6 meses, utilizando-se sonda computadorizada (Florida Probe) e um critério de "cohort" de 0,9 mm. A partir da análise dos resultados, vê-se que poucos sítios tiveram perda de inserção e que a quantidade de bactérias detectadas parece ter pouco ou nenhum valor preditor positivo de perda de inserção. O método de análise por "slot immunoblot" é pouco sensível e altamente específico para detectar perda de inserção em função da presença de bactérias. Parece que, os métodos de análise microbiológica ainda não são suficientemente seguros para serem utilizados sozinhos como método de diagnóstico para prever perda de inserção periodontal.

UNITERMOS: Placa bacteriana; Doença periodontal; Microbiologia.

INTRODUÇÃO

Os parâmetros clínicos registrados num exame periodontal utilizando métodos de diagnóstico como sondagem periodontal e radiografias, até bem pouco tempo incluíam medidas e índices baseados nos sinais e sintomas das doenças periodontais. Desta maneira, só se relatava a severidade da doença, sendo os dados imprecisos e insuficientes para determinar atividade da doença e pobres previsores de sítios que poderiam experimentar doença ativa¹⁶.

Com a introdução de sondas computadorizadas e radiografias de subtração, o diagnóstico das doenças periodontais entrou em uma nova era. Estas técnicas oferecem medidas mais precisas da progressão e atividade da doença e, talvez, ajudem a estabelecer padrões para avaliar novos testes de diagnóstico microbiológico, imunológico e bioquímico para a doença periodontal. A meta dos novos testes para periodontite é permitir a detecção precoce de atividade da doença, preferivelmente antes que ocorra uma destruição de tecido ósseo e perda de inserção significativa¹⁴.

Demonstrou-se a existência de grupos de baixo e alto risco¹⁵, e os esforços científicos estão direcionados para a identificação de tais indivíduos de risco, os sítios em atividade, bem como a capacidade de previsão de futura perda de inserção. Além do mais, há dados substanciais de que doenças periodontais são infecções específicas e ocorrem em hospedeiros susceptíveis^{8,26}.

Há evidências de que não existe uma etiologia simples para as diferentes formas de doenças periodontais. Pesquisas no campo da microbiologia oral têm sugerido uma associação entre microrganismos específicos e as várias formas de periodontite. Parece provável que alguns microrganismos considerados como patógenos periodontais sejam as espécies dominantes em sítios mostrando recente perda de inserção antes do tratamento, e em sítios com perda contínua de inserção após tratamento periodontal. De forma contrária, tais espécies bacterianas deveriam ser menos dominantes em sítios monitorados não demonstrando mudança de inserção (sítios inativos), incluindo sítios tratados com sucesso (previamente ativo)³⁷.

Frente a estes estudos, optou-se, neste trabalho, por verificar a presença e a relação entre as bactérias *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinomyces viscosus*, *Treponema denticola* e *Streptococcus sanguis* com a perda de inserção em indivíduos de risco à doença periodontal. Para esta averiguação, empregou-se um teste imunológico de análise específica e rápida denominado "SLOT IMMUNOBLOT", utilizando-se anticorpos policlonais.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostra

A amostra constituiu-se de 40 pacientes (20 homens

e 20 mulheres) com idade de 18 a 45 anos; presença mínima de dois dentes com profundidade de sondagem ≥ 5 mm; pelo menos um sítio com perda de inserção ≥ 4 mm; ausência de alterações sistêmicas (tais dados colocaram-nos na categoria de risco à doença periodontal); sem tratamento periodontal e antibioticoterapia nos últimos 6 meses e não gestantes. Realizou-se uma sondagem manual com uma sonda periodontal modelo "Michigan \emptyset " (Hu-Friedy) e anotado os sítios com profundidade de sondagem ≥ 5 mm e/ou perda de inserção ≥ 4 mm, para uma futura coleta de placa para o teste microbiológico²². Os pacientes receberam instrução de higiene e fisioterapia oral e foram submetidos a raspagem supra e subgengival com um aparelho ultra-sônico do tipo "Profi II" (Dabi-Atlante) em todos os dentes, com finalidade de padronização da amostra⁴¹ e afim de se evitar tomar medidas de sítios ativos juntamente com aqueles quiescentes. Esta fase foi considerada como o "baseline".

Coleta das amostras (primeira amostragem)

Após quatro semanas da realização do "baseline", cada paciente foi submetido à coleta de placa, com curetas, nos sítios com maior perda de inserção, daí a variação nos dentes e número de amostras por paciente^{10,22}.

Realizou-se uma sondagem com uso de sonda eletrônica computadorizada (Florida Probe) em todos os sítios (mesiovestibular, vestibular, distovestibular, mesiolingual, lingual e distolingual).

A coleta da placa subgengival, foi realizada com uma cureta estéril (Dental Duflex - S.S. White Artigos Dentários Ltda.) introduzida no fundo da bolsa e o material coletado foi colocado em um criotubo (Vanguard) contendo uma solução de transporte e manutenção (coquetel inibidor de protease cedida pelo Dr. Dennis Lopatin, Michigan, USA). As amostras foram identificadas em cada criotubo (número do paciente e do dente e nome do sítio) e mantidas em congelador até o momento da análise.

Material

Solução de transporte e manutenção: coquetel inibidor de protease:

- 0,5 ml de solução salina tampão fosfato contendo fosfato de sódio 0,05 M, NaCl 0,15M (pH 7,4) com 0,5% de formaldeído (Mallinckrodt Chemical); EDTA (2mM) (Mallinckrodt Chemical); fluoreto de fenilmetilsufonil (1,0 mM) (Sigma); Pepstatin A (0,1mM) (Sigma) e Leupeptin (0,5 mg/litro) (Sigma)

A solução foi distribuída em porções de 0,5 ml nos criotubos e armazenada a -20°C até o momento de uso. A metodologia de processamento das amostras seguiu os mesmos passos descrito por VAN POPERIN; LOPATIN, 1991³⁸.

Os anticorpos policlonais usados foram: anti-*Porphyromonas gingivalis*, anti-*Prevotella intermedia*, anti-*Treponema denticola*, anti-*Actinomyces viscosus* e

anti-*Streptococcus sanguis*.

Monitoramento (segunda amostragem)

Os pacientes retornaram após 180 dias, e a mesma seqüência de coleta das amostras foi realizada. Porém houve uma defasagem no número de pacientes nesta segunda amostragem, ficando o total em 25 pacientes (13 homens e 12 mulheres) e 104 sítios.

Posteriormente, tais amostras foram enviadas para serem analisadas no Laboratório de Imunologia da Universidade de Ann Arbor, Michigan, nos Estados Unidos.

RESULTADOS

Dos 104 sítios analisados por meio do método "slot immunoblot", 12 (11,54%) apresentaram perda de inserção quando medidos por sonda computadorizada (FLORIDA PROBE) com um critério de "cohort" de 0,9mm de variação entre a primeira e a segunda análise, após 6 meses, e 92 sítios não modificaram o nível de inserção.

Ao analisar os cálculos dos valores de diagnóstico (sensibilidade e especificidade) do teste do Slot Immunoblot (S.I.B.) para perda de inserção com relação à detecção das bactérias pesquisadas neste trabalho, encontrou-se que:

- Com relação à **primeira análise**, temos: a sensibilidade variou de 0,00% para o *S. sanguis* a 100,00% para a placa bacteriana; os valores de especificidade foram maiores, variando de 14,13% para a placa bacteriana, a 89,13% para a *T. denticola*;

- Com relação à **segunda análise**, temos: a sensibilidade de uma forma geral, continuou baixa, variando de 0,00% para *S. sanguis* e *T. denticola* a 83,33% para a placa bacteriana. E a especificidade teve seus valores um pouco elevados, variando de 19,56% para a placa bacteriana a 95,65% para a *T. denticola*.

Analisando-se os Valores Previsores Positivos, ou seja, a capacidade do item avaliado prever doença ativa, vê-se que tanto na **1ª** quanto **2ª análise** seus valores foram baixos. Situar-se entre 0,00% para *S. sanguis* e 13,18% para placa bacteriana (**1ª análise**) e 0,00% para *S. sanguis* e *T. denticola* e 13,63% para o *A. viscosus* (**2ª análise**).

Os Valores Previsores Negativos foram bem maiores do que estes anteriores, alterando de 84,31% para *P. intermedia* a 100,00% para a placa bacteriana, na **1ª análise**. Na **2ª análise**, observa-se uma variação de 87,50% para *P. intermedia* a 90,00% para a placa bacteriana.

DISCUSSÃO

Os parâmetros tradicionais de doença periodontal são previsores pobres de sítios que poderiam experimentar doença ativa, e para complicar o problema, a doença

periodontal parece possuir múltiplos fatores de risco^{1,3,6,10,15}.

Com o conhecimento destas questões, veio a idéia de identificar as fases ativas da doença e determinar na população total, aqueles pacientes que poderiam ser classificados dentro da categoria de risco, bem como tentar prever episódios futuros de perda de inserção.

A sensibilidade de um teste de diagnóstico representa a proporção de indivíduos ou sítios com doença verdadeiramente presente (progressão) que tem um teste positivo. Um teste altamente sensível dificilmente não detectará uma doença. Ao avaliar a progressão da doença periodontal, um aumento na profundidade de sondagem é um método sensível para avaliar doença ativa. Pode-se frequentemente detectar resultados falso-positivos em um teste muito sensível.

Especificidade é a proporção de indivíduos ou sítios com doença verdadeiramente ausente que têm teste negativo. Um teste altamente específico raramente será positivo na ausência de doença, o que significa que há poucos ou nenhum valor falso-positivo. Na interpretação radiográfica de perda óssea, sinais precoces dificilmente são diferenciados e um número alto de falso negativo deve ser esperado, uma vez que é um teste específico. Por isto, testes específicos são escolhidos para confirmar ou determinar o diagnóstico da doença e um teste altamente específico pode permitir uma alta taxa de falso-negativos, significando que a doença está presente e o teste não a revelou^{1,8, 17,19}.

Valor de previsão de doença refere-se à probabilidade do teste concordar com o estado atual de saúde ou doença ou seja, a proporção de resultados verdadeiro-positivos e verdadeiro-negativos combinados. Assim, os valores previsores positivo ou negativo, informam com que freqüência o teste fornece um diagnóstico correto na população composta de indivíduos saudáveis e doentes. Esses valores são altamente influenciados pela prevalência da doença. Em geral, quanto maior a prevalência maior os valores previsores positivos, assim, os resultados obtidos na população são diferentes desses obtidos a partir de um grupo considerado de risco^{8,17}.

Atualmente, um teste com especificidade muito alta, mas baixa sensibilidade, pode ser útil clinicamente. Por exemplo, semelhante aos resultados reportados neste trabalho, WENNSTROM et al.⁴⁰, notaram que um teste microbiológico que detectava a presença de patógenos periodontais, (nesse caso *A.a.*, *P.i.*, *P.g.*) tinha uma baixa sensibilidade para prever indivíduos que experimentavam progressão de doença. No entanto a ausência destes microrganismos indicadores tinham uma alta especificidade quando identificava indivíduos que não experimentavam atividade de doença. Por isto, um teste negativo poderia prover uma importante informação para o clínico.

A maioria dos autores concordam que várias espécies bacterianas da placa são relevantes na doença e apresentam valor potencial como indicadores de atividade de doença (indicadores de risco)²⁵. Entretanto, alguns relatos têm expressado dúvidas sobre se estas bactérias

TABELA 1 - Valores da 1ª e 2ª análises para as bactérias relacionados à perda de inserção

		1ª ANÁLISE			2ª ANÁLISE		
		Sítios s/ perda de inserção	Sítios c/ perda de inserção	Total	Sítios s/ perda de inserção	Sítios c/ perda de inserção	Total
Placa Bacteriana	presença	79 (75,96%)	12 (11,54%)	91 (87,50%)	74 (71,15%)	10 (9,62%)	84 (80,77%)
	ausência	13 (12,50%)	0 (0,00%)	13 (12,50%)	18 (17,31%)	2 (1,92%)	20 (19,23%)
P.g.	presença	49 (47,12%)	4 (3,85%)	53 (50,96%)	30 (28,85%)	4 (3,85%)	34 (32,69%)
	ausência	43 (41,35%)	8 (7,68%)	51 (49,04%)	62 (59,62%)	8 (7,69%)	70 (67,31%)
P.i.	presença	26 (25%)	3 (2,88%)	29 (27,88%)	15 (14,42%)	1 (0,96%)	16 (15,38%)
	ausência	66 (63,46%)	9 (8,65%)	75 (72,12%)	77 (74,04%)	11 (10,58%)	88 (84,62%)
T.d.	presença	10 (9,62%)	1 (0,96%)	11 (10,58%)	4 (3,85%)	0 (0,00%)	4 (3,85%)
	ausência	82 (78,85%)	11 (10,58%)	93 (89,42%)	88 (84,62%)	12 (11,54%)	100 (96,16%)
S.sg.	presença	12 (11,54)	0 (0,00%)	12 (11,54%)	5 (4,81%)	0 (0,00%)	5 (4,81%)
	ausência	80 (76,92%)	12 (11,54%)	92 (88,46%)	87 (83,65%)	12 (22,54%)	99 (95,10%)
A.v.	presença	38 (36,54%)	4 (3,85%)	42 (40,38%)	19 (18,27%)	3 (2,88%)	22 (21,15%)
	ausência	54 (51,92%)	8 (7,69%)	62 (59,62%)	73 (70,19%)	9 (8,65%)	12 (11,54%)
Total (N)		92 (88,46%)	12 (11,54%)	104 (100%)	92 (88,46%)	12 (11,54%)	104 (100%)

periodontite^{18,40,42}.

A possibilidade de que os microrganismos possam ser, mais especialmente associados com periodontite, cresceu quando foi proposto que existiam períodos de destruição de tecidos quando surtos de atividades poderiam levar a uma rápida progressão da doença. Tais surtos de destruição poderiam ser seguidos por períodos de quiescência, ou mesmo de reparo²³. Assim, estudos nos quais lesões ativas não foram identificadas poderiam ter levado à conclusão errônea de bolsas periodontais que, no momento da amostragem, estavam em remissão e por isto, abrigando uma microbiota “não-ativa”. Isto pode ter obscurecido associações importantes de bactérias em sítios que sofreram destruição periodontal. Diferenças

na microbiota de sítios periodontais ativos e inativos, têm sido relatadas²¹.

De qualquer forma, a presença de bactérias específicas na placa subgengival tem sido extensivamente documentada e encontrada em associação com severidade de perda de inserção, o que reforça seus papéis como indicadores de risco para doença periodontal e suporta seu uso em testes de diagnóstico⁹.

No estudo de DZINK; SOCRANSKY; HAFFAJEE⁴ níveis elevados de certas espécies (*P.g.*, *W.r.*, *P.i.*, *B.f.*, *E.c.*, *F.n.*, *S.i.*, *P.m.*, como também *A.a*) foram determinadas nas doenças ativas após os surtos, não sendo, por isto, bem adequadas para serem indicadas como fatores de risco, por se tratar de uma abordagem

TABELA 2 - Cálculo da sensibilidade, especificidade, valor de previsão positivo e valor de previsão negativo dos itens analisados – Primeira Análise

	placa	<i>P.g.</i>	<i>P.i.</i>	<i>S.sg</i>	<i>T.d.</i>	<i>A.v.</i>
Sensibilidade	100	33,33	25,00	0,00	8,30	33,33
Especificidade	14,13	46,73	71,73	86,95	89,13	58,69
Valor predictor +	13,18	7,54	10,34	0,00	9,09	9,52
Valor predictor -	100	84,31	88,00	86,95	88,17	87,09

TABELA 3 - Cálculo da sensibilidade, especificidade, valor de previsão positivo e valor de previsão negativo dos itens analisados – Segunda Análise

	placa	<i>P.g.</i>	<i>P.i.</i>	<i>S.sg</i>	<i>T.d.</i>	<i>A.v.</i>
Sensibilidade	83,33	33,33	8,3	0,00	0,00	25,00
Especificidade	19,56	67,39	83,69	94,65	95,65	79,34
Valor predictor +	11,90	11,76	6,25	0,00	0,00	13,63
Valor predictor -	90,00	88,57	87,50	87,87	88,00	89,02

retrospectiva. O desenvolvimento de métodos mais rápidos, tais como sondas de DNA ou procedimentos com anticorpos tem tornado os estudos prospectivos possíveis¹², tal como no presente trabalho, onde usou-se anticorpos policlonais para um estudo de natureza prospectiva e retrospectiva.

Várias pesquisas têm demonstrado a relação entre certas espécies bacterianas e lesões periodontais ativas ou profundas como por exemplo *P.g.*^{4,5,6,9,11,12,13,15,16,18,19,22,25,28,32,33,34,37,39,41,43}, *S.i.*^{12,37}, *A.a.*^{5,7,11,12,18,25,28,32,33,34,37,41}, *B.f.*^{4,6,9,11,12,18,25,36,37}, *P.i.*^{4,11,12,13,18,25,28,32,33,34,37,41,43}, *E.c.*^{5,12,25,37,41}, *F.n.*^{4,5,11,12,15,19,23,25,36,37,41,43}, *P.mi.*^{4,11,12,23,33,37}, *W.r.*^{4,11,12,18,19,23,25,36,37}, *C.r.*^{5,18,41} e treponemas^{5,25,30,43}. Outras espécies são encontradas mais frequentemente e em números mais elevados em sítios inativos, diminuindo o risco de progressão da doença tais como *V.p.*^{4,12}, *S.sg* I e II^{4,11,12,20}, *C.o.*^{4,11,12}, *Actinomyces sp.*^{4,19,20}, *S.m.*¹⁷. Porém há relatos de que a magnitude com que estas bactérias estavam elevadas era mínima quando os sítios ativos foram comparados com os inativos, e houve uma diferença mínima na frequência de detecção destes microrganismos em sítios ativos versus inativos¹⁹.

Há algum tempo algumas destas bactérias (*A.a.*, *P.g.*, *P.i.*) têm se sobressaído na relação com a progressão da P.A., como no estudo de BRAGD et al.⁴, GOENÉ et al.⁷, LISTGARTEN et al.¹⁸, RODENBURG et al.²⁸, SLOTS; LISTGARTEN³³ e SLOTS et al.³⁴, sugerindo que elas possam ser indicadoras de atividade de Periodontite³⁴. Por outro lado, há relatos^{21,40} de que a ausência destas bactérias é melhor preditora de nenhuma perda futura de inserção do que a presença delas é para a progressão de doença, assim como observado no presente estudo.

O método de análise microbiológica do "Slot Immunoblot" (SIB) pode ser aplicado como um meio útil

para detecção direta e monitoramento de bactérias periodontopáticas na placa. Ainda, não se sabe se os anticorpos reagem com células intactas na placa ou com materiais antigênicos específicos liberados das células na placa ou com ambos. Este tipo de análise é adequado em estudos clínicos apenas quando se está interessado em detectar agentes microbianos específicos e não é útil quando se investiga uma doença de etiologia desconhecida.

A *P.g.* tem sido implicada na periodontite de progressão rápida em adultos com grande frequência^{3,12,32,33,39} e é considerada um patógeno exógeno^{16,22} porque é muito encontrada em pacientes doentes e raramente na boca de indivíduos saudáveis. Porém, SIMONSON et al.³¹ mostraram que não há correlação entre melhoras na saúde e níveis de *P.g.* e que tal microrganismo foi encontrado em sítio cicatrizando, indicando que não são os únicos microrganismos envolvidos na progressão da periodontite do adulto.

Diferente deste trabalho, o estudo de CHOI; GENCO⁶, demonstrou que a *P.g.* foi o patógeno mais responsável pela infecção pós-terapia nos sítios progressivos em estágios precoces de doença recorrente, evidenciando uma forte correlação.

A *P.i.* tem sido encontrada em lesões de periodontite adulta profunda e acredita-se que seja um organismo oportunista, que é encontrado com frequência em indivíduos sem periodontite, estando também associada com algumas formas de inflamação gengival. Sua prevalência na população adulta é alta (70%), mas seu papel específico na periodontite do adulto necessita ser mais avaliado, pois também é associada com gengivite³⁴ e menos associada com doença periodontal destrutiva³². Neste estudo, assim como no de RODENBURG et al.²⁸ *P.i.* foi encontrada em baixas proporções em combinação com *P.g.*

O *S.sg.* predomina tanto na placa supra como na subgengival e esse predomínio pode ser parcialmente explicado pela produção de uma bacteriocina, a sanguicina, que inibe o crescimento de bactérias Gram positivas, como também várias espécies de Bacteroides, desta forma, o *S.sg.* pode desempenhar papel protetor na doença periodontal, por inibir a colonização de patógenos periodontais Gram negativos²⁹.

A *T.d.*^{20,27,31} e outras espiroquetas^{27,30} têm sido associadas com periodontite do adulto. e recorrência da doença periodontal. Porém o papel destas bactérias na periodontite também precisa ser avaliado, pois há a possibilidade de sua presença ser mais um reflexo do grau de inflamação e profundidade de bolsa do que uma possível atividade de doença, e uma colonização subgengival das mesmas, ou seja, mais uma consequência do que causa de periodontite²⁴. Elas parecem ser

A *T.d.* apesar de ser representante da microbiota patogênica não esteve presente na maioria dos locais com perda, tanto no primeiro quanto no segundo exame. Assim, não foi possível estabelecer um valor preditor positivo para *T.d.* em relação à destruição periodontal.

Altas proporções de *Actinomyces* não estão associadas a altas proporções de *Bacteroides* negros. Se de um lado o papel de *S.sg* parece ser apenas protetor, o mesmo não pode ser dito para os *Actinomyces*. A pouca virulência do *A.v.* é confirmada por sua pequena proporção na microbiota subgengival em sítios de lesões periodontais avançadas e o seu aumento após o tratamento periodontal²⁹.

O interessante é notar que *S.sg.* apesar de fazer parte da microbiota normal não apareceu nas áreas que não perderam inserção, tanto no primeiro quanto no segundo exame, e ele é um microrganismo que predomina tanto na placa supra como na placa subgengival²⁹.

Já com relação ao *A.v.*, que também faz parte da microbiota normal, os resultados não são tão nítidos quanto do *S.sg.*

Os baixos níveis de *T.d.* e *P.g.* observados foram semelhantes aos encontrados no trabalho de SIMONSON et al.³¹ que relataram que isto foi mais provável devido a mudanças físicas no meio ambiente local causado por procedimentos terapêuticos e a remoção da bactéria. Porém estes autores relataram que a recorrência de doença estava relacionada ao aumento do nível de *T.d.*

Aparentemente, a determinação por escores da presença das bactérias *P.g.*, *P.i.*, *T.d.*, *A.v.* e *S.sg* não tem correlação nítida com a presença de perda de inserção

Na análise das 5 bactérias, há predominância de sítios sem as bactérias dentre os que perderam inserção, assim, pode-se ver que a presença de *P.g.*, *P.i.* e *T.d.* não têm relação direta com a perda de inserção observada e há uma distribuição de bactérias semelhantes para *A.v.* e *S.sg.*

Semelhante ao presente estudo, LISTGARTEN et al.¹⁸ relataram que a sensibilidade, especificidade, valores de previsão para testes positivos e negativos foram muito baixos em sua pesquisa para serem de qualquer valor diagnóstico apesar do valor diagnóstico das espécies analisadas (*A.a.*, *P.i.*, *P.g.*) demonstrado em estudos retrospectivos anteriores, possivelmente devido ao distúrbio na microbiota pelo tratamento, dos pacientes que tinham esquema de manutenção trimestral. Para estes autores, tal fato não é surpresa, pois a confiabilidade de um teste de diagnóstico baseado em um número limitado de patógenos potenciais diminui quando a incidência da doença também diminui e o número de patógenos potenciais aumenta. Assim, pode-se sugerir que estas bactérias estejam presentes só no momento de perda ativa e que talvez não foram colhidas no momento de atividade. Por outro lado, HAFFAJEE et al.¹², em um estudo, também de natureza prospectiva, sugeriram que algumas espécies microbianas (*P.g.*, *P.m.* e *C.r.*) estavam relacionadas ao risco de progressão de doença periodontal e outras a um risco mais baixo.

Pela análise dos valores de previsão negativos, vê-se

que a ausência destas bactérias é mais promissora do que a sua presença, e levando-se em conta inclusive que a maior prevalência é de sítios não ativos. Embora os valores de especificidade e sensibilidade possam ser considerados como razoavelmente aceitáveis, os valores de previsão são muito afetados pelos índices de prevalência.

Desta forma, como a prevalência da perda de inserção foi baixa, os valores de previsão positivos no presente trabalho também foram pequenos. Isto pode basicamente ter ocorrido em função do curto período de análise, pois os surtos podem, apenas esporadicamente, ser grandes o suficiente para serem registrados clinicamente e não são detectados até que efeitos acumulados de várias destruições sucessivas dêem perda de inserção mensurável¹³, desta forma, necessita-se de um certo período de tempo não muito curto. Outro fato importante é que a prevalência de perda de inserção é mesmo baixa na população.

Pela análise dos resultados obtidos pode ser concluído que a presença de placa é, como bem demonstra a literatura^{2,23,25,35}, fator decisivo para a ocorrência da doença periodontal (sensibilidade de 100%), mas a especificidade é relativamente baixa (14,13% no início e 19,56% posteriormente), muito abaixo portanto para os valores obtidos para as bactérias isoladamente.

Pode-se sugerir que até pelo fato de que a maior parte das bolsas não terem apresentado perda, os métodos específicos de diagnóstico são de valia na Periodontia e deve-se trabalhar mais na especificidade, ou seja, levar em conta a qualidade e a capacidade de exclusão de doença no estado de saúde dada pelos testes. Neste caso específico, a presença de bactérias não significou perda de inserção (atividade de doença), mas sua ausência, foi importante em excluir atividade. Mesmo porque a doença é cíclica e não foi possível determinar o período de atividade da(s) bactéria(s) que pode(m) ou não estar presente(s) e no caso afirmativo, pode(em) não estar exercendo atividade.

A Periodontia moderna requer, de forma urgente, a incorporação de metodologias de análise de suscetibilidade de risco para que os tratamentos sejam efetivos, evitando tanto o subtratamento de lesões graves que podem estar mascarada na lentidão de perda, quanto também, evitando o supertratamento de quadros de inflamação puramente gengival e que não redundam necessariamente na perda óssea.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos em relação à presença das 5 bactérias analisadas (3 Gram negativos -*P.g.*, *P.i.*, *T.d.* e 2 Gram positivos -*A.v.*, *S.sg*) nas placas subgengivais de indivíduos adultos portadores de periodontite e considerados de risco à doença periodontal, através do “Slot Immunoblot”, permitiu concluir que:

a) nos 12 sítios que perderam inserção, parece não

haver correlação com a *P.g.*, *P.i.*, *S.sg.*, *T.d.* e *Av.* e; b) poucos sítios tiveram perda de inserção e a quantidade de bactérias detectadas parece ter pouco ou nenhum valor preditor positivo de perda de inserção; b) apenas o *S.sg.* apresenta valor de previsão significativa, pois o valor de 0,0% obtido representa correlação inversa entre a presença desta bactéria e a perda de inserção; c) o teste "Slot Immunoblot" usado para detectar a perda de inserção em função da presença das bactérias citadas acima é pouco sensível e altamente específico; d) devido à baixa prevalência da perda de inserção, parece que o tempo de análise foi pequeno, necessitando-se assim um período de monitoramento maior; e) no presente momento, os dados da análise microbiológica, nos limites da metodologia deste trabalho, para identificação e previsão de atividade de doença periodontal não parecem ser suficientemente seguros para sua utilização isolada, pela complexidade da etiologia da doença periodontal.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the value of bacterial presence to predict the periodontal attachment loss in patients with periodontal disease risk. One hundred four samples of subgingival bacterial plaque of 25 subjects (18 to 45 years old) with periodontal disease and at greater risk of developing periodontal disease were examined by means of the "Slot Immunoblot" technique. It was found 3 Gram negative (*P.g.*, *P.i.*, *T.d.*) and 2 Gram positive bacteria (*A.v.*, *S.sg.*). After 6 months, only twelve of the 104 sites have presented attachment loss, which was evaluated by a computerized probe (Florida Probe) and a 0.9 mm cohort criteria. Few sites showed attachment loss and the bacterial presence had poor or none positive value to predict the periodontal attachment loss. The "Slot Immunoblot" technique presented low sensitivity and high specificity to predict the attachment loss. At moment the microbiological methods for detecting periodontal disease must not be used alone for predicting future periodontal deterioration.

Uniterms: Dental plaque; Periodontal disease; Microbiology.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BECK, J. D. Issue in assessment of diagnostic tests and risk for periodontal disease. In: LAMSTER, I. B. **Periodontology 2000**. v. 7. **Diagnostic techniques in periodontology**. Copenhagen, Munksgaard, 1995. v.7, Cap. 7, p.100-7.
2. CHRISTERSSON, L. A. et al. Dental bacterial plaques. nature and role in periodontal disease. **J. clin. Periodont.**, v.18, p.441-6, 1991.
3. DAHLÉN, G. Role of suspected periodontopathogens in microbiological monitoring of periodontitis. **Advanc. dent. Res.**, v. 7, n. 2, p. 163-74, Aug. 1993.
4. DZINK, J. L.; SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal disease. **J. clin. Periodont.**, v. 15, n. 5, p. 316-23, May 1988.
5. FIEHN, N. E.; WESTERGAARD, J. Microbial patterns in pooled subgingival plaque samples from young adults with advanced marginal periodontitis. **Scand. J. dent. Res.**, v. 98, n. 5, p. 412-28, Oct. 1990.
6. GENCO, R. J. Assessment of risk of periodontal disease. **Comp. Continuing Educ. Dent.**, v. 15, n. 18, p. S678-83, 1994. Supplement
7. GOENÉ, R. J. et al. Microbiology in diagnosis and treatment of severe periodontitis. A report of four cases. **J. Periodont.**, v.61, n. 1, p. 61-4, 1990.
8. GREENSTEIN, G.; LAMSTER, I. Understanding diagnostic testing for periodontal diseases. **J. Periodont.**, v. 66, n. 8, p. 659-66, Aug. 1995.
9. GROSSI, S. G. et al. Assessment of risk for periodontal disease. II. Risk indicator for alveolar bone loss. **J. Periodont.**, v. 66, n. 1, p. 23-9, Jan. 1995.
10. HAFFAJEE, A. D.; SOCRANSKY, S. S.; GOODSON, J. M. Comparison of different data analyses for detecting changes in attachment level. **J. clin. Periodont.** v.10, p.298-310, 1983.
11. HAFFAJEE, A. D. et al. Microbial risk indicators for periodontal attachment loss. **J. Periodont. Res.**, v. 26, n. 3, pt. 2, p. 293-6, May 1991.
12. HAFFAJEE, A. D. et al. Relation of baseline microbiological parameters to future periodontal attachment loss. **J. clin. Periodont.**, v. 18, n. 10, p.744-50, Nov. 1991.
13. HANAZAWA, S. et al. Application of monoclonal antibodies to the detection of black-pigmented *bacteroides spp.* in subgingival plaques by immunoblot assay. **J. clin. Microbiol.**, v. 28, n. 10, p. 2248-52, Oct. 1990.
14. JEFFCOAT, M. K. Current concepts in periodontal disease testing. **J. Amer. dent. Ass.**, v. 125, n. 8, p. 1071-8, Aug. 1994.
15. JOHNSON, N. W. Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases. **Int. dent. J.**, v.39, n. 1, p. 33-47, Jan. 1989.
16. KOJIMA, T. et al. Distribution of *porphyromonas gingivalis* in adult periodontitis patients. **J. Periodont.**, v.64, n. 12, p. 1231-7, Dec. 1993.
17. LANG, N. P.; BRAGGER, U. Periodontal diagnosis in the 1900s. **J. clin. Periodont.**, v. 18, n. 6, Part II, p. 370-9, Nov. 1991.

18. LISTGARTEN, M. A. et al. Incidence of periodontitis recurrence in treated patients with and without cultivable *actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, and *Porphyromonas gingivalis*: A prospective study. **J. Periodont.**, v. 62, n. 6, p. 377-86, June 1991.
19. LOESCHE, W. J.; HUJOEL, P. Microbiologically based diagnostic tests for periodontitis. Considerations of sensitivity, specificity and accuracy. In: JOHNSON, N. W. **Risk markers for oral diseases. Periodontal disease.** Cambridge, Cambridge University Press, 1991. v. 3, Cap. 16, p. 417-40.
20. LOESCHE, W. J. et al. Bacterial profiles of subgingival plaques in periodontitis. **J. Periodont.**, v. 56, n. 8, p. 447-56, Aug. 1985.
21. MARSH, P. D. Do bacterial markers exist in subgingival plaque for predicting periodontal disease susceptibility? In: JOHNSON, N. W. **Risk markers for oral diseases. Periodontal Disease.** Cambridge, Cambridge University Press, 1991. v. 3, Cap. 14, p. 365-88.
22. MOMBELLI, A. et al. Black-pigmenting gram-negative bacteria in periodontal disease. II. Screening strategies for detection of *P. gingivalis*. **J. Periodont. Res.**, v. 26, n.4, p. 308-13, July 1991.
23. MOORE, W. E. C. et al. The microflora of periodontal sites showing active destructive progression. **J. clin. Periodont.**, v. 18, n. 10, p. 729-39, Nov. 1991.
24. MÜLLER, H.P.; FLORES DE JACOBY, L. Distribution of morphologically different micro-organisms associated with active periodontal lesions. **J. clin. Periodont.**, v.14, n.2, p.110-7, Feb. 1987.
25. NEWMAN, H. N. Plaque and chronic inflammatory periodontal disease: a question of ecology. **J. clin. periodont.**, v. 17, n. 8, p. 533-41, Sept. 1990.
26. OFFENBACHER, S. et al. New clinical diagnostic strategies based on pathogenesis of disease. **J. Periodont. Res.**, v. 28, n. 6, pt. 2, p. 523-35, Nov. 1993.
27. RIVIERE, G. R. et al. Relative proportions of pathogen-related oral spirochetes (PROS) and *Treponema denticola* in supragingival and subgingival plaque from patients with periodontitis. **J. Periodont.**, v. 63, n.2, p.131-6, Feb. 1992.
28. RODENBURG, J. P. et al. Occurrence of *bacteroides gingivalis*, *bacteroides intermedius* and *actinobacillus actinomycetemcomitans* in severe periodontitis in relation to age and treatment history. **J. clin. Periodont.**, v. 17, n. 6, p. 392-9, July 1990.
29. ROSA, O. P. S. **Prevalência de microrganismos na placa subgingival da dentição decídua.** Bauru, 1995.151p. Tese (Livre docência) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
30. RUBIRA, I.R.F. **Pesquisa de bactérias bucais em amostras de placa subgingival de indivíduos com periodonto normal e de portadores de periodontite através da técnica do "slot immunoblot".** Bauru, 1994. 113p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
31. SIMONSON, L. G. et al. *Treponema denticola* e *porphyromonas gingivalis* as prognostic markers following periodontol treatment. **J. Periodont.**, v. 63, n. 4, p. 270-3, Apr. 1992.
32. SLOTS, J. Bacterial specificity in adult periodontitis - a summary of recent work. **J. clin. Periodont.**, v. 13, n. 10, p. 912-7, Nov. 1986.
33. SLOTS, J.; LISTGARTEN, M.A. *Bacteroides gingivalis*, *bacteroides intermedius* and *actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal diseases. **J. clin. Periodont.**, v. 15, n. 5, p. 85-93, 1988.
34. SLOTS, J. et al. The occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* in destructive periodontal disease in adults. **J. clin. Periodont.**, v. 13, n. 6, p. 570-7, July 1986.
35. SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. The bacterial aetiology of destructive periodontal disease: Current concepts. **J. Periodont.**, v.63, n. 4, p. 322-331, Apr. 1992. Supplement
36. TANNER, A.; BOUDIN, H. The microbiota of early periodontitis lesions in adults. **J. clin. Periodont.**, v.16, n.7, p.467-71, Aug. 1989.
37. TANNER, A.C.R. et al. Diagnosis of periodontal disease using rapid identification of "activity-related" gram-negative species. **J. Periodont. Res.**, v.22, n. 3, p.207-8, May 1987.
38. VAN POPPERIN, N.; LOPATIN, D.E. Slot Immunoblot assay for detection and quantitation of periodontal disease-associated microorganisms in dental plaque. **J. clin. Microbiol.**, v. 29, n.11, p. 2554-8, Nov. 1991.
39. VAN WINKELHOFF, A.J. et al. Intraoral distribution of back-pigmented *Bacteroides* species in periodontitis patients. **Oral Microbiol. Immun.**, v.3, n. 2, p.83-5, Feb. 1988.
40. WENNSTRÖM, J. L. et al. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *bacteroides gingivalis* and *bacteroides intermedius*: predictors of attachment loss? **Oral Microb. Immun.**, v. 2, p. 158-63, 1987.
41. WIKSTRÖM, M. et al. Microbial associations in periodontitis sites before and after treatment. **Oral Microbi. Immun.**, v.8, n.4, p.213-8, 1993.
42. WILLIAMS, R.C., HOWELL, T.H. New technologies for the diagnosis of periodontal disease. **J. prosth. Dent.**, v.69, n. 6, p.551-7, June 1993.
43. WOLFF, L. F. et al. Bacteria as risk markers for periodontitis. **J. Periodont.**, v. 65, n. 5, p. 498-510, May 1994.