

AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO MORFOTÍPICA DA MICROBIOTA SUBGENGIVAL APÓS A IRRIGAÇÃO DE BOLSAS PERIODONTAIS COM DIFERENTES SUBSTÂNCIAS*

EVALUATION OF THE SUBGINGIVAL MICROBIOTA
MORPHOTYPES COMPOSITION AFTER A PERIODONTAL
POCKETS IRRIGATION WITH DIFFERENT SUBSTANCES*

Evandro de Toledo LOURENÇO JUNIOR**

Aguinaldo CAMPOS JUNIOR***

Sebastião Luiz Aguiar GREGHI***

Deoclécio NAHÁS***

Euloir PASSANEZZI***

Avaliou-se as alterações morfológicas percentuais e absolutas da microbiota subgingival após a utilização da irrigação manual com as seguintes substâncias: solução de tetraciclina a 50 mg/ml, peróxido de hidrogênio a 3%, solução de clorexidina a 0,2%, solução de iodo a 1% e solução de cloreto de sódio a 0,85% como controle negativo. Após o acompanhamento realizado em intervalos de tempo padronizados, realizou-se a contagem morfológica através da microscopia de contraste de fase. As substâncias utilizadas foram avaliadas quanto a capacidade de alterar a contagem morfológica (absoluta e percentual), bem como quanto ao seu suposto efeito residual. Todas as substâncias analisadas demonstraram a capacidade de alterar a composição morfológica da placa subgingival, contudo, as alterações mais significativas foram observadas quando da utilização do iodo a 1% (não alcoólico) e da clorexidina a 0,2%.

UNITERMOS: Periodontia; Irrigação subgingival; Tratamento; Microbiota.

* Resumo da dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru-USP, para obtenção do grau de Mestre em Periodontia

** Professor Auxiliar da disciplina de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Juiz de fora, MG

*** Professores Doutores da disciplina de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Bauru, da Universidade de São Paulo.

INTRODUÇÃO

Apesar da placa bacteriana ter sido descrita há mais de 100 anos, somente a partir de 1965 foi obtida a primeira evidência conclusiva do seu significado na etiologia da doença periodontal¹⁵. Desde então, a eliminação da placa bacteriana tornou-se o objetivo fundamental do tratamento periodontal²².

O procedimento mais utilizado para este fim é a raspagem e o alisamento radicular, complementado ou não por intervenção cirúrgica e uso de medicação local e/ou sistêmica⁶.

Em bolsas periodontais de profundidade de sondagem superior a 5 mm há falhas severas quanto a remoção do cálculo e da placa subgengival¹⁷. Com a intenção de maximizar a ação da raspagem subgengival e reduzir a exposição dos pacientes aos quimioterápicos sistêmicos, muitos pesquisadores têm desenvolvido métodos de liberação local de drogas, colocando-as diretamente nos sítios afetados pela doença periodontal⁶. Entre as várias formas de aplicação de substâncias na bolsa periodontal destacam-se a tira de celulósido impregnada por quimioterápico, o dispositivo de liberação controlada e a irrigação subgengival manual ou mecânica, realizada pelo profissional e/ou paciente⁹.

As principais vantagens da aplicação direta de uma droga local são: a possibilidade de aplicação de uma dosagem bem inferior, o acesso direto à área afetada e a viabilidade de repetições periódicas sem a ocorrência de efeitos colaterais⁹. O procedimento de irrigação subgengival não tem a pretensão de substituir qualquer forma de tratamento periodontal e sim, ser um coadjuvante na terapêutica convencional.

MATERIAL E MÉTODOS

A amostra selecionada compreendia 5 pacientes que aguardavam tratamento na Disciplina de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, com idades entre 34 e 55 anos, e que ao todo apresentavam 30 bolsas periodontais com profundidade de sondagem que variava de 4 a 10 mm.

Os pacientes foram triados de acordo com os seguintes critérios:

- ausência de tratamento periodontal prévio (últimos 6 meses);
- ausência de tratamento quimioterápico local e/ou sistêmico (últimos 6 meses);

- ausência de alterações sistêmicas como diabetes mellitus, alergias, discrasias sanguíneas ou qualquer outro comprometimento que pudesse alterar os dados obtidos;

- ausência de gravidez;

- presença de no mínimo 20 dentes.

Os sítios a serem irrigados foram divididos aleatoriamente em 5 grupos. Cada grupo de 6 sítios sofreu irrigação uma única vez, com uma única substância química, de acordo com o diagrama abaixo:

GRUPO 1

- Solução de tetraciclina a 50 mg/ml

GRUPO 2

- Peróxido de hidrogênio a 3%

GRUPO 3

- Solução de clorexidina a 0,2% (controle positivo)

GRUPO 4

- Solução de iodo a 1% (não alcoólico)

GRUPO 5

- Solução de cloreto de sódio a 0,85% (controle negativo)

Os sítios não receberam raspagem e alisamento radicular, pois o objetivo do trabalho aqui descrito era de avaliar a ação isolada dos quimioterápicos.

Realizou-se a contagem percentual dos morfotipos bacterianos em cada sítio. Para tanto, utilizou-se a microscopia de contraste de fase, seguindo a seguinte escala:

1ª CONTAGEM

- 7 dias antes da irrigação (00)

2ª CONTAGEM

- 24 horas após a irrigação (01)

3ª CONTAGEM

- 7 dias após a irrigação (07)

4ª CONTAGEM

- 15 dias após a irrigação

5ª CONTAGEM

- 30 dias após a irrigação

I - Coleta Da Placa

Quando algum acúmulo de placa ou cálculo supragengival era observado este era removido com o intuito de não interferir no procedimento da coleta. Com o auxílio de uma cureta periodontal esterilizada do tipo Gracey, uma pequena quantidade de placa foi removida da região mais apical da bolsa periodontal. A ponta da cureta foi então introduzida no interior de um tubo de ensaio que continha 0,1 ml de solução de cloreto de sódio a 0,85% esterilizado contendo 1% de gelatina. A ponta de cureta foi agitada no líquido com a finalidade de promover a remoção da placa aderida à cureta. De modo a produzir uma dispersão bacteriana adequada, uma seringa do tipo tuberculina (4 ml com agulha calibre 23) foi introduzida no interior do tubo de ensaio e a suspensão foi aspirada e expelida por 3 vezes, culminando na completa desintegração dos grumos de placa bacteriana.

Uma gota desta suspensão foi depositada sobre uma lâmina de vidro de 1 mm de espessura previamente limpa e desengordurada. Por sobre a gota colocou-se a lamínula cujas margens foram seladas com bálsamo do Canadá¹³.

II - Contagem Morfológica

As lâminas foram analisadas através da microscopia de contraste de fase em aumento de 1.000 vezes. Utilizou-se o microscópio da marca Leitz Diaplan, com ocular com retículo. A contagem morfológica foi baseada na classificação que divide os microorganismos em 4 categorias distintas: cocos, espiroquetas, formas móveis e "outras formas". E para cada lâmina examinada um mínimo de 100 e um máximo de 200 formas foram classificadas⁷.

III - Irrigação Subgingival

A irrigação subgingival foi realizada através da utilização de seringas descartáveis de 5 ml, com agulha calibre 23⁸. Estas agulhas foram previamente preparadas com um ângulo de 45° em relação ao longo eixo da seringa, tendo também seu bisel eliminando. A agulha foi introduzida até o final da bolsa periodontal e recuada 2 mm para permitir o refluxo da substância irrigadora; a aspiração foi realizada por meio de uma cânula de aspiração colocada à margem gengival¹⁰.

IV - Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística através dos testes de Kruskal-Wallis e Friedman, com a finalidade de se avaliar a significância dos valores encontrados.

TABELA I - Valores absolutos e proporcionais do número de microorganismos em relação às substâncias irrigadoras e ao intervalo de tempo:

Contagem	Substância	cocos					espiroquetas					formas móveis					outras formas				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
00	#	65	67	58	64	71	60	66	56	57	58	33	28	20	24	24	51	56	50	52	49
	%	31,01	31,51	31,90	32,92	34,68	28,72	30,28	30,02	28,53	28,93	15,79	12,29	10,99	11,78	12,13	24,49	25,92	27,09	26,76	24,27
01	#	101	94	100	99	93	35	42	36	42	48	19	24	19	22	30	45	50	46	52	51
	%	50,11	44,66	49,82	47,95	41,27	17,70	20,05	18,16	19,60	22,00	9,49	11,29	9,28	10,28	13,35	22,69	24,00	22,74	24,40	23,37
07	#	89	107	120	110	88	30	36	36	44	55	20	22	21	25	40	50	48	46	50	55
	%	47,10	50,12	53,62	47,82	36,80	15,45	16,92	16,09	19,49	23,24	10,62	10,23	9,45	10,93	16,88	26,84	22,72	20,84	21,64	23,07
15	#	99	106	119	112	88	41	45	29	46	56	27	22	15	24	32	56	52	48	52	54
	%	44,38	47,39	56,18	47,82	37,99	18,46	19,77	14,15	19,65	24,58	12,10	9,72	6,98	10,13	13,88	25,06	23,13	22,70	22,40	23,55
30	#	92	104	118	109	94	58	50	33	48	56	37	31	17	30	40	49	56	52	52	61
	%	39,38	43,07	53,77	45,66	37,66	24,25	20,74	14,89	29,14	22,20	15,60	12,94	7,57	12,58	16,12	20,77	23,25	23,77	21,62	24,32

RESULTADOS

Os resultados obtidos, para valores absolutos e proporcionais do número de microorganismos, em relação às substâncias irrigadoras e ao intervalo de tempo, estão dispostos na tabela a seguir:

DISCUSSÃO

A necessidade da remoção da placa bacteriana da região subgengival levou alguns pesquisadores a avaliar a possibilidade da irrigação subgengival como terapia coadjuvante ao procedimento de raspagem e alisamento radicular. Em sua grande maioria os trabalhos realizados neste contexto revelam uma redução dos níveis microbianos e uma melhora dos parâmetros clínicos^{3,5,11,12}.

As observações do efeito bactericida e/ou bacteriostático de algumas substâncias antimicrobianas como a clorexidina, o peróxido de hidrogênio, a tetraciclina e o iodo são amplamente documentados pela literatura^{1,3,18,19,20,21}. As avaliações microscópicas destes trabalhos demonstram que a irrigação subgengival diminui o número de microorganismos presentes em um determinado sítio, entretanto, a duração do efeito de uma única irrigação ainda não foi satisfatoriamente detectada¹¹.

A análise morfológica, através de microscopia de contraste de fase foi realizada, neste trabalho, de maneira a fornecer uma rápida identificação dos morfotipos bacterianos e determinar a contagem total e proporcional das formas bacterianas, fato não objetivado pelo trabalho².

Observando-se a tabela, nota-se que a substância 1 (solução de tetraciclina) após 24 horas promoveu um aumento na proporção de cocos de 31,01% para 50,11%, uma diminuição de espiroquetas de 28,72% para 17,70%, uma diminuição de formas móveis de 12,29% para 9,49% e também uma diminuição de "outras formas" de 24,49% para 22,69%. Quanto ao efeito residual da tetraciclina, o percentual de cocos decaiu de 47,10% (7^o dia) para 39,98% (30^o dia). O percentual de espiroquetas aumentou de 5,45% (7^o dia) para 24,25% (30^o dia). O percentual de formas móveis aumentou de 10,62% (7^o dia) para 15,60% (30^o dia) e as "outras formas" apresentaram uma diminuição de 26,84% (7^o dia) para 20,77% (30^o dia).

Os resultados obtidos estão em concordância com os trabalhos científicos existentes, que observam um aumento do número de cocos e uma diminuição do

número de espiroquetas e formas móveis após a irrigação com a tetraciclina. A duração do efeito da irrigação com tetraciclina não foi muito pronunciada provavelmente devido ao fato de não se ter executado a raspagem e o alisamento radicular previamente a utilização da irrigação^{4,16,20,21}.

A substância 2 (peróxido de hidrogênio), 24 horas após sua aplicação, desencadeou um aumento na proporção de cocos de 31,51% para 44,66% e uma diminuição das espiroquetas de 30,28% para 20,05%. As formas móveis sofreram uma redução de apenas 1% e as "outras formas" de 1,92%. Sete dias após a irrigação, a proporção de cocos atingiu 50,12%, enquanto que as espiroquetas caíram para 16,92%. Nas contagens realizadas em 15 e 30 dias constatou-se uma redução na proporção de cocos para 47,39% e 43,07% respectivamente, acompanhado por um discreto aumento da proporção do número de formas móveis para 9,72% e 12,94% respectivamente para 15 e 30 dias.

Os resultados parecem indicar que o maior efeito do peróxido de hidrogênio se dá aos 7 dias após sua utilização. A literatura correlata demonstra que o uso seqüenciado do peróxido de hidrogênio foi capaz de eliminar o *Actinobacillus actinomycetemcomitans* das bolsas periodontais^{3,25,26}.

A atividade da substância irrigadora 3 (solução de clorexidina) promoveu, 24 horas após, um aumento da proporção de cocos de 3,90% para 49,82%, associado a uma diminuição proporcional de espiroquetas de 30,02% para 18,16%, das formas móveis de 10,99% para 9,28% e das "outras formas" de 27,09% para 22,74%. Sete dias após a irrigação, os cocos aumentaram discretamente, atingindo 53,62%, enquanto que as espiroquetas representavam 16,09% e as "outras formas" 20,84% (diminuição de 24 horas para 7 dias), as formas móveis representavam 9,45% (elevação de 24 horas para 7 dias).

O efeito da substância 3 causou, 15 dias após sua utilização, uma discreta elevação da proporção de cocos para 56,18%. Trinta dias após, a proporção de cocos correspondia a 53,77%, as espiroquetas compreendiam 14,89%, as formas móveis 7,57% e as "outras formas" 23,77%.

Observou-se correlação positiva entre os trabalhos compilados e os resultados aqui obtidos. Estes trabalhos fazem alusão a uma redução significativa na proporção de espiroquetas, associada a um aumento da proporção de cocos 14 dias após a irrigação. O maior

efeito da ação da clorexidina foi observado neste trabalho, aos 15 dias após a irrigação, fato coerente com a literatura publicada^{9,10,18,24}.

A atividade da substância 4 (solução de iodo) demonstra, 24 horas após a aplicação, um aumento proporcional do número de cocos de 32,92% para 47,95% e uma redução em relação às espiroquetas de 28,53% para 19,60%. As formas móveis e as "outras formas" não sofreram alterações proporcionais significantes até o 30^o dia. É interessante que se observe que os valores obtidos para os cocos e espiroquetas, 24 horas após, foram mantidos quase que inalterados até 30 dias após a irrigação. Os resultados obtidos não podem ser comparados à literatura, pois neste trabalho não se utilizou a raspagem e o alisamento radicular, manobra utilizada nos demais trabalhos. Ainda assim, a redução de espiroquetas aqui foi de 28,53% para 19,60%; em um trabalho correlato foi detectada uma redução de 22% para 12%.

Quanto à substância 5 (solução de cloreto de sódio), após 24 horas houve um aumento na proporção de cocos de 34,68% para 41,27% e uma redução das espiroquetas de 28,93% para 22,00%. As formas móveis sofreram um discreto aumento no 7^o e 30^o dias, enquanto que as "outras formas" não sofreram alterações. Os níveis de cocos e espiroquetas mantiveram-se próximos aos valores iniciais após o 7^o dia. As sensíveis alterações devem ter ocorrido pela ação mecânica do líquido injetado no interior da bolsa, pois não há efeito antimicrobiano da solução de cloreto de sódio, e com o passar dos dias o nicho bacteriano volta quase que aos níveis iniciais de colonização bacteriana.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos através desta pesquisa nos permite concluir que:

uEntre as 5 substâncias analisadas somente a solução de cloreto de sódio não apresenta capacidade de alterar a microbiota subgengival de modo efetivo;

uExiste uma diferença de efetividade entre as substâncias químicas aqui utilizadas, sendo que os melhores resultados foram obtidos quando se utilizou a solução de iodo a 1% (não alcoólica) e a solução de clorexidina a 0,2%;

uA maior substantividade foi observada quando se utilizou a solução de iodo a 1%, cujo efeito residual perdurou por até 30 dias;

uExiste, portanto, a possibilidade do uso rotineiro das substâncias químicas como forma de tratamento complementar à raspagem e alisamento radicular.

This aim of this study was to evaluate effectiveness of 5 different substances and if they were able to change subgingival microbiota of 30 periodontal pockets after irrigation. The irrigation with chlorhexidine solution had the more expressive effect after 15 days but the best substantivity was showed by iodine solution thirthy day after the subgingival irrigation. The use of subgingival irrigation can be a good therapy when associates with scaling and root planning.

UNITERMS: Periodontics; Subgingival irrigation; Microbiota.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.ADDY, M. Chlorhexidine compared with other locally delivered antimicrobials. A short review. *J. clin. Periodont.*, v.13, n.10, p.957-64, Nov. 1986.
- 2.BAAB, D.A.; OPSVIG, E.J. Subgingival microflora in bleeding and nonbleeding pockets. *J. clin. Periodont.*, v.13, n.9, p.795-98, Oct. 1986.
- 3.BAER, P.N.; LIMARDI, R.J.; COX, D.S. Effect of H2O2 solution delivered to the base of a periodontal pocket on pigmented Bacteroides. *J. dent. Res.*, v.65, n.1, p.182, 1986./ Abstract 110/
- 4.BRAATZ, L. et al. Antimicrobial irrigation of deep pockets to supplement non-surgical periodontal therapy. II Daily irrigation. *J. clin. Periodont.*, v.12, n.8, p.630-38, Sept. 1985.
- 5.CHRISTERSSON, L.A. et.al. Topical application of tetracycline-Hcl in human periodontitis. *J. clin. Periodont.*, v.20, n.1, p.88-95, Jan./Feb. 1993.
- 6.GREENSTEIN, G. Effects of subgingival irrigation on periodontal status. *J. Periodont.*, v.58, n.12, p.827-36, Dec. 1987.
- 7.GREENSTEIN, G.; POLSON, A. Microscopic monitoring of pathogens associated with periodontal diseases. *J. Periodont.*, v.56, n.12, p.740-7, Dec. 1985.
- 8.HARDY, J.H.; NEWMAN, H.N.; STRAHAN, J.D. Direct irrigation and subgingival plaque. *J. clin. Periodont.*, v.9, n.1, p.57-65, Jan. 1982.
- 9.HASKEL, E.; ESQUENASI, J.; YUSSIN, L. Effects of subgingival chlorhexidine irrigation in chronic moderate periodontitis. *J. Periodont.*, v.57, n.5, p.305-10, May 1986.
- 10.JOLKOVSKY, D.L. et al. Clinical and microbiological effects of subgingival and gingival marginal irrigation with chlorhexidine gluconate. *J. Periodont.*, v.61, n.11, p.663-9, Nov. 1990.
- 11.LANDER, P.E. et al. The antimicrobial and clinical effects of a single subgingival irrigation of chlorhexidine in advanced periodontal lesions. *J. clin. Periodont.*, v.13, n.1, p.74-80, Jan. 1986.
- 12.LEMOS PESSOA, T.J.; OPPERMAN, R.V.; LOURO FILHO, P.P. Irrigação das bolsas periodontais. O efeito clínico e microbiológico de irrigações de sulfato de cobre em bolsas periodontais. *Rev.gáucha.Odont.*, v.37, n.4, p.255-8, Jul./Ago. 1989.

13. LISTGARTEN, M.A.; HELLDEN, L. Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans. **J. clin. Periodont.**, v.5, n.2, p.115-32, May 1978.
14. LISTGARTEN, M.A.; LEVIN, S. Positive correlation between the proportions of subgingival spirochetes and motile bacteria and susceptibility of human subjects to periodontal deterioration. **J. Periodont.**, v.8, n.2, p.122-38, Apr. 1981.
15. LÖE, H.; THEILADE, E.; JENSEN, S.B. Experimental gingivitis in man. **J. Periodont.**, v.36, n.3, p.177-87, Mar. 1965.
16. MACALPINE, R. et al. Antimicrobial irrigation of deep pockets to supplement oral hygiene instruction and root debridement. I Bi-weekly irrigation. **J. clin. Periodont.**, v.12, n.7, p.568-77, Aug. 1985.
17. RABBANI, G. M.; ASH, M. M.; CAFFESSE, R. G. The effectiveness of subgingival scaling and root planing in calculus removal. **J. Periodont.**, v.52, n.2, p.119-23, Feb. 1981.
18. ROSLING, B.G. et al. Microbiological and clinical effects of conventional periodontal therapy and adjunctive subgingival iodine irrigation. **J. dent. Res.**, v.62, n.4, p.245, Apr. 1983./Abstract 688/
19. ROSLING, B.G. et al. Microbiological and clinical effects of topical subgingival antimicrobial treatment of human periodontal disease. **J. clin. Periodont.**, v.10, n.5, p.487-514, Sept. 1983.
20. SILVERSTEIN, L. et al. Clinical and microbiological effects of local tetracycline irrigation on periodontitis. **J. Periodont.**, v.59, n.5, p.301-5, May 1988.
21. SINGLETARY, M. M.; CRAWFORD, J. J.; SIMPSON, D. M. Darkfield microscopic monitoring of subgingival bacteria during periodontal therapy. **J. Periodont.**, v.53, n.11, p.671-81, Nov. 1982.
22. SLOTS, J. Subgingival microflora and periodontal disease. **J. clin. Periodont.**, v.6, n.5, p.351-82, Oct. 1979.
23. SOCRANSKY, S.S.; HAFFAJEE, A.D.; TANNER, A.C. Statistic analyses of microbial counts of dental plaque. **J. Periodont. Res.**, v.18, n.2, p.187-99, Mar. 1983.
24. SOUTHARD, R.S. et al. The effect of 0,2% chlorhexidine digluconate irrigation on clinical parameters and the level of *Bacteroides gingivalis* in periodontal pockets. **J. Periodont.**, v.60, n.6, p.302-9, Jun. 1989.
25. WIKESJÖ, U.M.E. et al. The effects of H₂O₂ irrigation on subgingival *A. actinomycetencomitans*. **J. dent. Res.**, v.65, p.181, 1986./Abstract 109/
26. WIKESJÖ, U.M.E. et al. Effects of subgingival irrigation on *A. actinomycetencomitans*. **J. clin. Periodont.**, v.16, n.2, p.116-9, Feb. 1989.