

Investigação do vírus Epstein-Barr em pacientes com Periodontite Crônica

Investigation of the Epstein-Barr virus in patients with chronic periodontitis

Cleysiane Gonçalves FARIAS^a, Nicole Patrícia de Lima VINAGRE^a,
Thalita de Almeida AMANAJÁS^b, Rogério Valois LAURENTINO^c,
Luiz Fernando Almeida MACHADO^d, Ana Claudia Braga AMORAS-ALVES^e

^aMestre em Odontologia, Faculdade de Odontologia, UFPA – Universidade Federal do Pará,
66075-900 Belém - PA, Brasil

^bMestranda em Odontologia, Faculdade de Odontologia, UFPA – Universidade Federal do Pará,
66075-900 Belém - PA, Brasil

^cDoutorando em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários, Faculdade de Ciências Biológicas,
Universidade Federal do Pará – UFPA, 66075-900 Belém - PA, Brasil

^dFaculdade de Ciências Biológicas, UFPA – Universidade Federal do Pará, 66075-900 Belém - PA, Brasil

^eFaculdade de Odontologia, UFPA – Universidade Federal do Pará, 66075-900 Belém - PA, Brasil

Resumo

Introdução: Nos últimos anos, um número crescente de estudos sugere a participação dos herpesvírus na doença periodontal. **Objetivo:** Este trabalho investiga a relação entre a presença do herpesvírus Epstein-Barr (EBV) e a infecção periodontal em pacientes com periodontite crônica. **Metodologia:** Foram coletadas amostras de biofilme subgingival de sítios com profundidades de sondagem de 4 a 6 mm e ≥ 7 mm, de 28 pacientes com periodontite crônica. Como controles, foram incluídos 16 indivíduos, sistemicamente saudáveis e sem doença periodontal. Adicionalmente, parâmetros clínicos de profundidade de sondagem (PS), nível clínico de inserção (NCI) e índice de sangramento à sondagem (SS) foram registrados. **Resultado:** Os resultados demonstraram médias de 2,7 mm PS, 1,7 mm NCI e 0,3% dos sítios apresentaram SS. A investigação do EBV no biofilme subgingival dos grupos foi realizada por meio da reação em cadeia da polimerase com primer espécie-específico. Os resultados da análise viral indicaram ausência de EBV em todas as amostras subgingivais analisadas. **Conclusão:** A partir destes resultados, não foi encontrada relação entre a presença do herpesvírus Epstein-Barr e a periodontite crônica.

Descritores: Periodontite crônica; vírus; herpesvírus humano 4; etiologia.

Abstract

Introduction: In recent years, a growing number of studies have suggested the participation of the herpes virus in periodontal disease. **Objective:** this study investigates the relationship between the presence of the Epstein-Barr herpes virus and periodontal infection in patients with chronic periodontitis. **Methodology:** subgingival biofilm samples were collected of subgingival sites with probing depths of 4 mm to 6 mm, and ≥ 7 of 28 patients with chronic periodontitis. The control group consisted of 16 healthy subjects without clinical evidence of chronic periodontitis. Additionally, clinical parameters of probing depth, attachment level and Bleeding index were recorded. **Result:** the results showed averages of 2 mm probing depth, 1, 7 mm attachment level and 0.3 % bleeding on probing. Investigation of the herpes virus in the subgingival biofilm of the groups was performed using polymerase chain reaction with species-specific primer. Results of viral analysis indicated the absence of EBV in all subgingival samples analyzed. **Conclusion:** these results found no relationship between the presence of the Epstein-Barr herpes virus and chronic periodontitis.

Descriptors: Chronic periodontitis; viruses; herpesvirus 4; human; ethiology.

INTRODUÇÃO

É bem documentado que a doença periodontal está associada à colonização de espécies bacterianas em sítios subgingivais^{1,2}.

Bactérias patogênicas, especialmente anaeróbios Gram-negativos, são necessárias na etiopatogenia da periodontite, mas a presença do biofilme bacteriano não parece constituir base suficiente para explicar características clínico-patológicas importantes da doença, como: padrão agressivo de destruição tecidual em dentes com pouca placa, fases não definidas de atividade e remissão de perda de inserção, tendência de a destruição periodontal se apresentar numa forma localizada e bilateralmente simétrica, e, tampouco, explica a existência de pacientes com fatores de risco clássicos exibindo apenas um quadro de gengivite^{3,4}.

A partir da década de 1990, os herpesvírus, em particular o citomegalovírus (CMV) e o vírus Epstein-Barr (EBV), foram considerados como patógenos importantes na etiopatogênese em diversos tipos de doença periodontal⁵.

O EBV tem sido mais frequentemente detectado em amostras de sítios com bolsas periodontais, enquanto raramente está presente em sítios saudáveis, o que sugere sua participação no desenvolvimento e no curso da periodontite^{6,7}.

Este herpesvírus, em sua forma latente, está presente em mais de 90% da população adulta, tendo como via primária de transmissão a saliva e sendo detectado, principalmente, em linfócitos B e no epitélio de células da orofaringe⁸.

A destruição periodontal parece ser resultado direto da infecção e da replicação do vírus, e também como consequência do impedimento viral induzido no sistema imunológico do indivíduo. As células inflamatórias infectadas pelos herpesvírus liberam citocinas que destroem os tecidos periodontais, as quais apresentam habilidade diminuída para se defender do desafio bacteriano. É concebível que os herpesvírus dependam da coinfeção com as bactérias periodontais para produzir a periodontite e, dessa forma, as bactérias podem depender da presença viral para inicialização e progressão de alguns tipos de periodontite^{5,6,8}.

Os fatores predisponentes para a ocorrência da destruição dos tecidos periodontais estão se tornando mais compreensíveis, mas ainda existe a necessidade de esclarecer questões sobre a etiopatogenia da doença periodontal. Portanto, o presente estudo propõe realizar a análise comparativa da hipotética relação entre a presença do EBV e a periodontite crônica.

MATERIAL E MÉTODO

A realização desta pesquisa envolveu 44 participantes, estudados segundo os preceitos da Declaração de Helsinque e do Código de Nuremberg, sendo respeitadas as Normas de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (CNS 196/96) do Conselho Nacional de Saúde e após aprovação do anteprojeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará, por meio da carta de

aceitação do estudo, número 216/08, e pelos sujeitos, por meio da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Todos os participantes da pesquisa foram voluntários, atendidos na Clínica Odontológica da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Pará, no período de agosto de 2009 a junho de 2010.

O estudo foi desenvolvido com 28 pacientes portadores de doença periodontal crônica e 16 pacientes sem doença periodontal, constituindo estes o grupo controle. Os indivíduos foram selecionados considerando-se os critérios propostos pela Academia Americana de Periodontia, Armitage⁹ (1999). O exame clínico periodontal foi realizado por um único examinador previamente treinado e calibrado. Todos os dentes dos indivíduos participantes, exceto os terceiros molares, foram avaliados em seis sítios – mesiovestibular, vestibular, distovestibular, mesiolingual, lingual e distolingual –, por meio de sondas periodontais milimetradas tipo PCPUNC-BR 15 (HuFriedy®), para os seguintes parâmetros: profundidade de sondagem (PS), sangramento à sondagem (SS) e o nível clínico de inserção (NCI).

Os critérios de inclusão para pacientes com periodontite crônica foram: idade entre 18 e 50 anos; possuir, no mínimo, 20 dentes; apresentar, no mínimo, duas bolsas periodontais com PS de 4 a 6 mm e/ou ≥ 7 mm; assinar o termo de consentimento livre e esclarecido, e não apresentar nenhum comprometimento médico relevante que interferisse em sua saúde periodontal.

Os critérios de exclusão foram: apresentar algum comprometimento sistêmico; gravidez; ter feito tratamento periodontal num período de 30 dias anteriores à pesquisa; ter feito uso de antibióticos e anti-inflamatórios em menos de 90 dias anteriores à pesquisa; apresentar qualquer área que facilitasse o acúmulo de placa bacteriana; fumar, e não aceitar o termo de consentimento livre e esclarecido.

Os critérios para composição do grupo controle foram: pacientes periodontalmente saudáveis, sem evidência clínica de perda de inserção, boa higiene oral e ausência de comprometimento sistêmico¹⁰.

Para a coleta do material, inicialmente os locais selecionados foram isolados com roletes de algodão estéril e a placa supragengival foi cuidadosamente removida com bolinhas de algodão estéril, com o intuito de evitar contaminação da amostra subgingival. Em seguida, três pontas de papel absorvente (nº 40) foram inseridas ao longo da parede da bolsa ou do sulco, procurando atingir a sua porção mais apical e permanecendo estas no interior do sítio por 30 segundos¹¹.

- **Coleta do grupo com doença periodontal:** 2 sítios sem bolsa periodontal (sítio controle), 2 a 3 sítios com PS ≥ 4 a 6 mm e 2 a 3 sítios com PS ≥ 7 mm.
- **Coleta do grupo sem doença periodontal:** 2 sítios com PS ≤ 3 mm.

Logo após o término da coleta microbiológica, as pontas de papel absorvente foram agrupadas de acordo com as medidas de profundidade de sondagem para formar um *pool* de amostras, de acordo com Kriger et al.¹² (2007). Estas foram depositadas no interior de tubos de Eppendorf contendo 500 μ L de solução de cloreto de sódio 0,9% estéril, os quais foram devidamente

codificados e armazenados na geladeira de transporte em banho de gelo, e transportados ao Laboratório da Virologia do Centro de Ciências Biológicas e armazenados a -70°C , para posterior processamento das amostras por meio da extração de DNA viral.

As amostras foram submetidas à reação em cadeia da polimerase (PCR) do MDR-1 Exon 26, para comprovar o sucesso da coleta e da extração de DNA. As reações de amplificação foram realizadas de acordo com o que foi descrito por Cascorbi et al.¹³ (2001), em um volume de 50 μL contendo 500 ng de DNA extraído, 200 μM de cada dNTP, 20 pmol de cada iniciador, KCl 50 mM, MgCl₂ 10mM, Tris-HCl pH 8,3, 10 mM e 0,5 U de Taq DNA polimerase. Em cada reação de amplificação, após a desnaturação inicial a 94°C por 2 minutos, foram efetuados 35 ciclos de 30 segundos a 94°C , 30 segundos a 60°C e 30 segundos a 72°C . Os ciclos foram seguidos por uma extensão final de 7 minutos a 72°C .

Os iniciadores para a PCR foram descritos por Telenti et al.¹⁴ (1990) e as suas seqüências estão descritas na Tabela 1.

O protocolo para a realização de PCR utilizado para as reações do EBV foi de acordo com Telenti et al.¹⁴ (1990), contendo 0,5 μg de DNA extraído, 200 μM de cada dNTP, 0,1 μM de cada iniciador, 50 mM de KCl, 1,5 mM de MgCl₂, 10 mM Tris-HCl pH 8,4 e 2,5U de Taq DNA polimerase. Em cada reação de amplificação, após a desnaturação inicial a 94°C por 10 minutos, foram efetuados 30 ciclos de 1,5 minuto a 94°C , 45 segundos a 60°C e 2 minutos a 70°C . O resultado da PCR foi visualizado em gel de agarose a 2% e em um transiluminador com fonte de luz ultravioleta.

Os dados da pesquisa clínica foram armazenados em planilhas do programa Microsoft Excel 2007 (Microsoft®), para elaboração do banco de dados. Os resultados foram retratados em tabelas deste mesmo programa.

RESULTADO E DISCUSSÃO

A composição do grupo com periodontite crônica deu-se, em sua maior parte, por mulheres. A variação de idade deste grupo foi de 19 a 49 anos, com média de 32 anos de idade, sendo 65% dos pacientes com idade superior a 30 anos, como demonstrado na tabela 2. Características semelhantes ocorreram no grupo controle, variando a média de idade, que foi de 30,5 anos.

Após aplicação do teste Qui-quadrado de Independência ($\alpha=5\%$), verificou-se um resultado não significativo para as variáveis Grupo *versus* Gênero, com um valor de p igual a 0,0948; portanto, pode-se concluir que não existe associação estatisticamente significativa entre estas variáveis. No entanto, após aplicação do teste Qui-quadrado de Independência ($\alpha=5\%$) para as variáveis Grupo *versus* Idade, verificou-se um resultado significativo, com um valor de p igual a 0,0448; portanto, pode-se concluir que existe associação estatisticamente significativa entre o Grupo em que o paciente se encontra e a Idade do paciente. Este resultado significativo é fácil de perceber ao observar as diferenças de proporções de indivíduos nas duas faixas etárias no grupo de pacientes com periodontite crônica: neste grupo, a proporção de pacientes com idade acima de 30 anos é quase o dobro de pacientes com idade menor ou igual a 30 anos.

Os parâmetros clínicos analisados demonstraram médias de 2,7 mm de PS, 1,7 mm de NCI e 0,1 de SS, como demonstrados na Tabela 3.

Os resultados da PCR para o EBV foram visualizados em gel de agarose. Na Figura 1, podem ser vistas as bandas correspondentes aos produtos específicos da PCR, correspondendo ao peso molecular (canaleta 6), ao controle negativo (canaleta 5), ao controle positivo (canaleta 4) e às amostras negativas para o EBV (canaletas 3, 2, 1).

O vírus EBV não foi encontrado em nenhuma amostra dos pacientes tanto do grupo com periodontite crônica quanto do grupo controle.

Este estudo corrobora com os resultados demonstrados por Nibali et al.¹⁵ (2009) quanto à ausência de EBV em amostras de biofilme subgingival de indivíduos com doença periodontal crônica. Soma-se, ainda, a trabalhos como o de Ling et al.¹⁶ (2004), que encontraram uma prevalência muito baixa do EBV, apenas 4% dentre os 120 sítios analisados, e de Saygun et al.¹⁷ (2002), que encontraram o EBV em apenas 16,7% da amostra de pacientes com periodontite e também detectaram positividade semelhante na amostra de pacientes saudáveis. Junta-se também aos estudos de Cassai et al.¹⁸ (2003), que demonstraram prevalência muito baixa dos herpesvírus, discordando da associação dos mesmos com a doença periodontal.

Estudos como os de Slots, Contreras¹⁹ (2000) e Parra, Slots²⁰ (1996) apresentam resultados bem variados quanto à presença

Tabela 1. Iniciadores para o gene EBV

| Iniciadores senso | | Iniciadores antissenso | |
|------------------------|--|-------------------------|--|
| 5' GGCTGGTGTACCTGTGTTA | | 5' CCTTAGGAGGAACAAGTCCC | |

Fonte: Telenti et al.¹⁴ (1990).

Tabela 2. Frequência relativa quanto ao gênero e à idade dos pacientes com periodontite crônica, e grupo controle

| Grupo com periodontite crônica | | | | Grupo controle | | | |
|--------------------------------|----------|----------|-----------|----------------|----------|----------|-----------|
| Masculino | Feminino | >30 anos | ≤ 30 anos | Masculino | Feminino | >30 anos | ≤ 30 anos |
| 26% | 74% | 65% | 35% | 38% | 62% | 50% | 50% |

Teste Qui-quadrado de Independência (Grupo *versus* Gênero), $p=0,0948$ ($\alpha=5\%$). Teste Qui-quadrado de Independência (Grupo *versus* Idade), $p=0,0448$ ($\alpha=5\%$).

Tabela 3. Medidas estatísticas de Profundidade de Sondagem, Nível de inserção e Índice de sangramento dos pacientes com periodontite crônica

| Medidas estatísticas | PS* | NCI** | SS*** |
|----------------------|-----|-------|-------|
| Média | 2,7 | 1,7 | 1,0 |
| Desvio padrão | 0,6 | 0,6 | 0,0 |

PS*: Profundidade de Sondagem. NCI**: Nível Clínico de Inserção. SS***: Sangramento à Sondagem.

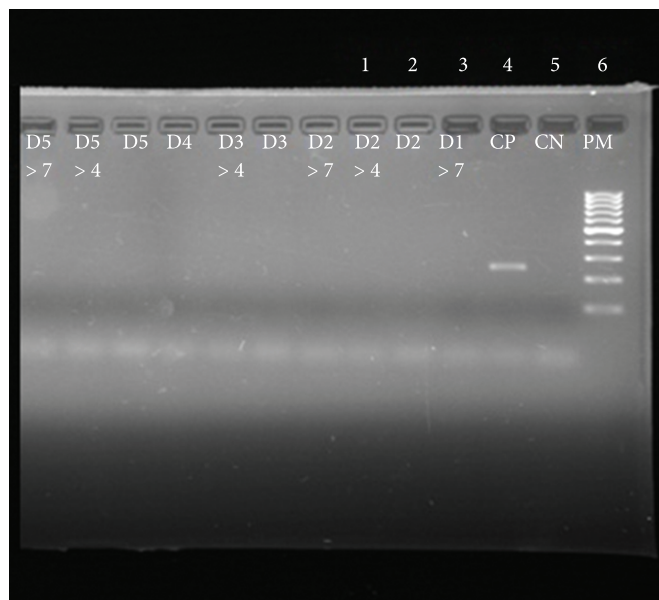


Figura 1. Reação da PCR para detecção do EBV. Gel de agarose a 2% mostrando os produtos de PCR. Canaletas 1, 2 e 3: amostras negativas para o EBV; Canaleta 4: controle positivo; Canaleta 5: controle negativo; Canaleta 6: peso molecular.

dos herpesvírus em pacientes com Periodontite Crônica e apresentam instigante discussão envolvendo inúmeros aspectos da população estudada.

A maioria dos trabalhos pesquisados apresentou uma alta participação do EBV na doença periodontal agressiva: Watanabe²¹ (2005), de 77%, e Kubar et al.²² (2005), de 78%. O único trabalho que apresentou resultado diferente foi o de Bilichodmath et al.²³ (2009), com 78,9% na periodontite crônica e 28,57% na periodontite agressiva.

Alta prevalência foi encontrada também na periodontite associada a manifestações sistêmicas, como demonstrado por Grande et al.²⁴ (2008), com uma ocorrência de 72%, e na relação entre estado nutricional e forma aguda, e localização geográfica, Contreras et al.²⁵ (1997) verificaram prevalência de 63%.

Michalowicz et al.²⁶ (2000) observaram que nenhum dos estudos avaliou a sequência temporal do início da infecção viral e da colonização bacteriana nos indivíduos da pesquisa. Para tanto, exigir-se-ia uma monitoração longitudinal microbiana e sorológica.

Sobre a metodologia do estudo, algumas considerações têm de ser feitas:

- Apesar de a técnica de PCR apresentar uma alta sensibilidade, ainda assim poderia se acreditar no fato de as pontas de papel absorvente não terem sido suficientes para coletar

células infectadas pelo vírus no fluido sulcular do sulco/bolsa, culminando numa presença subestimada dos vírus. No entanto, com o cuidado de realizar a PCR do MDR-1, esses efeitos foram minimizados, embora não se possa afirmar que as amostras negativas para o EBV não amplificaram pela ausência do vírus ou pela baixa quantidade ou qualidade do DNA;

- Aspectos que influenciam na manifestação das doenças bucais, e em sua maioria, não foram considerados. Além de uma melhor investigação destes fatores, ainda faltam estudos longitudinais e microbiológicos para estabelecer a relação entre a infecção por herpes e a doença periodontal.

No que concerne à análise dos fatos, Contreras, Slots²⁷ (2000) apresentaram uma explanação sobre o provável mecanismo dos vírus na periodontite. Eles sugerem que alguns tipos de vírus diminuem a resistência do tecido periodontal, permitindo a multiplicação de bactérias periodontopatogênicas. A reativação herpética no tecido causa uma imunossupressão temporária, o que explica, em parte, a natureza progressiva e episódica da doença. O tropismo tecidual que os herpes vírus apresentam pode ajudar a explicar o padrão localizado da periodontite. A ausência de infecção por herpes vírus ou o seu estado latente (não reativação) seria a razão pela qual indivíduos que abrigam as bactérias periodontopatogênicas permaneçam saudáveis do ponto de vista periodontal.

Neste sentido, se alguns tipos de doença periodontal são realmente causados por infecção bacteriana oportunista mediada por infecção herpética, uma nova medida quanto à prevenção e ao tratamento da periodontite seria focalizar no controle destes vírus que capacitam o aumento do número das bactérias periodontopatogênicas²⁸. Se isto for verdade, segundo Contreras, Slots²⁷ (2000) e Ogawa et al.²⁸ (1982), o tratamento direcionado aos vírus do herpes, incluindo vacinas para o CMV e para o EBV, poderia ser eficazmente empregado na prevenção e no tratamento da doença periodontal. O entendimento sobre a influência dos papéis dos vírus e bactérias na patogênese da periodontite pode ajudar a explicar as características da doença e a identificar pessoas que apresentam alto risco à destruição periodontal.

Segundo os estudos de Parra et al.²⁰ (1996), Grande et al.²⁴ (2008), Contreras et al.²⁵ (1997) e Contreras, Slots²⁷ (2000), a associação entre a doença periodontal e a infecção por herpes pode ser um reflexo da característica imunoinflamatória alterada do hospedeiro, a qual coloca o paciente sob risco para ambas as condições. Mesmo não sendo o mecanismo causal primário para a doença periodontal, a infecção herpética pode contribuir para a morbidade da condição. Assim, a afirmação mais plausível é que a infecção herpética pode ser um indicativo de susceptibilidade para a periodontite. Embora haja evidências circunstanciais do papel dos herpes vírus na periodontite, uma relação causa-efeito ainda não foi estabelecida. Existe uma escassez de estudos que correlacionem todos os aspectos que influenciam direta ou indiretamente na manifestação da doença, a fim de que seja esclarecida a participação dos herpes vírus na etiopatogenia da doença periodontal e, dessa forma, trazer contribuições tanto no diagnóstico quanto no tratamento da doença periodontal.

Após a análise dos resultados obtidos nesta pesquisa, evidenciando a ausência do vírus na totalidade das amostras, não se pode afirmar a relação de risco entre o EBV e a doença periodontal.

REFERÊNCIAS

1. Newman MG, Nisengard RJ. *Microbiologia oral e imunologia*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997.
2. Haffajee AD, Socransky SS. Microbiology and immunology of periodontal disease. *Periodontol* 2000. 1994;5:78-111. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0757.1994.tb00020.x>
3. Kubar A, Saygun I, Ozdemir A, Yapar M, Slots J. Real time polymerase chain reaction quantification of human Cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in periodontal pockets and the adjacent gingiva of periodontitis lesions. *J Periodontal Res*. 2005;40(2):97-104. PMID:15733143. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0765.2005.00770.x>
4. Page RC, Sturdivant EC. Noninflammatory destructive periodontal disease (NDPD). *Periodontol* 2000. 2002; 30: 24–39. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-0757.2002.03003.x>
5. Brogden, KA, Guthmiller, JM, editors. *Polymicrobial diseases*. Washington: ASM Press; 2002.
6. Slots J, Sabeti M, Simon JH. Herpesviruses in periapical pathosis: an etiopathogenic relationship? *Oral Surg*. 2003; 96: 27–31.
7. Cappuyns I, Gugerli P, Mombelli A. Viruses in periodontal disease - a review. *Oral Dis*. 2005; 11(4): 219–29. PMID:15984953. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-0825.2005.01123.x>
8. Knipe D.M, Howley P.M. *Fields virology*. 4ª ed. Philadelphia: Lippencott, Williams & Wilkins; 2001.
9. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*. 1999; 4: 1-6. PMID:10863370. <http://dx.doi.org/10.1902/annals.1999.4.1.1>
10. Armitage GC. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontology* 2000. 2004; 34: 9-21. <http://dx.doi.org/10.1046/j.0906-6713.2002.003421.x>
11. Imbronito AV, Grande SR, Freitas NM, Okuda O, Lotufo RF, Nunes FD. Detection of Epstein-Barr vírus and human cytomegalovirus in blood and oral samples: comparison of three sampling methods. *J Oral Sci*. 2008; 50(1): 25-31. <http://dx.doi.org/10.2334/josnusd.50.25>
12. Krigar DM, Kaltschmitt J, Krieger JK, Eickholz P. Two subgingival plaque sampling strategies used with RNA-probes. *J Periodontol*. 2007; 78: 72-8. PMID:17199542. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.2007.060236>
13. Cascorbi I, Gerloff T, Johne A, Meisel C, Hoffmeyer S, Schwab M, et al. Frequency of single nucleotide polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in white subjects. *Clin Pharmacol Ther*. 2001; 69: 169-74. PMID:11240981. <http://dx.doi.org/10.1067/mcp.2001.114164>
14. Telenti A, Marshlll WF, Smith TF. Detection of Epstein-Barr virus by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*. 1990; 28 (10): 2187–90. PMID:2172284 PMID:268144.
15. Nibali L, Atkinson C, Griffiths P, Darbar U, Rakmanee T, Suvan J, et al. Low prevalence of subgingival viruses in periodontitis patients. *J Clin Periodontol*. 2009; 36 (11): 28-32. PMID:19811582. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-051X.2009.01476.x>
16. Ling LJ, Ho CC, Wu CY, Chen YT, Hung SL. Association between human herpesviruses and the severity of periodontitis. *J Periodontol*. 2004;75(11): 1479-85. PMID:15633324. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.2004.75.11.1479>
17. Saygun I, Sahin S, Ozdemir A, Kurtis B, Yapar M, Kubar A, et al. Detection of human viruses in patients with chronic periodontitis and the relationship between viruses and clinical parameters. *J Periodontol*. 2002; 73(12): 37-43. PMID:12546093. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.2002.73.12.1437>
18. Cassai E, Galvan N, Trombelli L, Rotola A. HHV-6, HHV-7 and HHV-8 in gingival biopsies in chronic adult periodontitis patients. A case-control study. *J Clin Periodontol*. 2003; 30 (3): 184-91. PMID:12631175. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-051X.2003.00220.x>
19. Slots J, Contreras A. Herpesviruses: a unifying causative factor in periodontitis?. *Oral Microbiol Immunol*. 2000; 15 (5): 277-80. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1399-302x.2000.150501.x>
20. Parra B, Slots J. Detection of human viruses in periodontal pockets using polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol*. 1996; 5(11): 289–93. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-302X.1996.tb00183.x>
21. Watanabe SA, Correia-Silva JF, Horta MCR, Costa JE, Gomes RS. EBV-1 and HCMV in aggressive periodontitis in Brazilian patients. *Braz Oral Res*. 2007; 21(4):336-41. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-83242007000400010>
22. Kubar A, Saygun I, Ozdemir A, Yapar M, Slots J. Real time polymerase chain reaction quantification of human Cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in periodontal pockets and the adjacent gingiva of periodontitis lesions. *J Periodontal Res*. 2005; 40 (2): 97-104. PMID:15733143. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0765.2005.00770.x>
23. Bilichodmath S, Mangalekar SB, Sharma DC, Prabhakar AK, Reddy SB, Kalburgi NB, et al. Herpesviruses in chronic and aggressive periodontitis patients in an Indian population. *J Oral Sci*. 2009; 51(1): 79-86. <http://dx.doi.org/10.2334/josnusd.51.79>
24. Grande SR, Imbronito AV, Okuda OS, Lotufo RFM, Magalhães MHG, Nunes FD. Herpes viruses in periodontal compromised sites: comparison between HIV-positive and -negative patients. *J Clin Periodontol*. 2008; 35: 838–45. PMID:18727655. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01307.x>
25. Contreras A, Falkler WA Jr, Enwonwu CO, Idigbe EO, Savage KO, Afolabi MB, et al. Human Herpesviridae in acute necrotizing ulcerative gingivitis in children in Nigeria. *Oral Microbiol Immunol*. 1997; 12(5): 259-65. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-302X.1997.tb00389.x>
26. Michalowicz BS, Ronderos M, Camara-Silva R, Contreras A. Human herpesviruses and *Porphyromonas gingivalis* are associates with juvenile periodontitis. *J Periodontol*. 2000; 71 (6): 81-8. PMID:10914802. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.2000.71.6.981>
27. Contreras A, Slots J. Herpesviruses in human periodontal disease. *J Periodontal Res*. 2000; 35: 3-16. PMID:10791704. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-0765.2000.035001003.x>

28. Ogawa Y, Fujita H, Matsuoka H, Komatsubara J, Hori T, Kaneko N, et al. Isolation of herpes simplex virus from patients with periodontal disease. Nippon Shishubyo Gakkai Kaishi. 1982; 24(4): 594-600. <http://dx.doi.org/10.2329/perio.24.594>

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

Cleysiane Farias

Av. General Manuel Rabelo, 1950, Engenho Velho, 54160-000 Recife - PE, Brasil

e-mail: cleyodonto@hotmail.com

Recebido: 09/09/2012

Aprovado: 05/04/2013