

**UNIVERSIDADE SANTO AMARO**  
**MESTRADO EM ODONTOLOGIA**

**RAIMUNDO NEIVA JUNIOR**

**DETECÇÃO DE TENO TORQUE VÍRUS EM SALIVA DE  
PACIENTES EM HEMODIALISE SUBMETIDOS A TRATAMENTO  
PERIODONTAL**

**São Paulo**

**2022**

**RAIMUNDO NEIVA JUNIOR**

**DETECÇÃO DE TENO TORQUE VÍRUS EM SALIVA DE  
PACIENTES EM HEMODIALISE SUBMETIDOS A TRATAMENTO  
PERIODONTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* da Universidade Santo Amaro – UNISA, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia.  
Orientador: Profa. Dra. Debora Pallos

**São Paulo**

**2022**

Ficha catalográfica  
(verso da folha de rosto)

**RAIMUNDO NEIVA JUNIOR**

**DETECÇÃO DE TENO TORQUE VÍRUS EM SALIVA DE  
PACIENTES EM HEMODIALISE SUBMETIDOS A TRATAMENTO  
PERIODONTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* da Universidade Santo Amaro – UNISA, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientador: Prof. Dra. Débora Pallos

São Paulo – SP, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2022

Banca Examinadora

\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Debora Pallos

\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Yeon Jung Kim

\_\_\_\_\_  
Profa. Dr. Luiz Henrique da Silva Nali

Conceito Final: \_\_\_\_\_



*Dedicatória*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço em primeiro lugar a Deus, pela coragem e discernimento para enfrentar todos os desafios para chegar até esse momento. Agradeço a Lissa, por todo o seu companheirismo, e por acreditar nos nossos sonhos e em minha capacidade. A meus pais e irmãos, pelo amor e apoio incondicional, ainda que separados fisicamente. Agradeço ao Prof. Wilson e todos os professores do programa pela oportunidade de compor seu quadro de alunos, pelos ensinamentos passados, que vão além da odontologia. Às Professora Debora Pallos e Yeon Kim, pelo seu fundamental papel na orientação desses e outros projetos. Aos professores Paulo Brás e ao Rodrigo pelo seu pape fundamental na análise das nossas amostras. E por último a UNISA, pela concessão da bolsa de estudos, sem a qual não seria possível participar do curso.

*Epígrafe*

## RESUMO

O Teno Torque Vírus (TTV) foi descoberto no ano de 1997 em pacientes que realizavam transfusões sanguíneas. Apresenta uma grande variabilidade genética, amplo espectro e prevalência significativa entre as populações. Devido ao caráter recente da descoberta do TTV, permanecem dúvidas acerca de diversos aspectos relacionados à sua atividade. A sua patogenicidade ainda não foi completamente elucidada, e há uma possível relação do TTV com patologias orais. O presente estudo teve por objetivo avaliar a presença de Teno Torque Vírus em amostras de saliva de pacientes renais crônicos submetidos a tratamento periodontal. Foram analisadas um total de 56 amostras de saliva, de 19 pacientes. O controle de saúde bucal e médico dos pacientes, juntamente com a coleta de saliva por meio de salivete foi feita em um momento zero (T0), após um mês (T1), após três meses (T2), e após 120 meses (T3). A detecção do TTV foi realizada através do método de extração de DNA por RT – PCR. Foram analisadas 56 amostras, de 19 pacientes, onde 62,5% foram positivas e 37,5% foram negativas. Havendo variações durante o tratamento e variações na carga viral. Concluiu-se houve uma diminuição da carga viral de TTV com o tratamento periodontal, tendo uma variação no número de cópias de 0,6 cp/ml a 922,7 cp/ml. Esse resultado está de acordo com estudos recentes, os quais apontam para uma relação entre a presença de TTV e a patogênese da doença periodontal. Mais estudos devem ser realizados com o intuito de esclarecer o papel do TTV na etiologia da periodontite.

Palavras chave: Teno Torque Vírus, Periodontite, PCR, Hemodiálise.

## ABSTRACT

The Teno Torque Virus (TTV) was discovered in 1997 in patients undergoing blood transfusions. It presents a great genetic variability, a wide spectrum and significant prevalence among populations. Due to the recent nature of the discovery of TTV, doubts remain about several aspects related to its activity. Its pathogenicity has not yet been fully elucidated and there is a possible relationship between TTV and oral pathologies. The present study aimed to evaluate the presence of Teno Torque Virus in Spittle samples from chronic renal patients undergoing periodontal treatment. A total of 56 Spittle samples from 19 patients were analyzed. The oral and medical health control of the patients together Spittle collection using a salvette was performed at zero time (T0), after one month (T1), after three months (T2) and after 120 months (T3). ). The detection of TTV was performed using the DNA extraction method by RT – PCR. Fifty-six samples from 19 patients were analyzed, with 62.5% were positive and 37.5% were negative. There are variations during treatment and variations in viral load. It was concluded that there was a decrease in TTV viral load with periodontal treatment, with a variation in the number of copies from 0.6 cp/ml to 922.7 cp/ml. This result is in agreement with recent studies that point a relationship between the presence of TTV and the pathogenesis of periodontal disease. More studies should be carried out in order to clarify the role of TTV in the etiology of periodontitis.

Keywords: Teno Torque Virus, Periodontitis, PCR, Hemodialysis.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	12
2	OBJETIVO .....	14
3	REVISÃO DE LITERATURA .....	15
4	METODOLOGIA .....	22
5	RESULTADOS .....	26
6	DISCUSSÃO .....	29
7	CONCLUSÃO .....	32
	REFERÊNCIAS .....	33
	ANEXO 1 .....	36
	ANEXO 2 .....	39

## 1 INTRODUÇÃO

O Teno Torque Vírus (TTV), que também pode significar “vírus transmitido por transfusão”, foi descoberto no ano de 1997, quando foi identificado na corrente sanguínea de um paciente japonês portador de hepatite que havia se submetido a transfusões de sangue recentemente. Em suas características, é um vírus da família *Aneloviridae*, de cadeia única, sem envelope, circular e de sentido negativo, sendo o primeiro vírus humano com um genoma de DNA de fita simples (Nishizawa et al., 1997; Hino e Miyata, 2007).

Devido ao seu amplo espectro, a célula alvo do TTV permanece desconhecida. Seu meio de transmissão, bem como seu ciclo biológico e reprodutivo, ainda não está completamente claro. Sabe-se que níveis elevados de TTV em saliva sugerem que este fluído possa vir a ser uma via de transmissão do mesmo, além das já conhecidas via sanguínea e parenteral, e que sua replicação possa ocorrer na orofaringe e em glândulas salivares (Rotundo et al., 2004).

Embora tenha sido associada à hepatite, a alta prevalência do TTV em algumas populações não foi correlacionada a uma patologia específica (Bez et al., 2000). Além das desordens hepáticas, o TTV foi correlacionado a doenças renais crônicas. Em uma pesquisa realizada no Brasil, Takemoto et al. (2015) relataram uma frequência de 10% (5/50) de pacientes transplantados renais, e uma prevalência de 36% de TTV positivo em pacientes em diálise.

A detecção da presença de TTV em áreas como rios e estações de tratamento de resíduos indica que o este vírus é ambientalmente estável e facilmente transmissível (Webb et al., 2020). Uma revisão de literatura com meta-análise realizada recentemente que incluiu estudos feitos em 7 países (EUA, Japão, Itália, Irã, Alemanha, Egito e Brasil) apontou para uma prevalência de TTV de 56,67% em águas residuais e de 26,72% nas águas dos rios (Ekundayo, 2021). Uma estimativa da prevalência global de TTV realizada a partir de estudos com método PCR indicou que cerca de 80% da população de todo o mundo está infectada (Pinho-Nascimento et al., 2011). Entende-se também que cerca de dois terços da população mundial pode estar exposta ao TTV desde os dois primeiros meses de vida. Mas, independentemente de viremia, as taxas tendem a variar de acordo com a idade (Rotundo et al., 2004).

Sabe-se que durante o atendimento odontológico o cirurgião dentista está exposto ao contato com fluídos sanguíneos e salivares do paciente. Nesse sentido, estudos foram feitos no intuito de verificar se haveria uma maior prevalência de TTV em profissionais desta área e foi descoberto no Reino Unido uma prevalência de TTV de 5,7% entre cirurgiões dentistas, porcentagem considerada normal (Bez et al., 2000).

Já em pacientes, parece haver uma possível relação do TTV com patologias orais, uma vez que o vírus foi identificado em pacientes com periodontite em uma taxa de prevalência de 18,75% de TTV na saliva de pacientes com periodontite contra 10% em pacientes saudáveis, ou seja, pacientes com periodontite possuíam maiores cargas virais de TTV (Zhang et al., 2017; Yu et al., 2020).

Devido ao caráter recente da descoberta do TTV, permanecem dúvidas acerca de diversos aspectos relacionados à sua atividade. Nesse sentido, se faz necessário que mais pesquisas sejam realizadas com o objetivo de prover informações relevantes para a prática clínica. Conseqüentemente, avaliar a prevalência de TTV em pacientes renais crônicos em tratamento odontológico é uma abordagem útil para determinar o nível de exposição ao vírus entre esses pacientes e obter informações sobre a possível relação etiológica de patologias orais ao TTV.

## **2 OBJETIVO**

O presente estudo teve por objetivo avaliar a presença e a carga viral de Teno Torque vírus em amostras de saliva de pacientes renais crônicos em hemodiálise, submetidos a tratamento periodontal não cirúrgico.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

O Teno Torque Vírus foi documentado pela primeira vez no Japão, em 1997. Em um paciente submetido a diversos transplantes de sangue. Virus da família *Aneloroidea*, trata-se do primeiro vírus do viroma humano de cadeia simples de DNA. Apresenta cadeia única, sem envelope circular e sentido negativo. (Nishizawa et al., 1997; Hino e Miyata.; 2007).

O TTV apresenta alta taxa de mutação genética poderia tornar a técnica de PCR menos sensível para identificar este vírus. Os autores apontaram que outras limitações para o diagnóstico laboratorial da infecção por TTV incluem não haver nenhum sistema de cultura de tecidos com sensibilidade suficiente para o isolamento de TTV e a falta de compreensão sobre as respostas imunes induzidas pelo vírus. Na análise por PCR, a escolha do segmento de DNA viral alvo para amplificação tem um enorme impacto na sensibilidade do ensaio. O uso de vários conjuntos de *primers* pode solucionar essa questão em parte. Devido à sua maior conservação, a região não traduzida do genoma do TTV tem sido usada com maior precisão na detecção dos genótipos de TTV atualmente reconhecidos. (Bendinelli et al. 2001).

Uma prevalência de TTV de 5,7% em 53 profissionais da área odontológica (9 cirurgiões-dentistas, 14 auxiliares e 30 funcionários de consultório), foi encontrada na Inglaterra. Essa frequência não difere da frequência de pacientes portadores do TTV que são doadores de sangue. Os dados sugeriram que os profissionais de saúde bucal não apresentaram risco aumentado de aquisição nosocomial do TTV. (Bezetz et al. 2000)

Lodi et al. (2002) verificou a implicação para os cirurgiões-dentistas dos vírus da hepatite C, hepatite G e TTV, os autores apontaram que médicos e cirurgiões-dentistas não representam grupos de alto risco para infecção pelo TTV, pois não foram encontradas evidências suficientes sobre manifestações orais dessa infecção.

Em amostras nasais e de sangue de crianças de 1 a 24 meses hospitalizadas com doenças respiratórias, verificou-se uma prevalência de 87% de TTV na análise das amostras nasais. Os autores relataram que a carga viral de TTV em amostras nasais de crianças com pneumonia ( $9.2 \log^{10}$  cópias/ml), foi mais significativa do que em outras crianças com doença respiratória aguda ( $7.6 \log^{10}$  cópias/ml). Maggi et al. (2003)

De forma inédita, Rotundo et al. (2004) demonstrara, em seu estudo que os níveis de TTV em pacientes com doença periodontal, foram mais elevados do que em pacientes periodontalmente saudáveis. Nenhuma associação entre a presença de TTV em saliva e o nível de doença periodontal foi encontrado. Pode-se a partir disso, sugerir que, a presença do TTV esteja relacionada à patogênese da doença periodontal.

A prevalência de vírus da hepatite G (HGV) e TTV em pacientes chineses com doenças orais, foi avaliada a partir de amostras de soro e saliva de 226 pacientes. A análise de PCR das amostras de sangue indicaram uma prevalência de 11,9% para HGV e 9,3% para TTV. A análise das amostras de saliva apontou para uma prevalência de 4,4% para HGV e 3,9% para TTV. Os autores do estudo sugeriram que os cirurgiões-dentistas podem ser uma das populações com alto risco de infecção por HGV ou TTV devido à presença desse vírus na saliva de pacientes com doenças orais. Yan et al. (2002)

A prevalência de TTV em pacientes odontológicos hospitalizados foi avaliada em um estudo feito por Takata et al. (2003). O DNA do TTV foi analisado por PCR em 441 pacientes, sendo 192 com câncer oral e 249 com doenças císticas orais. Ao todo se observou uma prevalência de TTV de 31,1%. Dos pacientes com câncer oral, 57 apresentaram TTV, enquanto 80 pacientes com doença cística oral tinham TTV. A prevalência de TTV foi semelhante entre os grupos. Para os autores, os resultados reforçam a premissa de que os cirurgiões-dentistas devem manter altos padrões de controle ao tratar qualquer paciente odontológico para evitar riscos de infecção por TTV.

Devalle e Niel (2003) avaliaram a prevalência e os genótipos mais comuns de TTV em amostras de sangue coletadas de 72 adultos brasileiros, sendo 24 doadores de sangue, 24 portadores do vírus da hepatite B (HBV) e 24 pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1). Verificou-se uma prevalência de 46% para doadores de sangue, 54% em portadores de HBV e 100% em pacientes com HIV-1. Os cinco genótipos de TTV foram encontrados em todos os grupos avaliados, exceto o genótipo 2 no grupo de doadores de sangue.

A prevalência de TTV na República Tcheca foi avaliada em estudo realizado por Sálakova et al. (2004). Foram analisadas amostras de sangue de diferentes grupos populacionais. Em 20 pacientes com hemofilia a prevalência de TTV foi de 95%. Para 49 usuários de drogas intravenosas, verificou-se uma

prevalência de 91,8%. Em um grupo com 100 profissionais do sexo houve prevalência de 62%. Um grupo com 50 indivíduos sob custódia do sistema prisional apontou para a prevalência de 74%. Em 52 pacientes com hepatite X, também conhecida como Non-A-E 6epatites ou hepatite aguda criptogênica, a prevalência foi de 75%, para 74 pacientes com hepatite C foi de 89.2%. Em 51 doadores de sangue com níveis aumentados de alanina aminotransferase (ALT) verificou-se prevalência de 60,8%. Um grupo de 208 crianças saudáveis de 1 a 14 anos indicou prevalência de 67.8%. A análise de 54 amostras de sangue do cordão umbilical apontou para prevalência de 0%. Um grupo com 196 doadores de sangue foi usado como controle, no qual houve prevalência de 52,6%. Os genótipos G2 e G1 foram mais prevalentes, seguidos por G8 e G3. Os resultados apontaram que uma maior prevalência de TTV foi associada aos pacientes que receberam múltiplas transfusões de sangue. Verificou-se uma crescente prevalência do vírus com o aumento da idade.

Hino e Miyata (2007) sugeriram que a carga viral do TTV tende a ser maior nos ossos medulares, pulmões, baço e fígado. Sugerindo que, o mesmo apresenta-se difuso no organismo. Sua replicação também é sugerida em altas concentrações em secreção nasal, levando a suposição que o TTV se replica no interior do epitélio pulmonar. A maioria das pessoas está co-infectadas com TTV e TTMVs.

A prevalência de TTV em crianças japonesas foi avaliada em um estudo conduzido por Naganuma et al. (2008). Foram coletadas 83 amostras de saliva de crianças de 1 mês, 110 amostras de crianças de 4 meses e 49 amostras de crianças de 42 meses. Um grupo de adultos foi criado como controle no qual foram analisadas amostras de sangue e saliva de 19 indivíduos saudáveis com até 40 anos. As amostras foram analisadas via PCR para verificar a quantidade e os grupos de TTV presentes. Os resultados apontaram para uma prevalência de 6% em crianças de 1 mês, 34% de crianças de 4 meses e 90% das crianças de 42 meses. Em adultos a prevalência observada foi de 84%. Em todas as idades o genótipo G3 foi o mais comum, seguido pelo G4 e G1.

Em um estudo realizado na Índia, Irshad et al. (2009) avaliaram a prevalência de TVV em 100 pacientes em hemodiálise, bem como a sua relação com a prevalência de outros vírus, como hepatite B (HBV) e C (HCV). Um grupo de controle foi formado incluindo 100 doadores de sangue. As amostras de sangue foram colhidas e a análise PCD foi usada para determinar a quantidade

de vírus. De acordo com os resultados verificou-se uma prevalência de 39% de TTV em pacientes em hemodiálise, enquanto os doadores de sangue apresentaram uma prevalência de 27%. Não foi observada uma associação entre o TTV e infecções por HBV e HCV. Os resultados sugeriram que o TTV pode atuar de forma benigna, não mostrando nenhum sinal de dano renal ou hepático.

A presença de TTV na gengiva de pacientes com periodontite agressiva, pacientes com periodontite crônica e controles saudáveis em 42 indivíduos (22 homens e 20 mulheres) com idades entre 21 e 55 anos. A biópsia do tecido gengival foi realizada de todos os indivíduos e a presença de TTV foi analisada por PCR. De acordo com os resultados, o TTV foi identificado em 50% dos indivíduos em geral. Não foi observada uma diferença significativa na prevalência de TTV entre os indivíduos com periodontite e os controles. Verificou-se uma associação significativa entre a presença do vírus e a profundidade de sondagem e nível de inserção clínica. Kaarthikeyan et al. (2010)

Um estudo foi feito no Brasil por Massaú et al. (2012) com o objetivo de avaliar a prevalência de TTV em 150 doadores de sangue e 77 pacientes em hemodiálise. As amostras de plasma sanguíneo foram selecionadas e encaminhadas para análise de DNA do TTV por PCR. Observou-se que a prevalência de TTV entre doadores de sangue foi de 73,3%, enquanto a prevalência para pacientes que necessitaram de hemodiálise foi de 68,8%. Nos doadores de sangue verificou-se uma relação entre a presença de TTV e a idade, o que não foi verificado nos pacientes em hemodiálise.

Mazzola et al. (2015) realizaram um estudo com o objetivo de determinar a prevalência de TTV em 551 doadores de sangue saudáveis e com idade entre 18 a 55 anos por meio residentes no sul do Brasil. Os resultados indicaram que a prevalência de TTV foi de 69%, sem diferença para as variáveis de sexo, etnia ou estado civil. No entanto, verificou-se uma diferença significativa na prevalência do vírus em relação à idade, com maior incidência em indivíduos de 18 a 24 anos.

Takemoto et al. (2015) em estudo realizado no Brasil, relataram uma maior porcentagem de indivíduos com TTV entre pacientes transplantados renais (54%), do que em pacientes submetidos a tratamento de diálise (36%). Isso pode ser explicado, devido à terapia imunossupressora a qual os pacientes transplantados estão submetidos.

Zang et al. (2016) relataram uma maior prevalência de TTMV em pacientes portadores de periodontite crônica, em comparação a pacientes

saudáveis periodontalmente, sugerindo que pode haver uma maior incidência de TTMV em tecidos periodontais de pacientes portadores de periodontite crônica. Todas as amostras de epitélio gengival e tecido conectivo desse estudo foram coletadas após os pacientes receberem tratamento periodontal com raspagem sub e supra gengival. Sugerindo que o tratamento periodontal seja uma forma eficaz de reduzir a carga viral do TTV.

Hettman et al. (2016) relataram que sua prevalência é associada à várias condições patológicas, como doenças hepáticas, respiratórias, hematológicas e câncer, incluindo carcinoma faríngeo e hipofaríngeo. Ficou demonstrado em seu estudo que houve uma maior prevalência de TTV em saliva e em biopsia dos tumores de pacientes portadores de Carcinoma hipofaríngeo, sugerindo que o mesmo atue como carcinógeno.

Foi avaliada, a prevalência e a genotipagem de TTV em 80 pacientes saudáveis e 80 pacientes com periodontite crônica. Observou-se uma prevalência de 18% em pacientes com periodontite e de 10% em pacientes saudáveis. Observou-se uma nova espécie de TTMV, o TTMV-204. Entretanto, nenhuma associação significativa foi observada entre TTMV-204 e periodontite crônica. É necessária uma pesquisa mais aprofundada, com uma amostra maior afim de relacionar a presença de TTMV– 204 a etiologia da periodontite crônica. ( Zang et al. 2017)

Reshetnyak et al. (2020) realizaram uma revisão de literatura sobre a relação entre TTV e doenças do fígado. Os autores apontaram que a prevalência significativa do TTV em diversas populações indica sua possível participação no viroma humano. O equilíbrio do sistema imune mantém o organismo humano livre dos efeitos patogênicos do TTV. Observou-se que após a contaminação com TTV, há em geral duas variantes de sua presença no corpo, a persistência não patogênica ou ocorrência de situações adversas no organismo, causando danos às células suscetíveis, incluindo os hepatócitos e o epitélio dos canalículos biliares. Os resultados sugeriram que a patogenicidade do TTV é condicional ao estado imunológico.

Liver et al. (2020) avaliaram a prevalência de TTV em 50 pacientes em hemodiálise e 30 pacientes transplantados renais a partir de amostras de sangue, utilizando o método PCR. Os resultados apontaram que o TTV foi detectado no plasma de 80% dos pacientes em hemodiálise e 93% dos pacientes transplantados. A carga viral média foi maior em pacientes transplantados (6.3

$\log^{10}$  cópias /ml) do que em pacientes em diálise ( $5.0 \log^{10}$  cópias/ml). Verificou-se uma possível relação entre a maior prevalência de TTV e as condições imunológicas dos pacientes.

Em um estudo retrospectivo Kulifaj et al. (2020) avaliaram a prevalência e a genotipagem de TTV em amostras de plasma sanguíneo de 15 doadores e 15 receptores de rim. A carga de TTV foi quantificada por PCR e os genomas de TTV foram analisados por sequenciamento de Nova Geração (NGS) para avaliar a prevalência de genótipos. De acordo com os resultados observou-se a presença de em média 12 espécies de TTV em doadores e 33 em receptores. Nos doadores, as espécies TTV-13 (39%) e TTV-18 (15%) foram a maioria, as outras espécies representando menos de 7%. Para receptores as espécies TTVP15-2 (13%), TTV-27 (12%), TTV-HD14a (10%) e TTV-22 (9%) foram as mais abundantes. Verificaram cargas virais de TTV significativamente maiores e mais diversas em receptores ( $3,90 \log^{10}$  / ml pré transplante e  $7,15 \log^{10}$  / ml pós transplante) do que em doadores (de  $1,54$  a  $5,59 \log^{10}$ / ml). Estudos futuros devem ser feitos para esclarecer as especificidades de cada espécie e seus efeitos no corpo humano.

Yu et al. (2020) aplicaram o método PCR para avaliar a prevalência de TTVs, citomegalovírus humano (HCMV) e vírus Epstein-Barr (EBV) em amostras de tecido gengival de 159 pacientes chineses. Os pacientes foram divididos em grupos de acordo com o seu estado de saúde bucal: 57 possuíam periodontite agressiva, 59 possuíam periodontite crônica e 43 estavam saudáveis. Os resultados indicaram que as cargas de TTV foram significativamente maiores nos pacientes com periodontite agressiva (de  $5.00$  a  $9.33 \log^{10}$  / ml) e periodontite crônica (de  $5.22$  a  $9.39 \log^{10}$  / ml) do que em pacientes saudáveis (de  $3.79$  a  $8.21 \log^{10}$  / ml). Estudos futuros devem explorar a interação entre tais vírus na etiologia da periodontite.

Um estudo feito por Moghimi et al. (2020) teve como objetivo determinar a prevalência de TTV em 50 indivíduos iranianos saudáveis e 68 indivíduos infectados com o vírus da hepatite C (HCV) pelo método PCR usando *primers* específicos das regiões 5'-UTR e N22. Os resultados indicaram que o TTV foi detectado em 4% dos indivíduos saudáveis e em 5,8% dos indivíduos infectados com HCV. Os genótipos TTV mais comuns entre indivíduos HCV-positivos foram 3, 17 e 13. Não foi verificada uma relação entre a infecção por HCV e a maior prevalência de TTV.

Sarairah et al. (2020) avaliaram a prevalência de TTV em 396 indivíduos e 171 animais domésticos na Jordânia. Os resultados apontaram para uma prevalência de 96% nos indivíduos jordanianos e de 29% nos animais domésticos. As análises realizadas indicaram que a principal via de transmissão do TTV é entre humanos. A transmissão humano-animal atualmente, em qualquer direção, é considerada rara. A maioria dos genes isolados de TTV nos animais parece derivar de um único evento de transmissão de humano para animal no passado.

Ao comparar os níveis de TTV em amostras de saliva e de plasma pacientes submetidos a transplantes de órgãos sólidos, Batista et al, 2020. Observaram uma equivalência na presença de TTV, sendo 58%, 52% e 60% em amostras de saliva, e 60%, 73% e 90%, (15-20 dias antes do transplante e 45-60 dias após o transplante). Demonstrando que a saliva se apresenta como uma confiável e não invasiva fonte de amostras para diagnóstico de TTV.

Mendes-Correa et al. (2021) avaliaram a presença de TTV na saliva de 91 indivíduos positivos para SARS-CoV-2 de 126 indivíduos negativos, todos com sintomas respiratórios leves. Os resultados indicaram que o nível de TTV diminuiu conforme os sintomas foram resolvidos no grupo infectado com SARS-CoV-2 e permaneceu inalterado nos indivíduos negativos para SARS-CoV-2. Desse modo, considerou-se que a redução de TTV na saliva foi associada a probabilidade um melhor prognóstico na resolução dos sintomas em indivíduos positivos para SARS-CoV-2.

#### 4 METODOLOGIA

O presente estudo foi previamente enviado e aprovado no Comitê de Ética e Pesquisa – UNISA (CAAE – 45478615.1.0000.0081) (Anexo 1).

É um estudo longitudinal que consistiu na avaliação da presença de Teno Torque Vírus em amostras de saliva de pacientes renais crônicos que realizam tratamento de hemodiálise.

Foi conduzido no setor de Hemodiálise Medirim, em Cariacica – Espírito Santo. Todos os pacientes assinaram o TCLE e foram esclarecidos sobre a pesquisa e seus benefícios (Anexo 2).

Os seguintes critérios de inclusão foram adotados na seleção dos pacientes: possuir um mínimo de 10 dentes em boca e possuir tempo e disponibilidade para desenvolvimento do trabalho.

Os critérios de exclusão foram: pacientes edêntulos, fumantes, gestantes ou lactantes, ter recebido tratamento periodontal nos últimos 6 meses, apresentar gengivite, ser soropositivo para HIV, HC ou HBV.

Para uma maior precisão e para reduzir os índices de viés, os pacientes foram avaliados por dois periodontistas, previamente calibrados.

O tratamento aconteceu em tempos distintos, quando no momento zero, T0 os pacientes foram submetidos a exame periodontal, exame médico, tratamento periodontal e técnica de higiene bucal. Em T1, foram submetidos a exame periodontal, exame médico e técnica de higiene bucal. Em T2, exame periodontal, exame médico, e técnica de higiene bucal.

### **Exame clínico periodontal:**

A profundidade de sondagem foi tomada a partir de uma sonda periodontal Williams, as referências usadas para a tomada das medidas foram da margem gengival livre, até o fundo da bolsa periodontal, em 6 sítios de cada elemento dental. O registro do nível de inserção clínica também foi tomado, a partir da junção cimento esmalte, até a margem gengival. Todas as medidas foram registradas em milímetros.

A presença de biofilme, bem como o sangramento a sondagem foram registrados nas quatro faces de cada elemento dental de forma dicotômica.

Os pacientes foram submetidos à terapia periodontal, por meio de raspagem supra e sub gengival com instrumentos manuais e ultrassom. Entre uma e duas, seções de acordo com a necessidade, sendo realizado alisamento radicular aplainamento em todos os dentes. Todos os pacientes receberam um kit de escovação contendo creme dental, escova e fio dental, a fim de manter o suporte e devido controle do biofilme.

### **Coleta de saliva:**

A coleta de saliva dos pacientes se deu por meio de um Salivete da seguinte forma: o paciente deve retirar o Swab de dentro do dispositivo, e levá-lo a boca, estimulando a salivagem por 60 segundos; em seguida devolve o Swab para o dispositivo. Após isso, as amostras devem ser centrifugadas por dois minutos, a 1,000 x g. Dessa forma, as amostras depositadas na parte inferior do Salivete, estão prontas para a análise.

Os exames periodontais e as coletas de saliva foram feitas nos seguintes tempos: momento zero, antes de iniciar o tratamento (T0), após um mês (T1), após três meses (T2), e após 120 meses (T3).

### **Procedimentos laboratoriais:**

As amostras de saliva foram submetidas ao protocolo de extração de DNA com QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Alemanha) seguindo as instruções do

fabricante. Foi utilizado um volume inicial de 200 µl de amostra e uma eluição final de 110 µl para um aumento na concentração.

Para a detecção de Torque Teno vírus (TTV) foi realizado por metodologia de PCR em tempo real quantitativo, modificado por Maggi em 2001. A reação foi utilizada uma concentração final de 1x de TaqMan™ Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, Life Tech, EUA), 250 nM de primers (Forward e reverse) e 62 nM de sonda, e 5 µl de DNA extraído da amostra. A sequência dos primers e sondas estão dispostas na tabela 1. Amostras foram consideradas positivas quando possuíram um valor de > 40 cópias / ml (Mendes-Correa, 2021).

Como controle interno da reação de extração e PCR foi utilizado ensaio TaqMan™ Gene Expression Assay, VIC primer-limited (Applied Biosystems, Life Tech, EUA) customizado do gene Rnase P humana, seguindo as instruções do fabricante.

As reações foram feitas seguindo termociclagem de 50°C por 2 minutos, 95°C por 10 minutos, e 40 ciclos de 95°C 15 segundos e 60°C por 1 minuto, no equipamento QuantStudio 6 flex (Applied Biosystems, Life Tech, EUA) para todas as reações descritas anteriormente. Os dados foram analisados com o software QuantStudio Design & Analysis Software v.2.6 (Thermo Fisher Scientific).

Durante a análise, usou-se uma curva-padrão sintética com quantidades conhecidas do oligonucleotídeo sintético para quantificação de TTV (Tabela 1):

Tabela 1 – Descrição das sequências dos primers e sondas utilizadas no PCR em tempo real para detecção do TTV

<b>Alvo</b>	<b>Id. Primers / Sondas</b>	<b>Sequência 5'- 3'</b>
TTV	TTV_fwd	5'-GTGCCGIAGGTGAGTTTA-3'
	TTV_rev	5'-AGCCCGGCCAGTCC-3'
	TTV_probe	TCAAGGGGCAATTCTGGGCT-3'MGBNFQ

TTV = Torquetenovírus | FAM = 6-Carboxifluoresceína | MGB = Minor groove binder (MGB) and non fluorescent quencher (NFQ)

### **Tratamento estatístico:**

Para o tratamento estatístico foi aplicado um teste de normalidade Kolmogorov-Smirnof, ao nível de confiança de 95%. Mediante dos resultados o teste de escolha para a análise estatística foi o Teste estatístico Kruskal-Wallis, que avaliou por um método não paramétrico nos quatro tempos estudados.

## 5 RESULTADOS

Foram incluídos 19 pacientes (3 do gênero masculino e 16 do gênero feminino), a idade variou de 29 a 64 anos com média de  $46,15 \pm 10,6$ .

Na Tabela 2 é possível observar a progressão dados periodontais ao decorrer do tratamento, nos períodos T0, T1, T2 e T3, indicando melhora dos índices após o tratamento.

**Tabela 2 – Índices Gengvais entre T0 e T3**

	T0	T1	T2	T3
Índice gengival	$0,35 \pm 0,23$	$0,10 \pm 0,15$	$0,16 \pm 0,28$	$0,08 \pm 0,44$
Índice placa	$0,51 \pm 0,30$	$0,03 \pm 0,08$	$0,04 \pm 0,09$	$0,08 \pm 0,44$
PI	$3,50 \pm 1,55$	$3,17 \pm 1,44$	$3,05 \pm 1,15$	$3,06 \pm 1,33$
os	$2,33 \pm 0,77$	$2,20 \pm 0,71$	$2,10 \pm 0,62$	$2,00 \pm 0,60$

Fonte: O Autor

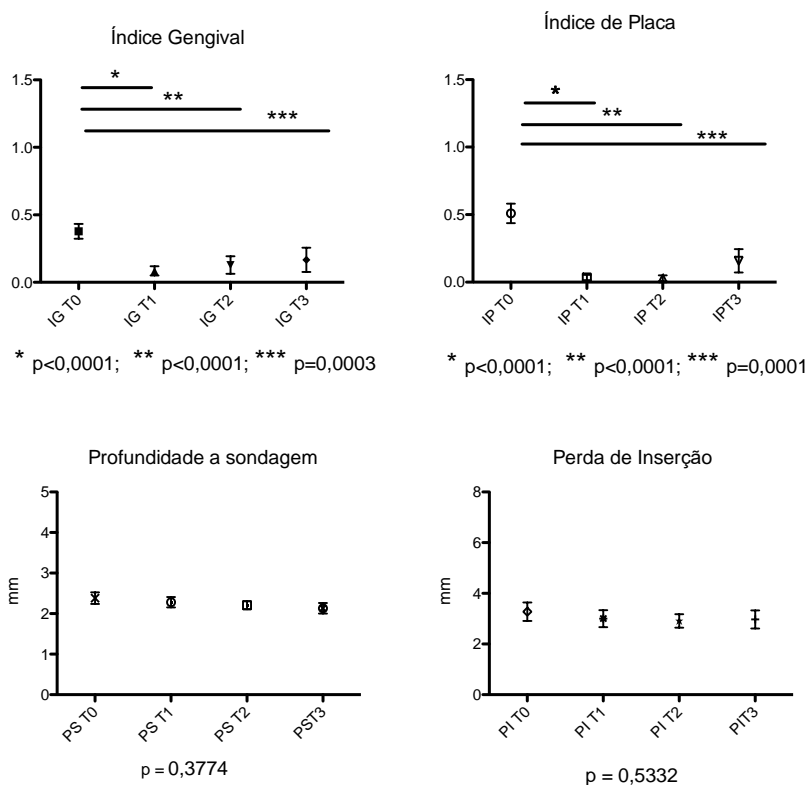


Figura 1 - Gráficos demonstrando os parâmetros periodontais nos tempos estudados (Kruskall-Wallis)

Na Figura 1, podemos analisar que houve uma redução significativa nos índices gengivais analisados, demonstrando a eficácia do tratamento periodontal

Foram analisadas um total de 56 amostras de saliva para a presença de TTV. Foi observado curva de amplificação em todas as amostras para o ensaio de RNase P humana (controle interno) com valor de Ct variando entre 27,7 e 37,2. Indicando boa qualidade do material extraído.

Do total de amostras salivares analisadas dos pacientes em hemodiálise nos diversos tempos de avaliação, observou-se que 35 (62,5%) eram resultados positivas para TTV e 21 eram negativas (37,5%). Houve variação nos resultados durante os períodos avaliados, o que pode ser observado na Tabela 3.

Tabela – - Presença ou ausência de TTV nas amostras de saliva nos períodos estudados. Valores expressos em pelo número de amostras (n) e em porcentagem (%)

	T0	T1	T2	T3
Negativo n(%)	8 (42,1%)	7 (46,6%)	3 (27,3%)	3 (27,3%)
Positivo n(%)	11 (57,9%)	8 (53,4%)	8 (72,7%)	8 (72,7%)
Total n(%)	19 (100%)	15 (100%)	11 (100%)	11 (100%)

Tabela 4 – Detecção de TTV e progressão de carga viral ao longo do tratamento periodontal não cirúrgico nas amostras durante T0, T1, T2 e T3.

Paciente	T0		T1		T2		T3	
	TTV	cp/ml	TTV	cp/ml	TTV	cp/ml	TTV	cp/ml
2	neg				pos	193,3		
3	neg		neg		pos	1,2		
6	pos		pos	24,4	pos	24,9	pos	27,8
7	pos	3,3	pos			30,5	neg	
8	pos	922,7	pos	11,5	pos	110,9	pos	
9	pos	26,1	neg	15,1		19,9	pos	8,6
10	pos	30,9	neg					
11	pos	21,0			pos	37,5	pos	57,4
12	pos	8,7	pos	23,0	pos	26,6	pos	13,2
13	neg				pos	7,2	pos	7,5
14	neg		neg		pos	0,6	pos	
19	neg		neg		neg		pos	1,0
20	pos	183,8	pos	37,2	pos	3,5		
25	pos	1,1	pos	10,1				
26	neg		pos	83,3	neg			
31	pos		pos	5,5			pos	3,9
32	pos	1,8	neg					
Média		133,26		26,26		41,46		17,05

Com base na tabela acima, podemos observar que em momentos distintos, todos os pacientes apresentaram positivos para TTV. A carga viral no decorrer do tratamento, apresenta uma variação 0,6 a 922,7 cp/ml, a partir disso. A média variou em T0: 133,26 cp/ml, T1: 26,26 cp/ml, T2: 41,46 cp/ml e para T3 de 17.05 cp/ml (Tabela4). Os valores médios apresentados nos diferentes tempos do estudo, demonstraram que o tratamento periodontal promove uma diminuição da carga viral.

## 6 DISCUSSÃO

O presente estudo, vem de maneira inédita analisar a presença de TTV em amostras de salivas de pacientes renais crônicos em hemodiálise, submetidos a tratamento periodontal. Verificou-se uma prevalência de 62,5% de amostras de saliva positivas para TTV em pacientes em hemodiálise. O TTV é um vírus identificado recentemente, de modo que suas implicações no corpo humano ainda estão sendo esclarecidas (Kulifaj et al., 2020). Diversos estudos apontaram que a patogenicidade do TTV está relacionada ao estado imunológico (Maggi et al., 2003; Nagaruma et al., 2008; Irshad et al., 2009; Takemoto et al., 2015; Liver et al., 2020; Reshetnyak et al., 2020; Mendes-Correa et al., 2021). No entanto, ainda não está claro se a presença de outras patologias pode favorecer a infecção por TTV (Moghimi et al., 2020).

O resultado do presente estudo está em acordo com a média observada na maioria das pesquisas similares analisadas. Estudos conduzidos no Brasil que avaliaram amostras de sangue apontaram para prevalências de TTV de 36% a 68,8% para pacientes em hemodiálise (Devalle, Niel, 2003; Massaú et al., 2012; Mazzola et al., 2015; Takemoto et al., 2015). Na Índia, uma pesquisa apontou prevalência de 39% de TTV em amostras de sangue de pacientes em hemodiálise (Irshad et al., 2009).

No que se refere à associação entre a carga de TTV e o nível de doença periodontal, a pesquisa realizada por Rotundo et al. (2004) não apontou para resultados conclusivos em amostras salivares, no entanto, Zang et al. (2016) relataram um decréscimo da carga viral em amostras de epitélio gengival e tecido conectivo após os pacientes receberem tratamento periodontal com raspagem sub e supra gengival. Resultado semelhante foi observado por Kaarthikeyan et al. (2010), no qual verificou-se que a presença do TTV no tecido gengival foi relacionada a níveis mais desfavoráveis de profundidade de sondagem e nível de inserção clínica. Esses dados estão em acordo com os resultados observados no presente trabalho, no qual se observou uma diminuição da carga viral de TTV na saliva de indivíduos com o tratamento periodontal.

Em doadores de sangue, os estudos realizados no Brasil indicaram uma prevalência de TTV de 46%, a 73,3% (Devalle, Niel, 2003; Massaú et al., 2012; Mazzola et al., 2015; Takemoto et al., 2015). Um estudo realizado na República Tcheca indicou valores semelhantes, com prevalência média de 52,6% (Sálakóva

et al., 2004). Na Índia, verificou-se prevalência de 27% para doadores de sangue (Irshad et al., 2009). A análise de tais dados em comparação aos resultados do presente trabalho apontou que a prevalência de TTV entre os pacientes que realizam hemodiálise foi semelhante à de doadores de sangue.

Em contraste, prevalências mais altas foram observadas por outras pesquisas. Uma pesquisa feita na Austrália apontou para uma prevalência de 80% de TTV no plasma sanguíneo de pacientes em hemodiálise (Liver et al., 2020). Para a população em geral, verificou-se uma prevalência de 84% no Japão (Nagaruma et al., 2008) e de 96% na Jordânia (Sarairah et al., 2020). Esses dados ressaltam o caráter variável da prevalência de TTV entre as populações, o que pode estar associado a diversos fatores, como uma maior circulação do TTV no ambiente.

No que se refere à prevalência de TTV entre profissionais da área odontológica, os estudos selecionados indicaram resultados heterogêneos. Dois estudos apontaram que a prevalência de TTV em cirurgiões-dentistas não difere da prevalência em indivíduos saudáveis, apontando que não há um risco aumentado de infecção entre esses profissionais (Bezot et al., 2000; Lodi et al., 2002). Contudo, outros estudos apontaram para a presença de TTV em fluídos salivares, o que indica um possível risco de contaminação (Yan et al., 2002; Takata et al., 2003). Na presente pesquisa, os resultados indicaram que houve uma carga viral de TTV na saliva de 57,4 até 1308,7 cópias / ml entre os pacientes positivos. Dessa forma, ressalta-se que os protocolos de segurança devem ser constantemente observados nos atendimentos odontológicos, a fim do profissional evitar a exposição ao risco de contaminação.

Pesquisas estão sendo realizadas com o intuito de avaliar a relação da prevalência de TTV com patologias orais (Hettman et al., 2016). Um estudo avaliou a prevalência de TTV na saliva de pacientes com patologias orais e indicou uma taxa de 3,9% (Yan et al., 2002). Um estudo similar avaliou a prevalência de TTV na saliva de pacientes odontológicos hospitalizados apontando para uma taxa de 31,1% (Takata et al., 2003). Em comparação aos outros estudos analisados, as prevalências observadas nas pesquisas de Yan et al. (2002) e Takata et al. (2003) podem ser consideradas baixas ou normais, o que sugere que não houve relação entre a maior prevalência de TTV e a presença de patologias orais.

No entanto, outros estudos avaliados demonstraram que pacientes com doença periodontal apresentaram níveis mais elevados de TTV do que pacientes saudáveis. Em pesquisa realizada por Yu et al. (2020) verificou-se que as cargas de TTV foram significativamente maiores nos pacientes com periodontite agressiva (de 5.00 a 9.33 log<sup>10</sup> / ml) e periodontite crônica (de 5.22 a 9.39 log<sup>10</sup> / ml) do que em pacientes saudáveis (de 3.79 a 8.21 log<sup>10</sup> / ml). Ao comparar tais resultados com os da presente pesquisa, verificou-se que a carga de TTV observada na saliva de pacientes em diálise foi significativa (57,4 até 1308,7 cópias / ml) em comparação aquela observada nos pacientes saudáveis no estudo de Yu et al. (2020). Desse modo, sugeriu-se uma relação entre a presença de TTV e a patogênese da doença periodontal (Rotundo et al., 2004; Zang et al., 2016; Zang et al., 2017; Yu et al., 2020). Esses dados, corroboram com os dados encontrados no presente estudo, onde podemos verificar a carga viral do TTV observada é maior antes do tratamento periodontal.

Em um estudo realizado por Batista et al. (2020,), foram pareadas 213 amostras de plasma e saliva de pacientes submetidos a transplantes de órgãos sólidos, demonstram uma compatibilidade em comparação aos níveis de TTV-DNA em diferentes de tempos de coleta, sendo realizados antes do transplante (15-20 dias), e após o transplante. Sendo, 58%, 52%, e 60% em saliva. E 60%, 70% e 90% em plasma. Demonstrando que, as amostras de saliva são uma opção viável, rápida e indolor para avaliar a presença do TTV.

Não foram encontrados estudos na literatura que pudessem oferecer dados para comparação com os resultados do presente trabalho. Os estudos encontrados que avaliaram a relação entre a saúde periodontal e a presença de TTV não fizeram um recorte populacional específico com pacientes em hemodiálise, e a maioria não utilizou amostras de saliva, mas sim de tecido gengival. Entretanto esses dados obtidos a partir de amostras de saliva, e foram encontrados resultados semelhantes aos estudos que usaram amostras de sangue ou de tecido. Devemos levar conta a praticidade e facilidade de aquisição das amostras e que as mesmas são obtidas de forma indolor.

Sugere-se que mais estudos sejam realizados com o intuito de verificar a relação entre a patogenicidade do TTV e a doença periodontal em pacientes em hemodiálise, e também na população em geral.

## **7 CONCLUSÃO**

Concluiu-se que os resultados do presente estudo indicaram uma diminuição da carga viral de TTV com o tratamento periodontal. A prevalência do TTV nos pacientes examinados foi de 62,5%. Esse resultado está de acordo com estudos recentes, os quais apontam para uma relação entre a presença de TTV e a patogênese da doença periodontal.

## REFERÊNCIAS

- Bendinelli M, Pistello M, Maggi F, Fornai C, Freer G, Vatteroni ML. Molecular properties, biology, and clinical implications of TT virus, a recently identified widespread infectious agent of humans. *Clin Microbiol Rev.* 2001 Jan;14(1):98-113.
- Bez C, Lodi G, Scully C, Porter SR. Genoprevalence of TT virus among clinical and auxiliary UK dental healthcare workers: a pilot study. *Br Dent J.* 2000 Nov 25;189(10):554-5.
- Burián Z, Szabó H, Székely G, Gyurkovits K, Pankovics P, Farkas T, Reuter G. Detection and follow-up of torque teno midi virus ("small anellovirus"s") in nasopharyngeal aspirates and three other human body fluids in children. *Arch Virol.* 2011 Sep;156(9):1537-41.
- Davis JS, Chu G, Pathinayake P, Jones D, Giffard P, Macera L, Choi P, Bartlett NW. Seroprevalence of Torque Teno Virus in hemodialysis and renal transplant patients in Australia: A cross-sectional study. *Transpl Infect Dis.* 2020 Oct;22(5):e13400.
- Devalle S, Niel C. Distribution of TT virus genomic groups 1-5 in Brazilian blood donors, HBV carriers, and HIV-1-infected patients. *J Med Virol.* 2003 Jan;72(1):166-73.
- Ekundayo TC. Prevalence of emerging torque teno virus (TTV) in drinking water, natural waters and wastewater networks (DWNWWS): A systematic review and meta-analysis of the viral pollution marker of faecal and anthropocentric contaminations. *Sci Total Environ.* 2021 Jun 1;771:145436.
- Fellner MD, Durand K, Rodriguez M, Irazu L, Alonio V, Picconi MA. Duplex realtime PCR method for Epstein-Barr virus and human DNA quantification: its application for post-transplant lymphoproliferative disorders detection. *Braz J InfectDis.* 2014;18(3):271-280.
- Hettmann A, Demcsák A, Bach Á, Decsi G, Dencs Á, Pálinkó D, Rovó L, Nagy K, Minarovits J, Takács M. Detection and Phylogenetic Analysis of Torque Teno Virus in Salivary and Tumor Biopsy Samples from Head and Neck Carcinoma Patients. *Intervirol.* 2016;59(2):123-129.
- Hino S, Miyata H. Torque tenovirus (TTV): current status. *Rev Med Virol.* 2007 Jan-Feb;17(1):45-57.
- Hino S. TTV, a new human virus with single stranded circular DNA genome. *Rev Med Virol.* 2002 May-Jun;12(3):151-8.
- Irshad M, Mandal K, Singh S, Agarwal SK. Torque teno virus infection in hemodialysis patients in North India. *Int Urol Nephrol.* 2010 Dec;42(4):1077-83.

Kaarthikeyan G, Jayakumar OP, Varghese S, Khalefathullah S. Prevalence of TT Virus in patients with chronic periodontitis, patients with aggressive periodontitis and healthy control— - a pilot study. *Braz. J. Oral Sci.* 2010, 9(2).

Kulifaj D, Tilloy V, Scaon E, Guerin E, Essig M, Pichon N, Hantz S, De Bernardi A, Joannes M, Barranger C, Alain S. Viral metagenomics analysis of kidney donors and recipients: Torque teno virus genotyping and prevalence. *J Med Virol.* 2020 Jul 13.

Lodi G, Bez C, Porter SR, Scully C, Epstein JB. Infectious hepatitis C, hepatitis G, and TT virus: review and implications for dentists. *Spec Care Dentist.* 2002 Mar-Apr;22(2):53-8.

Maggi F, Bendinelli M. Immunobiology of the Torque teno viruses and other anelloviruses. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2009;331:65-90.

Maggi F, Pifferi M, Fornai C, Andreoli E, Tempestini E, Vatteroni M, Presciuttini S, Marchi S, Pietrobelli A, Boner A, Pistello M, Bendinelli M. TT virus in the nasal secretions of children with acute respiratory diseases: relations to viremia and disease severity. *J Virol.* 2003 Feb;77(4):2418-25.

Maggi, F., Pistello, M., Vatteroni, M., Presciuttini, S., Marchi, S., Isola, P., Fornai, C., Fagnani, S., Andreoli, E., Antonelli, G., & Bendinelli, M. (2001). Dynamics of persistent TT virus infection, as determined in patients treated with alpha interferon for concomitant hepatitis C virus infection. *Journal of virology*, 75(24), 11999–12004.

Massaú A, Martins C, Nachtigal GC, Araújo AB, Rossetti ML, Niel C, da Silva CM. The high prevalence of Torque teno virus DNA in blood donors and haemodialysis patients in southern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2012 Aug;107(5):684-6

Mazzola JC, Saito PK, Yamakawa RH, Watanabe MA, da Silva Junior WV, Matta AC, Borelli SD. Prevalence of Torque teno virus in healthy donors of Paraná State, southern Brazil. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2015 Sep-Oct;37(5):336-40

Mendes-Correa MC, Tozetto-Mendoza TR, Freire WS, et al. Torquetenovirus in saliva: A potential biomarker for SARS-CoV-2 infection? *PLoS One.* 2021;16(8): e0256357. Published 2021 Aug 24.

Mendes-Correa MC, Tozetto-Mendoza TR, Freire WS, Paiao HGO, Ferraz ABC, Mamana AC, Ferreira NE, de Paula AV, Felix AC, Romano CM, Braz-Silva PH, Leal FE, Grespan RMZ, Sabino EC, Costa SF, Witkin SS. Torquetenovirus in saliva: A potential biomarker for SARS-CoV-2 infection? *PLoS One.* 2021 Aug 24;16(8): e0256357

Moghimi M, Shayestehpour M, Doosti M, Ahmadi Vasmehjani A, SeyedKhorrami SM, Ahmadi AS, Akhondi-Meybodi M. Prevalence of torque teno virus in healthy individuals and those infected with hepatitis C virus living in Yazd, Iran. *Caspian J Intern Med.* 2020;11(2):199-204.

Morley AA. Digital PCR: A brief history. *Biomol Detect Quantif.* 2014 Aug 15;1(1):1-2.

Naganuma M, Tominaga N, Miyamura T, Soda A, Moriuchi M, Moriuchi H. TT virus prevalence, viral loads and genotypic variability in saliva from healthy Japanese children. *Acta Paediatr.* 2008 Dec;97(12):1686-90.

Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *BiochemBiophys Res Commun.* 1997 Dec 8;241(1):92-7.

Pinho-Nascimento CA, Leite JP, Niel C, Diniz-Mendes L. Torque teno virus in fecal samples of patients with gastroenteritis: prevalence, genogroups distribution, and viral load. *J Med Virol.* 2011 Jun;83(6):1107-11.

Reshetnyak VI, Maev IV, Burmistrov AI, Chekmazov IA, Karlovich TI. Torque teno virus in liver diseases: On the way towards unity of view. *World J Gastroenterol.* 2020 Apr 21;26(15):1691-1707.

Rotundo R, Maggi F, Nieri M, Muzzi L, Bendinelli M, Prato GP. TT virus infection of periodontal tissues: a controlled clinical and laboratory pilot study. *J Periodontol.* 2004 Sep;75(9):1216-20.

Saláková M, Nemecek V, König J, Tachezy R. Age-specific prevalence, transmission and phylogeny of TT virus in the Czech Republic. *BMC Infect Dis.* 2004 Dec 3;4(1):56.

Sarairah H, Bdour S, Gharaibeh W. The Molecular Epidemiology and Phylogeny of Torque Teno Virus (TTV) in Jordan. *Viruses.* 2020 Jan 31;12(2):165

Takata Y, Kurokawa H, Fukuda J. Transfusion transmitted virus (TTV) in dental patients. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2003 Apr;32(2):184-7.

Takemoto AY, Okubo P, Saito PK, Yamakawa RH, Watanabe MA, Veríssimo da Silva Junior W, Borelli SD, Bedendo J. Torque teno virus among dialysis and renal-transplant patients. *Braz J Microbiol.* 2015 Mar 1;46(1):307-11.

Webb B, Rakibuzzaman A, Ramamoorthy S. Torque teno viruses in health and disease. *Virus Res.* 2020 Aug; 285:198013.

Yan J, Chen LL, Lou YL, Zhong XZ. Investigation of HGV and TTV infection in sera and saliva from non-hepatitis patients with oral diseases. *World J Gastroenterol.* 2002 Oct;8(5):857-62.

Yu T, Pan S, Zhang Y, Pei J, Liu J, Xie Y, Feng X. Occurrence and quantification of Anelloviruses and Herpesviruses in gingival tissue in Chinese Shanghai sub-population. *BMC Oral Health.* 2020 Jul 9;20(1):196.

Zhang Y, Li F, Chen X, Shan TL, Deng XT, Delwart E, Feng XP. Detection of a new species of torque teno mini virus from the gingival epithelium of patients with periodontitis. *Virus Genes.* 2017 Dec;53(6):823-830.

Zhang Y, Li F, Shan TL, Deng X, Delwart E, Feng XP. A novel species of torque teno mini virus (TTMV) in gingival tissue from chronic periodontitis patients. *Sci Rep.* 2016 May 25; 6:26739.

## ANEXO 1

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

**PROTOCOLO:** Alterações nos parâmetros clínicos médicos após o tratamento de periodontite nos pacientes em hemodiálise.

---

Estes esclarecimentos estão sendo apresentados para solicitar sua participação livre e voluntária no projeto Alterações nos parâmetros clínicos médicos após o tratamento de periodontite nos pacientes em hemodiálise, do Programa de Pós Graduação do curso de Mestrado em Implantodontia da Universidade de Santo Amaro - UNISA, que será realizado pela pesquisadora mestrandia Larissa Avance Pavesi como Trabalho de Conclusão de Curso sob orientação da Profa. Dra. Débora Pallos.

Estudos têm mostrado uma relação entre a doença periodontal (doença na gengiva) e a doença renal crônica. A inflamação (gengiva avermelhada) pode piorar o problema renal. É muito importante ter uma saúde na boca, nos pacientes em hemodiálise, principalmente quando você precisar de um transplante renal. O indivíduo não pode ter nenhum problema (foco de infecção) na hora do transplante.

O objetivo deste estudo será de avaliar sua gengiva, diagnosticar. Depois faremos um tratamento para ver se os dados médicos melhoram. Exame clínico da gengiva para o diagnóstico. Depois vamos coletar uma amostra de saliva, e de fluido gengival (líquido que sai da gengiva) com um papel de filtro, sem nenhuma dor. Após isso vamos fazer o tratamento periodontal (da gengiva). Vamos pegar do seu prontuário os dados médicos para ver se melhoraram. Iremos acompanhar o tratamento por um mês, depois de 3 meses, 6 meses e um ano. Nestes só vamos ver se está tudo bem e coletar a saliva, fluido gengival e os dados do prontuário médico.

Existem riscos mínimos durante o tratamento. Pode haver algum desconforto após o procedimento, que será resolvido por meio de analgésicos. Muitos pacientes não sabem que tem problema de gengiva. Então o maior benefício será de ter a saúde bucal e uma melhora na saúde sistêmica. É garantido o acesso, em qualquer etapa do estudo, aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas ou informações sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

O pesquisador responsável é Prof. Dr. Débora Pallos, que pode ser encontrado no endereço Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340, Jardim das Imbuías, SP

– Tel.: 2141-8687. Campus II. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-UNISA) – Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340, Jardim das Imbuías, SP – Tel.: 2141-868

É garantida sua liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de qualquer benefício que você tenha obtido junto à Instituição, antes, durante ou após o período deste estudo.

As informações obtidas pelos pesquisadores serão analisadas em conjunto com as de outros participantes, não sendo divulgada a identificação de nenhum deles.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Em caso de dano pessoal, diretamente relacionado aos procedimentos deste estudo (nexo causal comprovado), a qualquer tempo, fica assegurado ao participante o respeito a seus direitos legais, bem como procurar obter indenizações por danos eventuais.

Uma via deste Termo de Consentimento ficará em seu poder.

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Prof. Dr. Débora Pallos

Mestranda Larissa Avance Pavesi

Se você concordar em participar desta pesquisa assine no espaço determinado abaixo e coloque seu nome e o no de seu documento de identificação.

\_\_\_\_\_

Nome:.....

Doc. Identificação:.....

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste participante para a participação neste estudo, conforme preconiza a Resolução CNS 466, de 12 de dezembro de 2012, IV.3 a 6.

-----  
Assinatura do pesquisador responsável pelo estudo

Data / /

-----  
Assinatura dos demais pesquisadores

Data / /

## ANEXO 2

UNIVERSIDADE DE SANTO  
AMARO - UNISA

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DA EMENDA**

**Título da Pesquisa:** Alterações nos parâmetros clínicos médicos após o tratamento da periodontite nos pacientes em hemodiálise.

**Pesquisador:** Debora Pallos

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 45478615.1.0000.0081

**Instituição Proponente:** Universidade de Santo Amaro - UNISA

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 2.108.562

**Apresentação do Projeto:**

O propósito deste projeto será avaliar se existem alterações nos parâmetros clínicos médicos nos pacientes em hemodiálise, após o tratamento periodontal. Participarão do estudo de 50 a 60 indivíduos com que serão divididos em 2 grupos: grupo em hemodiálise e grupo controle (sem doença renal crônica). Nos pacientes serão avaliados os índices clínicos da doença periodontal, parâmetro médicos e serão colhidas amostras do fluido gengival crevicular com o auxílio de papel filtro; e amostras de saliva não estimulada por 5 minutos. Os pacientes serão tratados periodontalmente e depois de 1 mês, 3, 6 e 12 meses parâmetros medicas e periodontais serão avaliados.

**Hipótese:** A hipótese do presente estudo é de verificar uma melhora nos paramentos médicos após o tratamento periodontal em paciente em hemodiálise.

**Objetivo da Pesquisa:**

- O objetivo do trabalho será avaliar se existem alterações nos parâmetros clínicos médicos nos pacientes em hemodiálise, após o tratamento periodontal.

**Endereço:** Rua Profº Enéas de Siqueira Neto, 340

**Bairro:** Jardim das Imbuías

**CEP:** 02.450-000

**UF:** SP

**Município:** SAO PAULO

**Telefone:** (11)2141-8687

**E-mail:** pesquisaunisa@unisa.br

## ANEXO 2

UNIVERSIDADE DE SANTO  
AMARO - UNISA



Continuação do Parecer: 2.108.562

### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

#### **Riscos:**

O presente estudo apresenta risco mínimo aos pacientes. Ele pode ter um desconforto após o tratamento periodontal que no caso , se necessário, será administrado analgésico.

#### **Benefícios:**

Os benefícios podem ser muitos. Uma vez que os pacientes em hemodiálise não podem apresentar focos de infecção, principalmente se estiverem na fila de transplante renal, o tratamento periodontal trará uma melhora no quadro clínico. Os pacientes também irão apresentar uma melhora na saúde bucal, melhorando assim sua condição clínica. E como hipótese primária , deve melhorar também os parâmetros médicos.

### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

O trabalho será desenvolvido por uma aluna do mestrado em Implantodontia da UNISA. Serão avaliados 60 pacientes - 30 com doença periodontal em tratamento de hemodiálise e 30 com doença periodontal sem tratamento de hemodiálise. Os dados referentes aos parâmetros médicos serão coletados nos prontuários dos pacientes (uréia, creatinina, sódio, potássio, cálcio, fósforo, colesterol total e frações, TG, glicose, ácido úrico, insulina, fibrinogênio, PCR e albumina). Para início de tratamento periodontal os pacientes receberão antibióticoterapia profilática de acordo com indicação médica. A condição gengival dos indivíduos será avaliada pelo Índice Gengival e a higiene bucal pelo Índice de Placa. O paciente receberá tratamento periodontal após a avaliação. Acredita-se que após tratamento periodontal haverá melhora do quadro clínico do paciente.

### **Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

- A descrição metodológica encontra-se adequada.
- TCLE adequado (pendência realizada, indicando o local onde será realizado a pesquisa com os prontuários)
- A folha de Rosto está devidamente assinada pelo responsável da Instituição.
- Termo de Compromisso adequado.
- Carta de coparticipante assinada pelo responsável da clínica onde será realizada a pesquisa.
- Cronograma adequado.

### **Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Aprovado:

**Endereço:** Rua Profº Enéas de Siqueira Neto, 340  
**Bairro:** Jardim das Imbuías      **CEP:** 02.450-000  
**UF:** SP      **Município:** SAO PAULO  
**Telefone:** (11)2141-8687      **E-mail:** pesquisaunisa@unisa.br