

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

**ÉRICA DEL PELOSO RIBEIRO**

**METRONIDAZOL E AMOXICILINA ASSOCIADOS AO  
DEBRIDAMENTO PERIODONTAL NO TRATAMENTO DA  
PERIODONTITE CRÔNICA AVANÇADA**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do Título de Doutora em Clínica Odontológica, Área de Concentração Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati

Co-orientador: Prof. Dr. Sérgio de Toledo

PIRACICABA

2007

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

Bibliotecário: Marilene Girello – CRB-8<sup>a</sup>. / 6159

R354m	<p>Ribeiro, Érica Del Peloso. Metronidazol e amoxicilina associados ao debridamento periodontal no tratamento da periodontite crônica avançada. / Érica Del Peloso Ribeiro. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2007.</p> <p style="text-align: center;">Orientadores: Márcio Zaffalon Casati, Sérgio de Toledo. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.</p> <p style="text-align: center;">1. Periodontite. 2. Raspagem dentária. 3. Agentes antibacterianos. I. Casati, Márcio Zaffalon. II. Toledo, Sérgio de. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.</p> <p style="text-align: right;">(mg/fop)</p>
-------	--

Título em Inglês: Metronidazole and amoxicillin associated with periodontal debridement in the treatment of severe chronic periodontitis

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Periodontitis. 2. Dental scaling. 3. Anti-bacterial agents

Área de Concentração: Periodontia

Titulação: Doutor em Clínica Odontológica

Banca Examinadora: Márcio Zaffalon Casati, Magda Feres, Sérgio Luis Scombatti de Souza, Reginaldo Bruno Gonçalves, Francisco Humberto Nociti Júnior

Data da Defesa: 12-12-2007

Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica

## FOLHA DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

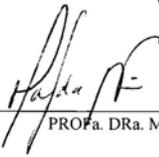


A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 12 de Dezembro de 2007, considerou a candidata ÉRICA DEL PELOSO RIBEIRO aprovada.



---

PROF. DR. MÁRCIO ZAFFALON CASATI



---

PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. MAGDA FERES



---

PROF. DR. SÉRGIO LUIS SCOMBATTI DE SOUZA



---

PROF. DR. REGINALDO BRUNO GONCALVES



---

PROF. DR. FRANCISCO HUMBERTO NOCITI JÚNIOR

## DEDICATÓRIA

Dedico esta tese de doutorado:

À minha mãe pelo amor incondicional,  
incentivo, apoio e compreensão em todos  
os momentos

À todos que acreditaram nos meus  
sonhos e torceram por mim

À Deus, pela força e presença constante

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. José Tadeu Jorge, Magnífico Reitor da Universidade Estadual de Campinas.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, na pessoa do seu diretor Prof. Dr. Francisco Haiter Neto.

Ao Prof. Dr. Mário Alexandre Coelho Sinhoreti, coordenador dos cursos de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP e à Profa. Dra. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia coordenadora do programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica.

Aos professores da disciplina de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP: Prof. Dr. Sérgio de Toledo, Prof. Dr. Antônio Wilson Sallum, Prof. Dr. Enilson Antônio Sallum, Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Júnior, Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati e Prof. Dr. Getúlio da Rocha Nogueira Filho.

Ao Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Júnior pelas discussões científicas e ajuda na parte microbiológica desta tese

Ao Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati, meu orientador, por ter acreditado no meu potencial, oferecendo-me a oportunidade de realizar um sonho e por ter me transmitido, ao longo dessa jornada, não apenas conhecimento científico, mas também confiança e apoio.

Aos meus professores de Periodontia da graduação, na Faculdade de Odontologia de Bauru – USP, Prof. Dr. Sebastião Luiz Aguiar Gregghi e Prof. Dr. Euloir Passanezi por terem despertado em mim o gosto pela Periodontia.

Ao Prof. Dr. Reginaldo Bruno Gonçalves por ter aberto as portas da Microbiologia de maneira simpática e acessível. Obrigada também pela orientação e disponibilidade em ajudar.

À todos os professores e funcionários da Disciplina de Microbiologia, por permitir a utilização dos equipamentos necessários para realização das atividades laboratoriais e pela ajuda no desenvolvimento destas atividades.

Às alunas da disciplina de Microbiologia Iriana Carla Junqueira Zanin e Marlise Klein por terem me ajudado a dar os primeiros passos dentro do laboratório. E além de terem me ajudado a tornar este trabalho possível, o tornaram também muito mais agradável. Obrigada por tudo que vocês me ensinaram.

À todos os alunos da disciplina de Microbiologia pela receptividade, me fazendo sentir à vontade.

À Profa. Dra. Gláucia Maria Bovi Ambrosano pelo auxílio na realização da parte estatística deste trabalho e pela eterna disponibilidade em ajudar.

À Eliete Aparecida Ferreira Lima, secretária da disciplina, pela sua paciência, amizade e eficiência.

À Cida Riva e Rosângela, secretárias da clínica de especialização, pela enorme boa vontade e colaboração no manejo e atendimento dos pacientes.

Ao Sandro Bittencourt por ter assumido com seriedade a realização de parte deste trabalho e por ajudado também na discussão de pontos importantes do trabalho. Obrigada também pela persistência, por sempre acreditar em mim e

ter contribuído, com todo seu carinho e provocação, para minha evolução pessoal e para tornar essa jornada mais doce.

Aos antigos colegas de pós-graduação Ângela Guimarães Martins, Antonieta Côrtes, Bruno Gurgel, Fernando Pinto, João Batista, Juliana Saldanha, Luciana Machion, Poliana Duarte, Renato Vasconcelos e Suzana Pimentel por terem dado exemplo de trabalho e companheirismo.

Aos meus amigos de doutorado Bruno Benatti, Cléverson de Oliveira e Silva, Daiane Peruzzo, Gabriela Alessandra da Cruz, Marcelo Diniz Carvalho, Roberta Tunes, Sandro Bittencourt e Saulo Cabral dos Santos pelo carinho e oportunidade de crescimento científico pelo trabalho em conjunto.

Aos meus amigos do mestrado Beatriz Bezerra, Kamile Pontarolli, Daniela Feitosa, Fabrícia Suaid, Fernanda Ribeiro, Liana Linhares, Mauro Pedrine, Renato Casarin, Wagner Leal e Thaís Gonçalves por terem tornado essa caminhada muito mais agradável.

Ao Renato Casarin pela parceria, confiança profissional e amizade conquistada com a sinceridade e alegria de suas atitudes.

À aluna de pós-graduação da disciplina de Periodontia Karina Gonzáles Silvério Ruiz pelas conversas alegres e importante ajuda na minha carreira profissional.

Aos amigos Andrea Cavalcanti e Marcelo T. Oliveira pelos cuidados de uma amizade sincera e por terem tornado os domingos em Piracicaba mais alegres.

Aos novos amigos feitos em Piracicaba Alynne Vieira, Luciana Almeida, e Denise Carleto Andia.

Aos alunos de iniciação científica Maria Fernanda Peres e Hugo Vale pela dedicação na realização dos trabalhos propostos e pela confiança depositada em mim.

À minha eterna grande amiga Ilse Dorninger, pela certeza de contar com o seu apoio.

Aos meus pacientes pela confiança e colaboração na realização deste estudo.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro fornecido para a realização deste trabalho na forma de auxílio.

## EPÍGRAFE

“E se um dia ou uma noite um demônio se esgueirasse em tua mais solitária solidão e te dissesse: Esta vida, assim como tu vives agora e como a viveste, terás de vivê-la ainda uma vez e ainda inúmeras vezes: e não haverá nela nada de novo, cada dor e cada prazer e cada pensamento e suspiro e tudo o que há de indivisivelmente pequeno e de grande em tua vida há de te retornar, e tudo na mesma ordem e sequência - e do mesmo modo esta aranha e este luar entre as árvores, e do mesmo modo este instante e eu próprio. A eterna ampulheta da existência será sempre virada outra vez - e tu com ela, poeirinha da poeira!. Não te lançarias ao chão e rangerias os dentes e amaldiçoarias o demônio que te falasses assim? Ou viveste alguma vez um instante descomunal, em que lhe responderias: "Tu és um deus e nunca ouvi nada mais divino!" Se esse pensamento adquirisse poder sobre ti, assim como tu és, ele te transformaria e talvez te triturasse: a pergunta diante de tudo e de cada coisa: "Quero isto ainda uma vez e inúmeras vezes?" pesaria como o mais pesado dos pesos sobre o teu agir! Ou, então, como terias de ficar de bem contigo e mesmo com a vida, para não desejar nada mais do que essa última, eterna confirmação e chancela?"

Friedrich Nietzsche

## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do debridamento periodontal associado ou não à administração sistêmica de metronidazol e amoxicilina no tratamento da periodontite crônica avançada. Foram selecionados 50 pacientes com pelo menos 8 dentes com sangramento à sondagem (SS) e profundidade de sondagem (PS)  $\geq 5$  mm, sendo 2 dentes com PS  $\geq 6$  mm e mais 2 com PS  $\geq 7$  mm. Os pacientes foram divididos, aleatoriamente, em 4 grupos: raspagem e alisamento radicular + placebo (RAR); RAR + metronidazol e amoxicilina (RAR/AB); debridamento periodontal + placebo (DB) e DB + metronidazol e amoxicilina (DB/AB). Os seguintes parâmetros clínicos foram avaliados: índice de placa, índice gengival, SS, posição da margem gengival, PS e nível clínico de inserção relativo (NICr). A avaliação microbiológica foi feita através da reação da polimerase em cadeia (PCR) em tempo real para quantificação de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. O teste imunoenzimático (ELISA) permitiu a detecção dos níveis de PGE<sub>2</sub>, IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  e IL-10 no fluido gengival. Os parâmetros descritos foram avaliados antes do tratamento, 1, 3 e 6 meses após. Não foi observada diferença estatística entre os grupos quanto ao SS, PMG e NICr ( $p > 0,05$ ). Em relação à redução na PS, esta foi, no 6º mês, inferior no grupo DB quando comparada aos grupos RAR/AB e DB/AB ( $p < 0,05$ ). Não foi detectada diferença estatística entre os grupos na prevalência e quantidade de *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *A. actinomycetemcomitans* tanto em bolsas inicialmente moderadas e profundas. Também não foi observada diferença entre os tratamentos quanto aos níveis de PGE<sub>2</sub>, IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-10 e na proporção IL-1 $\beta$ /IL-10. Pode-se concluir, portanto, que o debridamento periodontal é uma abordagem justificável para tratamento da periodontite crônica avançada e que a único benefício da utilização adjunta de metronidazol e amoxicilina parece ser a redução na necessidade de retratamento.

Palavras-chaves: periodontite; raspagem dentária; agentes antibacterianos

## ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate the effect of periodontal debridement, with or without the systemic administration of metronidazole and amoxicillin, in the treatment of severe chronic periodontitis. Fifty patients presenting at least 8 teeth with probing pocket depth (PPD)  $\geq$  5 mm and bleeding on probing (BOP), out of which at least 2 teeth had PPD  $\geq$  7 mm and a further 2 teeth with PPD  $\geq$  6 mm, were selected. Patients were randomly divided into four groups: scaling and root planning + placebo (SRP); SRP + metronidazole and amoxicillin (SRP/AB); periodontal debridement + placebo (DB) and DB + metronidazole and amoxicillin (DB/AB). The following clinical outcomes were evaluated: visible plaque index, gingival index, BOP, position of the gingival margin (PGM), relative attachment level (RAL) and PPD. The microbiological analysis was done by real-time polymerase chain reaction (PCR) for quantification of *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. The enzyme-linked immunosorbent assay technique (ELISA) permitted the detection of PGE<sub>2</sub>, IL-1 $\beta$ , IL-10 and IFN- $\gamma$  levels in gingival crevicular fluid. All parameters were evaluated at baseline and 1, 3 and 6 months after periodontal treatment. No difference was observed between groups regarding BOP, PGM and RAL ( $p > 0.05$ ). Six months after treatment, the DB group showed less PPD reduction than SRP/AB and DB/AB groups ( $p < 0.05$ ). The results of real-time PCR failed to demonstrate significant differences between groups in the prevalence and quantity of *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* and *T. forsythia*. Also, no difference was observed between groups in the levels of PGE<sub>2</sub>, IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-10 and on the proportion of IL-1 $\beta$ /IL-10. It can be concluded that periodontal debridement is a justified approach for the treatment of severe chronic periodontitis and that only benefit of the adjunct use of metronidazole and amoxicillin was the reduction in the need of retreatment.

Key-words: periodontitis; dental scaling, anti-bacterial agents

## **SUMÁRIO**

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	01
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b>	04
<b>2.1. Debridamento periodontal</b>	09
<b>2.2. Antibioticoterapia sistêmica</b>	18
2.2.1. Metronidazol + Amoxicilina	20
<b>3. PROPOSIÇÃO</b>	27
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b>	28
<b>4.1. Seleção da amostra</b>	28
<b>4.2. Delineamento do estudo</b>	29
<b>4.3. Plano de pesquisa</b>	30
4.3.1. Exame e terapia inicial	30
4.3.3. Tratamento	30
4.3.4. Avaliação clínica	32
4.3.5. Avaliação microbiológica	33
4.3.6. Avaliação imunológica	37
<b>4.4. Análise dos resultados</b>	41
<b>5. RESULTADOS</b>	42
<b>5.1. Índice de placa (IP) e Índice Gengival (SS)</b>	43
<b>5.2. Parâmetros clínicos – SS, PMG, PS e NICr</b>	44
<b>5.3. Retratamento e eficiência do tratamento</b>	48
<b>5.4. Desconforto do paciente</b>	49
<b>5.5. Efeitos adversos da antibioticoterapia e adesão ao tratamento</b>	50
<b>5.6. Parâmetros microbiológicos</b>	51
<b>5.7. Parâmetros imunológicos</b>	54
<b>6. DISCUSSÃO</b>	60
<b>7. CONCLUSÃO</b>	72
<b>REFERÊNCIAS</b>	73
<b>ANEXO 1 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa</b>	88

## 1. INTRODUÇÃO

A etiologia da doença periodontal envolve dois grupos de fatores: o hospedeiro susceptível e a presença de bactérias patogênicas. O processo de doença se desenvolve quando há uma quebra do equilíbrio existente entre resposta do hospedeiro e desafio microbiano (Quirynen *et al.*, 2001). Neste contexto, o biofilme dental tem papel fundamental e é considerado o fator etiológico primário da doença periodontal (Page *et al.*, 1997).

Baseada neste conceito, a terapia periodontal visa a biocompatibilização da superfície radicular através da remoção do biofilme dental e do cálculo, possibilitando o restabelecimento da saúde periodontal por meio da adesão epitelial sobre a superfície radicular (Waerhaug, 1978). A raspagem e o alisamento radicular são mecanismos eficazes no tratamento da doença periodontal, entretanto, em alguns casos parece não ser capaz de devolver ou manter a saúde periodontal. Isso pode ser explicado pela persistência ou recolonização de microorganismos (Drisko, 1998).

A preocupação com a recolonização da bolsa periodontal deu origem ao conceito de tratamento da boca toda feito em estágio único (Quirynen *et al.*, 1995). Essa proposta baseia-se na existência de vários nichos microbiológicos na cavidade bucal como epitélio bucal, dorso da língua, assoalho de boca, palato e tonsilas. A maioria dos periodontopatógenos é capaz de colonizar diversos destes nichos (Van Der Velden *et al.*, 1986; Van Winkelhoff *et al.*, 1988; Asikainen *et al.*, 1991).

Os periodontopatógenos são também capazes de transitar pelos diversos nichos (Christersson *et al.*, 1985; Quirynen *et al.* 1996). Esse conhecimento tem significado clínico importante, pois a recolonização do ambiente subgingival após a raspagem e alisamento radicular pode ser feita por periodontopatógenos existentes em outros nichos intra-bucais. No esquema convencional de raspagem e alisamento radicular por sextantes ou quadrantes, bolsas não tratadas podem servir como fonte de periodontopatógenos para recolonização de áreas já tratadas (Quirynen *et al.*, 2001).

A proposta do tratamento periodontal da boca toda em estágio único inclui: instrumentação mecânica em 2 sessões dentro de 24 horas e aplicação de clorexidina em todos os nichos intrabuciais (Quirynen *et al.*, 2001). Esta abordagem reduz de maneira eficiente, em curto período de tempo, a quantidade de bactérias subgingivais e em outros nichos intrabuciais que poderiam recolonizar áreas já tratadas (Quirynen *et al.*, 1995; Quirynen *et al.*, 1999). A economia de tempo desta nova abordagem está relacionada a um menor número de visitas ao profissional.

Redução efetiva no tempo de tratamento foi proposta por Wennström *et al.* (2001) e Koshy *et al.* (2005) já como uma nova abordagem da terapia periodontal não-cirúrgica denominada debridamento da superfície radicular. Essa abordagem baseia-se nas evidências de que a completa remoção do cálculo dental e do cimento “contaminado” pode não ser necessária para a cura periodontal (Nyman *et al.*, 1988; Fujikawa *et al.* 1988). Smart *et al.* (1990) definiram essa nova abordagem como uma instrumentação radicular leve, mais conservadora, feita com instrumentos sônicos ou ultra-sônicos cujo objetivo é tornar a superfície radicular biocompatível.

Na tentativa de obter resultados mais previsíveis ao final da terapia periodontal, além do tratamento em sessão única, os antimicrobianos também têm sido utilizados. Essa é uma alternativa válida, pois a doença periodontal é causada por um número limitado de espécies bacterianas e a associação com antimicrobianos cria uma abordagem de tratamento mais específica.

Os antimicrobianos podem ser utilizados tanto sistemicamente quanto localmente, coadjuvando o tratamento mecânico. Essa associação tenta resolver o problema das áreas inacessíveis à instrumentação mecânica. E especificamente os antimicrobianos sistêmicos podem prevenir a re-infecção de sítios tratados, por meio da supressão de patógenos que tenham colonizado a língua, tonsilas e outros sítios bucais (Rams & Slots, 1996).

Diversos antibióticos têm sido utilizados sistemicamente no tratamento da doença periodontal. Dentre eles, o metronidazol tem despertado interesse em

função do seu específico espectro de ação contra bactérias anaeróbias. É um quimioterápico bactericida por interferir com a síntese do DNA bacteriano, causando morte celular.

A combinação de metronidazol com amoxicilina também tem sido bastante investigada. A amoxicilina é uma penicilina semi-sintética que inibe a síntese da parede celular bacteriana, provocando perda de sua integridade e levando à morte celular. Há evidência de que esta associação utilizada como adjunto da terapia mecânica promove maior redução da profundidade de sondagem e ganho de inserção do que a terapia mecânica isoladamente (Berglundh *et al.*, 1998; Winkel *et al.*, 2001). A associação também parece produzir melhores resultados clínicos e microbiológicos do que a utilização separada de cada antibiótico como adjunto à instrumentação periodontal (Rooney *et al.*, 2002).

Diante do que foi relatado, tanto o tratamento em sessão única como a antibioticoterapia sistêmica parecem melhorar os resultados do tratamento periodontal não-cirúrgico, principalmente em casos severos, nos quais uma perfeita descontaminação periodontal pode representar um grande desafio. Sendo assim, o presente estudo justifica-se pela ausência de trabalhos que utilizem estas duas abordagens associadas no tratamento da periodontite crônica avançada.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

A instrumentação periodontal não-cirúrgica realizada com instrumentos manuais ou ultra-sônicos é uma das terapias mais comuns ao periodontista e apresenta sucesso documentado (Badersten *et al.*, 1984). Existe, entretanto, um preço a se pagar por esse sucesso que envolve gasto de grande quantidade de tempo, alto nível de habilidade do operador e certo desconforto para o paciente (Kinane, 2005). Apesar disso e dos grandes avanços no conhecimento da etiopatogenia da doença periodontal, apenas nas últimas décadas novas abordagens da terapia periodontal não-cirúrgica foram propostas. Dentre essas novas abordagens está a desinfecção de boca toda em estágio único com ou sem clorexidina e o debridamento da superfície radicular.

Alguns estudos mostraram a superioridade clínica e microbiológica da desinfecção de boca toda quando comparada à terapia convencional (Bollen *et al.*, 1998; Mongardini *et al.*, 1999; Quirynen *et al.*, 1999). A plausibilidade biológica destes achados está na prevenção da recolonização de áreas tratadas e no desencadeamento de uma reação imunológica, com maior produção de anticorpos.

Na terapia periodontal convencional a instrumentação mecânica é realizada por sextantes ou quadrantes em intervalos de 1 a 2 semanas, de maneira que o tratamento ativo é concluído dentro de 4 a 6 semanas. A desinfecção de boca toda em estágio único completa a raspagem e alisamento radicular em duas sessões dentro de 24 horas. Essa proposta baseia-se na existência de vários nichos microbiológicos na cavidade bucal: epitélio bucal, dorso da língua, superfície dentária supragengival, bolsa periodontal, assoalho de boca, vestibulo, palato e tonsilas. A maioria dos periodontopatógenos é capaz de colonizar e transitar pelos diversos nichos (Quirynen *et al.*, 2001).

Christersson *et al.* (1985) demonstraram a translocação do *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* na periodontite juvenil localizada através de sondas periodontais. Quirynen *et al.* (1996) observaram a translocação de bactérias de dentes para implantes. Esse conhecimento sugere que no esquema

convencional de instrumentação por sextantes/ quadrantes, bolsas não tratadas ou outros nichos microbiológicos podem servir como fonte de periodontopatógenos para recolonização de áreas já tratadas.

A ocorrência de translocação bacteriana tem significado clínico importante, pois interfere com o resultado da terapia regenerativa e com a ação de antimicrobianos aplicados localmente. Nowzari *et al.* (1996) avaliaram a regeneração tecidual guiada em pacientes sem profundidade de sondagem  $\geq 5$  mm em outras regiões além da área a ser regenerada (grupo saudável) e em pacientes com diversas bolsas periodontais (grupo doente). O grupo saudável apresentou menor contaminação da membrana e maior ganho de inserção na área regenerada do que o grupo com bolsas periodontais em outras regiões. Inclusive, de acordo com os autores, a cada 10 sítios com sangramento à sondagem o ganho no nível clínico de inserção era 0,6 mm menor na área regenerada.

Mombelli *et al.* (1997) compararam os efeitos clínicos e microbiológicos da aplicação de fibras de tetraciclina apenas nas bolsas profundas ou em todas as bolsas com profundidade de sondagem  $> 3$  mm. Todos os dentes, em ambos os grupos receberam raspagem e alisamento radicular. Após 6 meses, melhores resultados foram observados no grupo que recebeu fibras em todas as bolsas.

A proposta de desinfecção da boca toda em estágio único inclui: irrigação subgingival (3x em 10 minutos) com clorexidina 1%, escovação da língua por 1 minuto com gel de clorexidina 1%, utilização do spray de clorexidina 0,2%, bochecho por 2 minutos com solução de clorexidina 0,1% e uso do enxaguatório de clorexidina 0,2% por 2 meses (Quirynen *et al.*, 1999).

Quirynen *et al.* (1995) apresentaram, em um estudo piloto (N=10), o conceito de desinfecção de boca toda e compararam essa nova abordagem à terapia convencional (por quadrantes). Após 2 meses, apenas as bolsas profundas (PS  $\geq 7$  mm) apresentaram maior redução da profundidade de sondagem quando tratadas com o novo protocolo (3,3 x 2,5 mm). Não foi observada diferença entre os grupos quanto ao número de espiroquetas e bactérias móveis, mas o método

de cultura demonstrou que a desinfecção de boca toda resultou na presença significativamente maior de bactérias benéficas.

Os próximos trabalhos reportaram os resultados longitudinais (8 meses) do estudo piloto original (Vandekerckhove *et al.*, 1996; Bollen *et al.*, 1996). A maior redução da profundidade de sondagem (4,0 x 3,0 mm) e o maior ganho clínico de inserção (3,7 x 1,9 mm) conseguidos com a nova abordagem em bolsas profundas foram confirmados. Resultados microbiológicos mais favoráveis continuaram a ser observados com a desinfecção de boca toda. Efeitos adversos dessa nova abordagem foram, pela primeira vez, relatados. Dentre os 5 pacientes tratados pelo novo protocolo, 3 apresentaram febre no dia seguinte e 2 desenvolveram herpes labial.

Bollen *et al.* (1998) apresentaram mais um estudo piloto, no qual diferenças favorecendo a desinfecção de boca toda foram também encontradas em bolsas inicialmente moderadas (4 a 6 mm). Estudos clínicos controlados só foram publicados em 1999. Mongardini *et al.* (1999) relataram os efeitos clínicos e Quirynen *et al.* (1999) os resultados microbiológicos da nova abordagem em 40 pacientes após 6 meses de acompanhamento. Os benefícios da nova abordagem foram reafirmados. A elevação da temperatura corpórea foi um efeito adverso da desinfecção de boca toda também observado nesses estudos.

Quirynen *et al.* (2000) na tentativa de descobrir o papel da clorexidina no protocolo proposto, acompanharam 20 pacientes tratados sem clorexidina por um período de 8 meses. Os grupos tratados com desinfecção de boca toda em estágio único, com e sem desinfecção química, não apresentaram diferenças estatísticas, mas ambos apresentaram maior redução na profundidade de sondagem quando comparados ao grupo de instrumentação por quadrante. Esse resultado sugere que as bolsas periodontais têm papel predominante na recolonização de áreas tratadas quando comparadas aos outros nichos intra-buciais. Koshy *et al.* (2001) também não encontraram benefícios clínicos na utilização da clorexidina no protocolo de desinfecção de boca toda em estágio único.

Em 2001, De Soete *et al.* reportaram os resultados da análise microbiológica por DNA-DNA hibridização feita nos pacientes dos estudos clínicos controlados (Mongardini *et al.* 1999; Quirynen *et al.* 1999). A desinfecção de boca toda produziu maior redução na frequência de detecção de periodontopatógenos quando comparada à terapia não-cirúrgica convencional.

Uma reação imunológica aguda também pode explicar o sucesso da desinfecção de boca toda. A segunda instrumentação dentro de 24 horas promoveria uma bacteremia transitória que resultaria em uma reação de hipersensibilidade com produção de grande quantidade de anticorpos. Essa reação também poderia explicar o aumento da temperatura corpórea observado após a desinfecção de boca toda (Quirynen *et al.*, 2000). Entretanto, Apatzidou & Kinane (2004) não observaram diferenças nos níveis de anticorpos após a desinfecção de boca toda sem clorexidina e a terapia convencional.

Esses autores também não observaram, após 6 meses, diferenças entre a instrumentação de boca toda em estágio único e a raspagem e alisamento radicular feita por quadrantes. Neste estudo a nova abordagem foi empregada sem o uso adjunto da clorexidina, mas como no trabalho de Quirynen *et al.* (1999) cada sessão de raspagem e alisamento radicular teve duração de 2 horas.

Os maiores questionamentos sobre a desinfecção de boca toda surgiram quando outros centros de pesquisa passaram a avaliar essa nova proposta de tratamento e observaram resultados diferentes dos relatados nos primeiros trabalhos feitos na Universidade Católica de Leuven (Bollen *et al.*, 1998; Mongardini *et al.*, 1999; Quirynen *et al.*, 1999). Os estudos mais recentes que comparam a desinfecção de boca toda sem terapia antimicrobiana adjunta à terapia convencional de raspagem por quadrantes demonstraram que as terapias são similares quanto aos resultados clínicos e microbiológicos (Apatzidou & Kinane, 2004; Jervoe-Storm *et al.*, 2006).

Ainda na tentativa de avaliar o efeito da clorexidina no protocolo de desinfecção de boca toda em estágio único Quirynen *et al.* (2006) delinearão um estudo com esse objetivo, ao contrário do que aconteceu com o trabalho de

Quirynen *et al.* (2000). O estudo foi considerado uma prova de princípio porque medidas como a não realização de limpeza interdental em áreas não tratadas e um longo intervalo entre as sessões de raspagem foram tomadas para aumentar as chances de recolonização de áreas já tratadas, na terapia convencional.

A associação com a clorexidina promoveu maior redução na profundidade de sondagem e maior ganho no nível de inserção quando comparada à raspagem e alisamento por quadrantes. Raramente, entretanto, diferenças foram observadas entre a desinfecção de boca toda com ou sem clorexidina. Resultado contrário foi observado por Cosyn *et al.* (2006) ao demonstrarem benefício da utilização de um verniz de clorexidina aplicado subgingivalmente em associação com a desinfecção de boca toda em estágio único. O benefício clínico foi observado em bolsas inicialmente moderadas e profundas.

Em 2006, Jervoe-Storm *et al.* ainda compararam a desinfecção de boca toda em estágio único (2 sessões de 2 horas cada dentro de 24 horas) sem clorexidina com a raspagem e alisamento radicular convencional (intervalo de uma semana entre as sessões). Não foi observada diferença entre os tratamentos para nenhum dos parâmetros clínicos avaliados após 6 meses, nem mesmo quando a avaliação foi feita considerando as diferentes categorias de profundidade de sondagem.

Os mesmos autores publicaram, em 2007, os resultados microbiológicos dessa comparação. A avaliação foi feita através da reação de polimerase em cadeia (PCR) em tempo real que permitiu a quantificação dos principais periodontopatógenos. Não foi detectada diferença entre os grupos em nenhum dos períodos de avaliação (1 dia, 1, 2, 4, 8, 12 e 24 semanas). Dessa forma, ambos os grupos permitiram a redução na contagem de microorganismos, mas não grandes alterações nas freqüências de pacientes positivos (Jervoe-Storm *et al.*, 2007).

Mudança no protocolo da nova abordagem foi feita por Koshy *et al.* (2005) ao estudarem a instrumentação de boca toda feita com instrumento ultra-

sônico em sessão única (2 horas). Essa abordagem permitiu redução no tempo de tratamento sem prejuízo aos resultados clínicos que foram semelhantes aos da terapia convencional de raspagem e alisamento radicular por quadrantes (3 horas). Ao contrário dos outros estudos, o agente antimicrobiano testado neste estudo foi o iodo povidine (PVP-I). Entretanto, a associação deste ao protocolo de desinfecção de boca toda não trouxe benefícios clínicos e microbiológicos adicionais.

Essa redução no tempo de instrumentação está associada ao conceito de outra nova abordagem da terapia periodontal não-cirúrgica, o debridamento da superfície radicular. Em função disso, criou-se uma nova nomenclatura. Enquanto a desinfecção de boca toda em estágio único proposta por Quirynen *et al.* (1995) era denominada “one stage full-mouth disinfection”, a desinfecção de boca toda feita em sessão única sem uso adicional de antimicrobiano e em tempo reduzido passou a ser denominada de debridamento ultra-sônico de boca toda ou “full-mouth ultrasonic debridement”.

A resposta imunológica decorrente dos tratamentos realizados por Koshy *et al.* (2005) foi reportada por Wang *et al.* (2006) na tentativa de esclarecer o efeito do debridamento ultra-sônico de boca toda nos níveis de anticorpos. Foram avaliados não apenas os níveis séricos da imunoglobulina G (IgG), mas também a avidéz dos anticorpos pela *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), *Prevotella intermedia* (Pi) e *Treponema denticola* (Td). De maneira geral, tanto o debridamento ultra-sônico de boca toda quanto a raspagem e alisamento radicular promoveram redução nos níveis de anticorpos e aumento da avidéz destes pelos patógenos descritos. O debridamento ultra-sônico de boca toda permitiu redução de maneira significativamente mais precoce das quantidades de IgG para Pg e Aa. Entretanto, as alterações nos níveis de IgG para Td foram maiores 6 meses após a terapia convencional do que após a desinfecção de boca toda.

## **2.1. Debridamento periodontal**

O fator etiológico primário da doença periodontal é o biofilme dental. Este atua por meio de mecanismos diretos, causando destruição tecidual pela liberação de enzimas líticas e produtos citotóxicos; e indiretos, desencadeando as reações de defesa do hospedeiro que podem resultar em destruição progressiva do periodonto (Page *et al.* 1997).

Dentre os produtos citotóxicos decorrentes do biofilme dental, as endotoxinas – lipopolissacarídeos presentes na membrana externa das bactérias gram-negativas – merecem destaque por estarem associadas ao início e progressão da doença periodontal, além de inibirem o crescimento de células em cultura de tecidos, e dificultarem a inserção de fibroblastos nas superfícies radiculares, anteriormente expostas ao ambiente da bolsa periodontal (Aleo *et al.*, 1974).

Embora o biofilme dental e seus produtos citotóxicos sejam apontados como os principais agentes iniciadores da doença periodontal, a presença do cálculo dental é importante no agravamento e perpetuação da enfermidade periodontal. A importância do cálculo dental está associada à rugosidade de sua superfície que, geralmente apresenta-se recoberta pelo biofilme (Lang *et al.*, 1998).

O tratamento periodontal está baseado na tentativa de eliminação total do biofilme e do cálculo dental da superfície radicular por meio da raspagem e alisamento radicular. Na ausência de contaminação, as células epiteliais aderem-se à superfície radicular retornando a uma situação de saúde periodontal (Waerhaug, 1978). No entanto, o processo de descontaminação radicular por meio de raspagem e alisamento radicular subgingival é tecnicamente difícil de ser realizado, principalmente em bolsas periodontais profundas e em dentes multirradiculares, mesmo para profissionais experientes (Kepic *et al.*, 1990; Parashis *et al.*, 1993).

Rabbani *et al.* (1981) avaliaram a efetividade da raspagem e alisamento radicular em relação à profundidade de bolsa e ao tipo de dente. Cento e

dezenove dentes com doença periodontal avançada e extração indicada foram selecionados para o estudo. Destes, 62 dentes (grupo teste) foram raspados com instrumentos manuais e 57 foram extraídos sem terem sido raspados (grupo controle). Após a extração, os dentes foram corados com azul de metileno e analisados em estereomicroscópio. Os resultados demonstraram uma forte relação entre a profundidade de sondagem e a quantidade de cálculo residual. Este foi encontrado em 40% das faces com profundidade de bolsa igual a 7 mm e 10% das faces com profundidade de sondagem igual a 3 mm.

Estudos como estes questionaram a viabilidade de se obter uma superfície radicular totalmente livre de cálculo após o tratamento periodontal, mesmo com a utilização de retalhos cirúrgicos para acesso. Caffesse *et al.* (1986) mostraram que em profundidades de sondagens de 4 a 6 mm, 43% das superfícies raspadas sem acesso apresentavam-se livres de cálculo e das tratadas com acesso 76% apresentavam essa característica. Em bolsas com profundidades superiores a 6 mm, apenas 32% das superfícies raspadas sem acesso estavam livres de cálculo e 50% das superfícies tratadas com acesso cirúrgico apresentavam essa característica.

Em relação aos dentes com envolvimento de bifurcação, Fleischer *et al.* (1989) observaram uma redução no número de superfícies com cálculo residual após procedimentos cirúrgicos para acesso e quando a instrumentação foi realizada por profissionais mais experientes. No entanto, 32% das superfícies radiculares raspadas por profissionais experientes com retalho de acesso apresentaram cálculo residual. Levando em consideração apenas as regiões de bifurcação, somente profissionais menos experientes foram beneficiados com a utilização de retalho para acesso.

Rateitschak–Plüss *et al.* (1992), em estudo com microscopia eletrônica de varredura, realizaram raspagem e alisamento radicular em 4 pacientes portadores de periodontite avançada. Foram instrumentadas 40 superfícies radiculares; destas, 29 não apresentavam cálculo residual na região em que as

curetas puderam alcançar, mas em apenas 25% das bolsas periodontais tratadas os instrumentos atingiram toda a extensão da superfície radicular. Isto devido à dificuldade de acesso decorrente das grandes profundidades de sondagem, presença de bolsas tortuosas e estreitas.

Cobb *et al.* (1992) descreveram os efeitos do tratamento radicular com laser Nd:YAG no tratamento de pacientes portadores de periodontite avançada com dentes com extração indicada. Foram utilizadas diversas potências e diversos tempos de exposição ao laser, o qual foi usado isoladamente ou em combinação com instrumentação manual. Antes e depois dos tratamentos foram realizados testes microbiológicos e posteriormente os dentes foram extraídos e avaliados em microscópio eletrônico de varredura. Todas as superfícies radiculares tratadas apresentavam áreas inacessíveis aos dois tipos de tratamento, apresentando cálculo e biofilme residual.

Em um estudo controlado, Wylam *et al.* (1993), analisando o efeito da instrumentação manual, com e sem retalho de acesso, na remoção de cálculo e biofilme dental, confirmaram a dificuldade de instrumentação das áreas de bifurcação. A porcentagem média de cálculo e biofilme residual encontrado foi de 54,3% nos dentes tratados sem retalho, 33% nos dentes tratados com retalho e 91% nos dentes não raspados.

Repetidas instrumentações em dentes com periodontite avançada não melhoram significativamente a efetividade de remoção do cálculo e biofilme dental, uma vez que a dificuldade de acesso e a topografia da superfície radicular dificultam a remoção destas estruturas, tanto na primeira instrumentação quanto nas posteriores (Anderson *et al.*, 1996).

Esta dificuldade de eliminação total do cálculo subgengival pode estar relacionada também aos métodos disponíveis clinicamente para o profissional avaliar a sua presença ou ausência sobre a superfície radicular. Sherman *et al.* (1990a) avaliaram a habilidade em se detectar clinicamente cálculo residual após raspagem e alisamento radicular, comparando estes resultados aos obtidos após

a utilização de estereomicroscópio com um aumento de 10x. As avaliações clínicas determinaram que 18,8% das superfícies raspadas apresentaram cálculo residual, enquanto as avaliações realizadas com estereomicroscópio determinaram que 57,7% das superfícies demonstraram cálculo residual. Os autores relataram que pequenas quantidades de cálculo residual não foram detectadas clinicamente. Houve também dificuldade em se detectar cálculos residuais que foram brunidos, e não removidos, durante a instrumentação radicular.

Portanto, os meios utilizados clinicamente na avaliação da efetividade da raspagem e alisamento radicular são imprecisos; isto, juntamente com a dificuldade de acesso em áreas com anatomia complexa, explica a permanência de cálculo e biofilme sobre a superfície dental após a terapia periodontal (Ramfjord, 1987). Entretanto, estudos clínicos e histológicos demonstraram que mesmo na presença de cálculo residual é possível ocorrer o reparo periodontal.

Listgarten & Ellegard (1973) observaram adesão epitelial sobre cálculo residual, em nível de microscopia eletrônica, em macacos tratados com raspagem e alisamento radicular, e submetidos a um rigoroso regime de controle químico e mecânico do biofilme dental. Fujikawa *et al.* (1988), utilizando cães portadores de periodontite natural, não observaram diferenças, após 120 dias de acompanhamento, entre o procedimento terapêutico periodontal tradicional (remoção de cálculo supragengival, deslocamento de retalho e raspagem e alisamento radicular) e o simples deslocamento de retalho após remoção do cálculo supragengival, em relação aos parâmetros clínicos avaliados – índice gengival e profundidade de sondagem.

Histologicamente, foi observado cálculo residual tanto no grupo no qual não foi realizada instrumentação radicular, quanto no grupo no qual a instrumentação foi realizada. Mas, independentemente do grupo, a inflamação era mais pronunciada na presença do cálculo. Apesar disso, no grupo não instrumentado foi observado adesão epitelial sobre o cálculo dental. A

possibilidade de obtenção de bons resultados após apenas o polimento da superfície radicular foi mostrada por outros estudos em animais (Nyman *et al.*, 1986; Blomlöf *et al.*, 1989). É importante ressaltar que estes animais também foram submetidos a um rigoroso regime de controle de biofilme dental através de escovação diária e profilaxia semanal.

Também em humanos, a presença de cálculo residual após tratamento periodontal, parece não ser significativa, quando avaliados os parâmetros clínicos de nível de inserção, profundidade de sondagem e sangramento à sondagem (Bernd & Opperman, 1998). Sherman *et al.* (1990b), ao tratarem dentes com envolvimento periodontal pela técnica de raspagem e alisamento radicular, observaram, em estereomicroscopia, após 3 meses do tratamento, que mais de 50% das superfícies tratadas apresentavam cálculo residual. Entretanto, até mesmo estas superfícies tiveram uma redução significativa nos valores dos parâmetros clínicos descritos acima. Os autores sugeriram que esta resposta favorável pode ter ocorrido devido à alteração qualitativa e quantitativa da microbiota subgengival.

Nyman *et al.* (1988) em estudo experimental em humanos compararam os resultados clínicos após cirurgia a retalho em áreas onde as superfícies radiculares foram cuidadosamente raspadas e alisadas, incluindo a remoção de cimento, com os resultados obtidos em áreas onde o biofilme foi removido com taça de borracha e pasta de polimento e o cálculo apenas destacado. Não foi detectada diferença na resposta cicatricial produzida pelos dois tipos de tratamento.

Os trabalhos descritos indicam não apenas a possibilidade de reparo periodontal na presença de cálculo residual, mas também sinaliza a não necessidade de remoção intencional de cimento através do aplainamento radicular. Uma possível explicação para essa possibilidade seriam as evidências de que os produtos citotóxicos – endotoxinas – não penetram no interior do cimento e mantêm uma frágil ligação com a superfície radicular. Foi sugerido que

o alto peso molecular dos lipopolissacarídeos impede sua penetração no interior do cimento (Nakib *et al.*, 1982).

Diante disto, Moore *et al.* (1986) relataram que 39% das endotoxinas podem ser facilmente removidas com procedimentos de irrigação (um minuto) e mais 60% são removidas com escovação da superfície radicular por um minuto. Hughes & Smales (1986) mostraram por imuno-histoquímica que os lipopolissacarídeos (LPS) estão presentes apenas na superfície do cimento de dentes extraídos por causa da doença periodontal. A penetração de LPS no interior do cimento não foi observada em nenhum caso.

Cadosch *et al.* (2003) reafirmaram a não necessidade de remoção intencional de cimento já que após os primeiros cinco movimentos de raspagem os níveis de endotoxinas eram semelhantes aos dos dentes saudáveis. Em função disso, a biocompatibilização da superfície radicular definida como a ausência de endotoxinas ou presença de níveis mínimos compatíveis com saúde (Nyman *et al.*, 1986) foi passível de ser obtida, em estudo clínico controlado, após o destacamento do cálculo e escovação da superfície radicular com solução salina (Sallum *et al.*, 2005).

Além da remoção de cimento não parecer ser necessária, ela também parece contra-indicada para evitar perda de estrutura dentária e hipersensibilidade dentinária (Wallace & Bissada, 1990). Além disso, Gonçalves *et al.* (2006) demonstraram em estudo histométrico em cães que o cimento modula o padrão de cicatrização após regeneração tecidual guiada em lesões de bifurcação classe III. Neste estudo, uma parte das lesões recebeu raspagem e alisamento radicular e outra parte foi polida com taça de borracha e teve o cálculo destacado. Quatro meses após o tratamento, maior formação de novo cimento e osso e menor extensão de tecido mole foi observado nas lesões de bifurcação polidas, ou seja, em que o cimento foi mantido.

As informações indicam, portanto, que a descontaminação radicular pode ser obtida através de medidas simples e atraumáticas, questionando assim

os métodos tradicionais de tratamento da superfície radicular. Dentro deste contexto, o debridamento periodontal surgiu como uma nova abordagem da terapia periodontal não-cirúrgica e tem, diferentemente da raspagem e alisamento radicular, não mais o objetivo de remover todo cálculo e cimento “contaminado”, mas sim o de tornar a superfície radicular biocompatível para restabelecimento do aparato de inserção. Isso pode ser conseguido com uma instrumentação leve (50g) e rápida (0,8 segundos/mm<sup>2</sup>) com ponta ultra-sônica, já que esta abordagem reduz a quantidade de LPS à níveis encontrados em áreas saudáveis (Smart *et al.*, 1990) .

Neste estudo, a eficiência do debridamento foi observada em dentes sem cálculo subgingival. Entretanto, Chiew *et al.* (1991) mostraram que o debridamento é também efetivo em reduzir os níveis de LPS em dentes com cálculo subgingival. Além disso, não foi observada relação entre a quantidade de LPS residual e a quantidade de cálculo residual, o que sugere que o cálculo não incorpora quantidades significativas de endotoxinas bacterianas.

Conceitualmente, o debridamento da superfície radicular é uma instrumentação radicular leve, mais conservadora, feita em tempo reduzido (Smart *et al.*, 1990). Esse conceito foi aplicado clinicamente por Wennström *et al.* (2001). Neste estudo, um grupo recebeu instrumentação mecânica com raspagem e alisamento radicular da boca toda em sessão única (2 horas) e após 3 meses foi realizado o debridamento periodontal (45 minutos) e aplicação de gel de doxiciclina nos sítios com profundidade de sondagem  $\geq 5$  mm. No outro grupo a ordem de tratamento foi inversa, ou seja, inicialmente os pacientes foram tratados com debridamento e gel de doxiciclina e após 3 meses os sítios com profundidade de sondagem  $\geq 5$  mm receberam raspagem e alisamento radicular.

Aos 3 meses, o grupo em que inicialmente foi feito o debridamento periodontal apresentou maior número de sítios com ganho de inserção  $\geq 2$  mm (38% x 30%). Aos 6 meses, nenhuma diferença estatística foi observada entre os grupos. Os resultados permitiram a conclusão de que uma instrumentação subgingival simplificada pode ser indicada para tratamento da periodontite crônica

se combinada com a aplicação local de doxiciclina.

Redução no tempo de instrumentação mecânica sem a associação com antimicrobianos foi avaliada por Wennström *et al.* (2005) ao comparar a eficácia clínica do debridamento periodontal denominado de debridamento ultra-sônico de boca toda (1 hora) à terapia convencional de raspagem e alisamento radicular por quadrantes (3 horas). Não foi observada diferença entre os grupos quanto ao sangramento à sondagem, redução da profundidade de sondagem e ganho no nível clínico de inserção. Entretanto, aos 3 meses, o tratamento em sessão única apresentou maior eficiência terapêutica (3,3 x 8,8 minutos). Essa eficiência foi calculada dividindo o tempo gasto para instrumentação pelo número de bolsas “fechadas” (PS  $\leq$  4 mm).

A redução no tempo de instrumentação pode estar associada à incompleta remoção de cálculo e biofilme (Braum *et al.*, 2005) o que levaria à maior recorrência da doença periodontal. Em função disso, os pacientes do estudo de Wennström *et al.* (2005) foram acompanhados por um ano para avaliação da incidência de recorrência da doença. Foram considerados recorrentes sítios com profundidade de sondagem  $\geq$  5 mm e sangramento à sondagem. No grupo de debridamento ultra-sônico 7% dos sítios saudáveis aos 6 meses apresentaram recorrência após um ano e no grupo de raspagem e alisamento radicular esse valor foi de 11%, sem diferença estatisticamente significativa. Doze pacientes (63%) do grupo de debridamento apresentavam sítios recorrentes, enquanto 14 pacientes (78%) dos pacientes do grupo de terapia convencional apresentavam sítios recorrentes. Todos os fumantes, exceto um, tiveram sítios recorrentes. Os autores concluíram que não há diferença na recorrência de doença entre os tratamentos propostos (Tomasi *et al.*, 2006).

Zanatta *et al.* (2005) trataram 40 pacientes com periodontite crônica moderada, não encontrando diferenças entre o debridamento periodontal (45 minutos) com ou sem o uso de solução de iodo povidine como agente refrigerante da instrumentação ultra-sônica. Da mesma forma, não foi encontrada diferença entre estes grupos e o grupo de raspagem e alisamento radicular convencional.

Em função disso, concluíram que o debridamento periodontal é efetivo no tratamento da doença periodontal crônica.

## **2.2. Antibioticoterapia sistêmica**

Antibióticos são substâncias químicas, produzidas por microorganismos vivos ou através de processos semi-sintéticos, que têm a propriedade de inibir o crescimento de microorganismos patogênicos e, eventualmente, destruí-los (Andrade, 1999). A utilização dessas substâncias na terapia periodontal baseia-se no conhecimento da natureza infecciosa da doença periodontal e no fato de que, apesar do grande número de espécies identificadas em amostras de biofilme dental, apenas relativamente poucos microorganismos demonstram um padrão característico de associação com a doença periodontal (Walker *et al.*, 2004).

Existe forte evidência implicando os patógenos *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Tannerella forsythia* como reais agentes etiológicos da periodontite (Moore & Moore, 1994). Estudos longitudinais e retrospectivos indicaram inclusive um risco maior de colapso periodontal em locais positivos e melhores resultados do tratamento quando esses microorganismos não foram mais detectados no acompanhamento (Haffajee *et al.*, 1991; Grossi *et al.*, 1994). Em função disso, um dos objetivos da terapia periodontal é eliminar esses periodontopatógenos (Flemmig *et al.*, 1998; Slots & Ting, 2002).

Apesar desse conhecimento, a instrumentação periodontal ainda trata a doença periodontal de maneira inespecífica e é falha em promover eliminação de patógenos importantes como *A. actinomycetemcomitans* e *T. forsythia* (Darby *et al.*, 2001). Esses microorganismos podem estar inacessíveis à intervenção mecânica devido a sua habilidade de invadir tecidos periodontais ou túbulos de dentina ou por residirem em locais inacessíveis aos instrumentos periodontais, como bolsas muito profundas e áreas de bifurcação (Adriaens *et al.*, 1988; Rudney *et al.*, 2001). Além disso, essa forma de tratamento tem efeito limitado em reduzir a quantidade de microorganismos de outras regiões da cavidade bucal (Flemmig

*et al.*, 1998). Isso, provavelmente, explica a pequena proporção, mas significativa, de pacientes que não respondem adequadamente à terapia mecânica.

Na tentativa, portanto, de melhorar os resultados da terapia mecânica e tratar a doença de maneira mais específica, a antibioticoterapia sistêmica foi proposta. A utilização de antibióticos no tratamento da doença periodontal exige o conhecimento do conceito de biofilme dental que consiste em um conjunto de colônias bacterianas envoltas por uma matriz composta principalmente por polissacarídeos extracelulares (Socransky & Haffajee, 2002). Essa organização permite que as bactérias sejam mais resistentes aos antimicrobianos (Anwar *et al.*, 1992).

Algumas teorias tentam explicar essa maior resistência conferida pelos biofilmes: 1) difícil penetração do antimicrobiano nas camadas mais profundas; 2) proteção de bactérias susceptíveis por produtos de outras bactérias resistentes ao antimicrobiano e 3) ativação de genes que melhoram a sobrevivência do microorganismo pela permanência em ambiente com limitação de nutrientes (Walker *et al.*, 2004). Essas informações são importantes para enfatizar a necessidade de interferência física no biofilme para melhorar a ação do antibiótico.

Uma série de antibióticos pode ser utilizada sistemicamente como adjuvante ao tratamento da doença periodontal. Dentre eles, o metronidazol tem despertado interesse em função do seu específico espectro de ação contra bactérias anaeróbias. É um composto sintético que foi intensamente pesquisado na periodontia após o relato de Shinn (1962) em que uma paciente fazendo uso do metronidazol para tratamento de tricomoníase vaginal acusou o alívio dos sintomas de uma gengivite ulcerativa necrosante.

O metronidazol é um quimioterápico bactericida que interfere com a síntese de DNA bacteriano, causando morte celular. É muito bem absorvido oralmente, atravessando as barreiras teciduais em grandes concentrações. Isso permite que não seja observada diferença entre a concentração plasmática da droga e as concentrações na saliva e fluido gengival (Pähkla *et al.*, 2006).

O metronidazol como todo antibiótico, pode causar reações adversas como gosto metálico, dor estomacal, náuseas e vômitos. Pode também, quando tomado com álcool, levar à ocorrência de reação do tipo dissulfiram (efeito Antabuse - aparecimento de rubor, vômito e taquicardia). Outra informação importante é a potencialização do efeito de anticoagulantes.

A combinação de metronidazol com amoxicilina também tem sido bastante investigada. A amoxicilina é uma penicilina semi-sintética que inibe a síntese da parede celular bacteriana, provocando perda de sua integridade e levando à morte celular. Tem baixa atividade contra cocos Gram-positivos e alta atividade contra anaeróbios Gram-positivos e Gram-negativos. Em função do seu mecanismo de ação são provavelmente os antibióticos menos tóxicos em uso, já que as células dos mamíferos não possuem parede celular. Entretanto, alguns pacientes podem apresentar diarreia ou algum tipo de reação de hipersensibilidade (Andrade, 1999).

#### 2.2.1. Metronidazol + Amoxicilina

Existe um sinergismo na combinação do metronidazol com a amoxicilina e isso provavelmente explica os resultados promissores da utilização dessa associação como auxiliar da terapia periodontal mecânica (Pavicic *et al.*, 1994a; Pavicic *et al.*, 1994b).

Van Winkelhoff *et al.* (1992) relataram que em 118 pacientes com periodontite associada ao *A.actinomycetemcomitans* (Aa) a administração sistêmica de metronidazol (250 mg) e amoxicilina (375 mg) combinada com a terapia mecânica foi capaz de eliminar esse patógeno em 96,6% dos pacientes. Apenas 4 pacientes apresentaram Aa após o tratamento e resistência ao metronidazol foi observada em 2 das 4 cepas destes pacientes. A avaliação por cultura mostrou que a *P.gingivalis* (Pg) foi também eliminada, após uma média de 4,9 meses, em 88% dos pacientes inicialmente positivos. Uma informação interessante é a de que pacientes ainda positivos para Aa ou Pg após o tratamento apresentaram maior sangramento à sondagem do que pacientes em que os microrganismos avaliados foram eliminados.

Os efeitos benéficos da utilização adjunta da associação metronidazol/amoxicilina na terapia mecânica foram confirmados por Winkel *et al.* (1998). Os pacientes receberam terapia mecânica e 21 semanas depois foram avaliados e instruídos a iniciar o uso de antibióticos (metronidazol 250 mg e amoxicilina 375 mg). A terapia inicial promoveu ganho de 1,1 mm no nível clínico de inserção e 14 semanas após a terapia antimicrobiana houve ganho adicional de 0,9 mm. A administração de antibióticos promoveu significativa redução na frequência de detecção de Aa, Pg, *Tannerella forsythia* (Tf) e *Prevotella intermedia* (Pi). Pacientes que ainda apresentaram níveis detectáveis desses patógenos após antibioticoterapia tinham piores valores de sangramento à sondagem, profundidade de sondagem e nível clínico de inserção quando comparados aos pacientes em que os patógenos foram reduzidos a níveis não detectáveis.

Todos os estudos já relatados foram feitos sem grupo controle e por isso não podem ser usados para avaliar a existência de efeito benéfico adicional da antibioticoterapia na terapia mecânica. Na tentativa de esclarecer essa questão Flemmig *et al.* (1998a) trataram 18 pacientes (grupo teste) com raspagem e alisamento radicular, administração sistêmica de metronidazol (250 mg) e amoxicilina (375 mg) e irrigação supragengival com clorexidina 0,06% e 20 pacientes (grupo controle) apenas com raspagem e alisamento radicular. Os pacientes deveriam ter periodontite crônica com presença de Aa e/ou Pg.

O tratamento teste produziu maior redução na frequência de detecção do *A.actinomycescomitans* nos diferentes habitat intra-bucais, incluindo biofilme subgengival, língua, mucosa alveolar e tonsilas, aos 9 e 12 meses depois do tratamento, quando comparado ao tratamento controle. Após o tratamento, *A.actinomycescomitans* não foi detectado nos 12 meses de acompanhamento em nenhum habitat intra-bucal em 50% dos pacientes teste e em 8% dos pacientes controle. A avaliação microbiológica feita pela reação da polimerase em cadeia (PCR) demonstrou redução na frequência de detecção de Pg apenas no grupo teste após 10 dias do tratamento. Portanto, diferença entre os grupos foi observada apenas 10 dias após o tratamento (Flemmig *et al.*, 1998b).

O resultado clínico dessa abordagem demonstrou que pacientes portadores de Aa inicialmente e que receberam antibioticoterapia, independente da presença de Pg, apresentaram significante maior incidência de ganho de inserção  $\geq 2$  mm quando comparados aos pacientes que receberam apenas terapia mecânica. Ao contrário, pacientes inicialmente portadores de *P.gingivalis*, mas não Aa tiveram maior incidência de perda de inserção após antibioticoterapia do que pacientes do grupo controle. Quando a presença de patógenos antes do tratamento foi desconsiderada a terapia adjunta com antibiótico sistêmico não melhorou significativamente a resposta clínica à terapia mecânica.

Avaliação do efeito da associação do metronidazol (250 mg) com a amoxicilina (375 mg) foi também feita por Berglundh *et al.* (1998) em 16 pacientes com periodontite crônica avançada. Os antibióticos foram administrados durante as 2 primeiras semanas de terapia ativa. Quatro grupos de tratamento foram formados: 1) antibioticoterapia sem raspagem; 2) antibioticoterapia associada à raspagem; 3) placebo sem raspagem e 4) placebo associado à raspagem. Os grupos 1 e 3 após 12 meses de acompanhamento receberam instrumentação subgingival e foram excluídos do estudo. Os pacientes dos grupos 2 e 4 continuaram sendo acompanhados por 24 meses. Após esse período a combinação da terapia mecânica com a utilização de antibióticos foi mais eficiente em promover melhoras clínicas e microbiológicas do que apenas terapia mecânica.

O ganho no nível clínico de inserção, em bolsas inicialmente com profundidade de sondagem  $\geq 6$  mm, foi de 2,1 mm no grupo 2 e 1,5 mm no grupo 4. A diferença entre esses grupos só foi estatisticamente significante em bolsas profundas. Os grupos 2 e 4, ao contrário dos outros grupos, também demonstraram alterações significativas na composição do infiltrado de células inflamatórias. Houve redução marcante na quantidade de plasmócitos e macrófagos. Entretanto, a antibioticoterapia sem raspagem foi pior que apenas a terapia mecânica na redução do sangramento à sondagem e profundidade de sondagem e ganho no nível clínico de inserção.

O efeito da administração por 7 dias de metronidazol (250 mg) e amoxicilina (500 mg) como única terapia da periodontite crônica progressiva foi também avaliado por López & Gamonal (1998). Neste estudo, os pacientes não receberam instruções para mudanças nos hábitos de higiene bucal e parte deles recebeu apenas a administração de placebo. A porcentagem de sítios com sangramento à sondagem foi estatisticamente reduzida nos pacientes que receberam antibioticoterapia e aumentada naqueles do grupo placebo.

A média de ganho no nível clínico de inserção no grupo com antibióticos foi, após 4 meses, 0,29 mm e no grupo placebo 0,12 mm. A média de perda de inserção foi de 0,10 mm e 0,32 mm, respectivamente. O tratamento com antibióticos promoveu maior redução na profundidade de sondagem quando comparado ao grupo placebo (0,24 mm x -0,17 mm). De acordo com os resultados clínicos, a administração dos antibióticos promoveu redução na quantidade de sítios com grande quantidade de Pg e após 2 meses a redução de Pg e Pi foi significativamente maior nesse grupo quando comparado ao grupo placebo.

Apesar das limitações dos resultados clínicos, os autores concluíram que uma semana de antibioticoterapia sistêmica como única terapia em pacientes com periodontite crônica moderada altera a composição da microbiota subgengival e produz alterações clínicas significativas. Em função disso, o estudo foi estendido para avaliar o efeito isolado da administração repetida de metronidazol e amoxicilina, a cada 4 meses, no tratamento da periodontite crônica progressiva. A comparação com os valores iniciais mostrou que, após 12 meses, a administração dos antibióticos permitiu um ganho clínico de inserção de 0,43 mm, redução da profundidade de sondagem de 0,50 mm e do sangramento à sondagem (SS). Diferença em relação ao grupo placebo foi observada em todos os períodos na média de nível de inserção, porcentagem de sítios ativos e SS (López *et al.*, 2000).

Winkel *et al.* (2001) avaliaram o efeito da administração sistêmica de metronidazol (250 mg) e amoxicilina (375 mg), utilizados por 1 semana, em pacientes com periodontite crônica que também receberam instrumentação supra

e subgingival. Exceto pelo índice de placa, houve, após 3 meses, mudanças clínicas mais significativas no grupo teste do que no grupo placebo. A avaliação microbiológica que foi feita pela técnica de cultura mostrou que redução no número de pacientes positivos para Pg, Tf e Pi foi observada de maneira significativa apenas no grupo teste.

Baseado na avaliação microbiológica inicial foram criados 4 subgrupos; pacientes Pg-positivos e negativos nos grupos teste e controle. Houve diferença entre os grupos apenas nos pacientes Pg-positivos quanto à porcentagem de sítios com profundidade de sondagem  $\geq 5$  mm. Nestes pacientes, o grupo controle apresentou redução de 45% para 23% na porcentagem de sítios com profundidade de sondagem  $\geq 5$  mm e o grupo teste redução de 46% para 11%. Isso indica que nem todos os pacientes são beneficiados igualmente pela antibioticoterapia sistêmica. Essa terapia também promoveu intolerância gastrointestinal em 39,13% dos pacientes do grupo teste.

Até então nenhum trabalho havia comparado os efeitos do metronidazol e da amoxicilina isolados ou combinados como adjuntos da raspagem e alisamento radicular. Essa foi a proposta do trabalho de Rooney *et al.* (2002). Metronidazol (200 mg) e amoxicilina (250 mg) foram administrados 3 vezes ao dia durante 7 dias. O estudo teve duração de 6 meses e mostrou diferenças clínicas e microbiológicas significativas favorecendo os grupos com antibiótico. As diferenças foram maiores para o grupo em que os antibióticos estavam combinados. A quantidade total de bactérias aeróbias e anaeróbias determinada em cultura foi significativamente reduzida após 1 mês no grupo metronidazol/amoxicilina em relação ao grupo metronidazol e o grupo placebo. Neste estudo, nenhum paciente reclamou de qualquer efeito adverso do tratamento.

Herrera *et al.* (2002), em uma meta-análise, mostraram efeito estatisticamente benéfico, no nível clínico de inserção, da administração sistêmica da combinação metronidazol/amoxicilina. Slots & Ting (2002) afirmaram que a combinação metronidazol/amoxicilina deve ser a primeira escolha de

antibioticoterapia na periodontia, principalmente quando não for possível a realização de teste de suscetibilidade microbiológica. De acordo com a experiência de seus laboratórios a combinação metronidazol/amoxicilina é a escolha apropriada para cerca de 70% dos casos de periodontite avançada.

Avaliação longitudinal dos efeitos da administração de metronidazol (250 mg) e amoxicilina (375 mg) como terapia adjunta da instrumentação periodontal foi feita por Ehmke *et al.* (2005). A terapia antimicrobiana teve início imediatamente após a finalização da raspagem e contou também com a irrigação supragengival uma vez ao dia com clorexidina 0,06%. Após 2 anos, os pacientes submetidos à antibioticoterapia apresentaram nos sítios com profundidade de sondagem inicial  $\geq 7$  mm maior frequência de ganho de inserção  $\geq 2$  mm (37,3% x 8,2%) e menor frequência de perda de inserção (7,2% x 19,1%) do que os pacientes submetidos apenas à terapia mecânica. Novamente quando comparado ao controle, o grupo teste mostrou na avaliação por PCR menor prevalência de Aa (até os 18 meses) e Pg (até os 3 meses).

A antibioticoterapia teve efeito similar no ambiente subgengival e nos outros ambientes intrabucais. Baseado nesses resultados, os autores concluíram que em um período de 24 meses, a antibioticoterapia com duração de 8 dias reduziu em 62% o risco relativo de sítios profundos perderem inserção. Entretanto, com exceção do Aa, falhou em produzir alterações longitudinais nos perfis de colonização bucal.

Outro trabalho avaliou o efeito da administração sistêmica de metronidazol (500 mg) + amoxicilina (500 mg) no tratamento da periodontite agressiva (Guerrero *et al.*, 2005). A antibioticoterapia foi iniciada antes do tratamento periodontal de boca toda feito em 2 sessões de 2 horas dentro de 24 horas, teve duração de 7 dias e melhorou os resultados clínicos à curto prazo (6 meses) da terapia não cirúrgica. Um exemplo disso é que no grupo teste 74% das bolsas inicialmente  $\geq 5$  mm tinham após 6 meses profundidade de sondagem  $\leq 4$  mm e no grupo controle essa proporção era de 54%.

Xajigeorgiou *et al.* (2006) avaliando os efeitos da utilização adjunta de metronidazol (500 mg) + amoxicilina (500 mg), doxiciclina ou metronidazol no tratamento de periodontite agressiva generalizada não conseguiram detectar diferenças entre os grupos na profundidade de sondagem, nível clínico de inserção e sangramento à sondagem. As mudanças microbiológicas detectadas pela técnica “checkerboard” DNA-DNA hibridização também não revelaram diferenças entre os grupos em nenhum dos períodos de avaliação e esses pacientes foram acompanhados por 6 meses após instrumentação mecânica e 4 meses após antibioticoterapia.

Diferença entre os grupos favorecendo a utilização de metronidazol + amoxicilina ou só metronidazol, foi detectada na redução da proporção de sítios com profundidade de sondagem > 6 mm. Neste estudo, 20% dos pacientes recebendo metronidazol + amoxicilina reportaram desconforto gastro-intestinal leve.

### **3. PROPOSIÇÃO**

O presente estudo teve como objetivo avaliar, por meio de parâmetros clínicos, microbiológicos e imunológicos, o efeito do debridamento periodontal associado ou não à administração sistêmica de metronidazol e amoxicilina no tratamento de pacientes portadores de periodontite crônica avançada.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Seleção da amostra

Após aprovação do presente estudo pelo o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP 126/2005 – Anexo 1) da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP foram selecionados, dentre aqueles que procuraram tratamento nas clínicas de Pós-Graduação da FOP-UNICAMP, 52 pacientes segundo os seguintes critérios de inclusão:

- Pacientes portadores de periodontite crônica avançada verificada pela presença de bolsas periodontais com perda de inserção  $\geq 5$  mm, sangramento à sondagem e perda óssea radiográfica (Flemmig, 1999);
- Presença de pelo menos 8 dentes com profundidade de sondagem  $\geq 5$  mm e sangramento à sondagem. Destes, no mínimo, 2 dentes deveriam ter profundidade de sondagem  $\geq 6$  mm e mais 2 deveriam ter profundidade de sondagem  $\geq 7$  mm (Wennström *et al.*, 2001).
- Presença de um mínimo de 20 dentes.

Os critérios de exclusão foram:

- Presença de alterações periapicais;
- Presença de alteração sistêmica ou uso de medicamentos (6 meses anteriores ao estudo) que pudessem influenciar na resposta ao tratamento periodontal;
- Realização de tratamento periodontal incluindo instrumentação subgengival nos 6 meses anteriores ao estudo;
- Presença de hipersensibilidade ao metronidazol ou penicilina;
- Pacientes em tratamento ortodôntico;
- Pacientes fumantes;
- Mulheres grávidas ou lactantes.

Após avaliação dos critérios de inclusão e exclusão, os pacientes selecionados assinaram um consentimento formal para a participação na pesquisa, após a explicação dos riscos e benefícios do indivíduo envolvido na

mesma. (Resolução n 196 de outubro de 1996 e o Código de Ética Profissional Odontológico (C.F.O.) 179/93).

O cálculo do tamanho da amostra foi feito previamente ao início do estudo e baseado nos resultados encontrados na literatura. Foi determinado que 12 pacientes por grupo ofereceria um poder (“power”) de 80% para detectar diferenças de 1,0 mm no nível clínico de inserção entre os grupos.

#### **4.2. Delineamento do estudo**

O estudo foi delineado como longitudinal, paralelo, duplo-cego e inteiramente casual, ou seja, os pacientes foram distribuídos aleatoriamente entre os tratamentos. Os pacientes selecionados foram divididos em 4 grupos, cujos dentes receberam os tratamentos propostos, como se segue:

**Grupo RAR** – raspagem e alisamento radicular, realizados por quadrantes, associados à administração sistêmica de placebo.

**Grupo RAR/AB** – raspagem e alisamento radicular, realizados por quadrantes, associados à administração sistêmica de metronidazol (250 mg) e amoxicilina (375 mg)

**Grupo DB** – debridamento periodontal em sessão única associado à administração sistêmica de placebo.

**Grupo DB/AB** - debridamento periodontal em sessão única associado à administração sistêmica de metronidazol (250 mg) e amoxicilina (375 mg)

Antibióticos e placebos foram manipulados e apresentados na forma de cápsulas. Metade das cápsulas de placebo tinha as mesmas cores das cápsulas de metronidazol e a outra metade tinha as cores das cápsulas de amoxicilina. Cada paciente recebeu 2 recipientes com a quantidade correta de cápsulas e foi instruído a devolver esses recipientes após 1 semana. A avaliação da adesão do paciente à terapia medicamentosa foi feita através de entrevista e contagem do número de cápsulas remanescentes.

A randomização foi feita em uma tabela no computador. Apenas o profissional responsável pela realização dos tratamentos tinha acesso aos códigos

e foi ele quem entregou os medicamentos aos pacientes. Dessa forma, foi possível a caracterização do estudo como duplo-cego, no qual o examinador não sabia a que tratamento o paciente foi submetido e o paciente também não sabia a que grupo pertencia. O examinador, portanto, foi um profissional não envolvido no tratamento. A avaliação clínica e coletas de fluido gengival para posterior análise imunológica foram feitas antes do tratamento, 1, 3 e 6 meses após. As coletas de biofilme dental para posterior análise microbiológica foram feitas antes do tratamento, 3 e 6 meses depois. Estes procedimentos foram feitos por um mesmo examinador calibrado.

A calibração do examinador foi feita antes do início do estudo. Foram feitas medidas em duplicata (N=414) da profundidade de sondagem e nível clínico de inserção de três pacientes com periodontite crônica com um intervalo de 24 horas entre os exames. O coeficiente de correlação intra-classe utilizado como uma medida da reprodutibilidade intra-examinador foi de 0,81 e 0,89 para profundidade de sondagem e nível clínico de inserção, respectivamente.

### **4.3. Plano de pesquisa**

4.3.1. Exame e terapia inicial: Seleção de 52 pacientes de acordo com os critérios pré-estabelecidos. Todos os pacientes foram instruídos sobre as causas e conseqüências da doença periodontal bem como sobre técnicas de prevenção, incluindo técnica de escovação sulcular e uso de fio dental. Os fatores de retenção de placa (cavidades de cárie, excesso de restaurações e cálculo supragengival) foram removidos nas visitas iniciais. Nessa fase, foram também feitas moldagens para confecção dos guias de sondagem. Os parâmetros clínicos, microbiológicos e imunológicos foram inicialmente avaliados 30 dias após a terapia inicial.

4.3.2. Tratamento: O paciente foi sorteado para compor um dos quatro grupos de tratamento, sendo realizada instrumentação periodontal, sob anestesia local, de todos os dentes que apresentassem indicação. Os pacientes nos grupos de RAR e RAR/AB foram submetidos a 4 sessões de raspagem e alisamento radicular com

instrumentos manuais (curetas Gracey<sup>1</sup>) e ultra-sônicos<sup>2</sup> (pontas específicas<sup>3</sup>) em intervalo de 1 semana entre cada sessão. Os pacientes dos grupos DB e DB/AB foram tratados em uma única sessão de no máximo 45 minutos.

A antibioticoterapia teve início ao final da instrumentação periodontal. Os antibióticos e placebos foram prescritos três vezes ao dia (a cada 8 horas) durante sete dias. Os pacientes receberam um termômetro para medição da temperatura corpórea e foram instruídos a não consumir bebida alcoólica durante os dias de terapia medicamentosa. Foram também instruídos a preencher um questionário (Figura 1), o qual deveriam trazer após uma semana juntamente com os recipientes utilizados para armazenamento das cápsulas. Nesta consulta, os pacientes responderam outro questionário sobre a ocorrência de reações adversas e a adesão à terapia medicamentosa (Figura 2).

Paciente: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

1. Qual a intensidade da sensação dolorosa no dia do tratamento?

Nenhuma Dor    0    1    2    3    4    5    6    7    8    9    10     Dor Insuportável

2. Qual a intensidade da sensação dolorosa no dia seguinte ao tratamento?

Nenhuma Dor    0    1    2    3    4    5    6    7    8    9    10     Dor Insuportável

3. Tomou remédios para dor no dia do tratamento?

Sim    Quantos? \_\_\_\_\_  
 Não

4. Tomou remédios para dor no dia seguinte ao tratamento?

Sim    Quantos? \_\_\_\_\_  
 Não

5. Apresentou febre no dia do tratamento?

Sim    Quanto? \_\_\_\_\_  
 Não

6. Apresentou febre no dia seguinte ao tratamento?

Sim    Quanto? \_\_\_\_\_  
 Não

7. Observou o aparecimento de aftas ou outros machucados na boca?

Sim  
 Não

8. Observou algum outro efeito adverso:

Sim    Qual? \_\_\_\_\_  
 Não

Figura 1: Questionário entregue ao paciente ao final da terapia mecânica para avaliação da dor, febre e outros desconfortos pós-operatórios.

<sup>1</sup> Hu-Friedy, Chicago, IL, EUA

<sup>2</sup> Profi III - Dabi Atlante, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil

<sup>3</sup> Ponta 33 - Amdent, Estocolmo, Suécia

Paciente: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

1. Apresentou náuseas, vômitos ou algum desconforto gastro-intestinal com a medicação?  
( ) Sim  
( ) Não

2. Apresentou algum outro efeito adverso com a medicação:  
( ) Sim Qual? \_\_\_\_\_  
( ) Não

3. Tomou a medicação conforme orientação?  
( ) Sim  
( ) Não

DEVOLUÇÃO DA MEDICAÇÃO: \_\_\_\_\_

Figura 2: Questionário aplicado uma semana após a finalização da terapia mecânica e início da antibioticoterapia.

Posteriormente à fase ativa do tratamento, os pacientes foram incluídos em terapia de suporte com controles mensais, até o final do estudo, contendo orientação de higiene e profilaxia profissional e, aos 3 meses retratamento dos dentes com profundidade de sondagem  $\geq 5$  mm e sangramento à sondagem.

#### 4.3.3. Avaliação clínica: Os parâmetros clínicos avaliados foram:

**a-** Índice de Placa – **IP** (Ainamo & Bay, 1975): avaliação da presença/ausência de placa num padrão dicotômico. Número de faces envolvidas com placa dividido pelo número de faces presentes em todos os dentes do paciente.

**b-** Índice de sangramento gengival – **IG** (Ainamo & Bay, 1975): avaliação da presença/ausência de sangramento marginal num padrão dicotômico. Número de faces com sangramento marginal dividido pelo número de faces presentes em todos os dentes do paciente.

**c-** Sangramento à sondagem - **SS** (Mühlemann & Son, 1971): avaliação da presença/ausência de sangramento à sondagem num padrão dicotômico. Número de faces com sangramento à sondagem dividido pelo número de faces presentes em todos os dentes do paciente.

**d-** Posição da Margem Gengival – **PMG**: distância da demarcação no guia de sondagem até a margem gengival livre.

**e-** Nível Clínico de Inserção Relativo – **NICr**: distância da demarcação no guia de sondagem até a base, clinicamente detectável, da bolsa periodontal.

**f-** Profundidade de Sondagem – **PS** (NICr - PMG): distância da margem gengival à base, clinicamente detectável, da bolsa periodontal.

Os IP, IG e SS foram obtidos de todos os dentes e de 6 sítios por dente (mésio-vestibular, vestibular, disto-vestibular, mésio-lingual, lingual e disto-lingual) de maneira que se obtivesse a porcentagem de sítios com placa, sangramento marginal e sangramento à sondagem na boca toda.

Todos os parâmetros clínicos foram obtidos utilizando uma sonda periodontal do tipo Carolina do Norte, antes do tratamento periodontal, 1, 3 e 6 meses depois deste. Para padronização da localização do exame de sondagem foram confeccionados aparelhos orientadores de sondagem com placas de acrílico rígidas de 1 mm de espessura em plastificador a vácuo.

**4.3.4. Avaliação microbiológica:** A quantificação microbiológica foi feita através da reação de polimerase em cadeia em tempo real (real time PCR). O PCR consiste em fazer cópias de DNA “in vitro”, usando os elementos básicos do processo de replicação natural do DNA. A abordagem quantitativa em tempo real utiliza um sistema que detecta o aumento da quantidade de fitas de DNA no tubo de reação, por meio da mensuração do aumento da emissão fluorescente, à medida que a reação está ocorrendo.

O PCR em tempo real permitiu, portanto, a determinação da frequência de detecção e quantificação das seguintes bactérias: *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Tannerella forsythia* (Tf) e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa).

#### **a- Coleta do biofilme subgengival**

A região, para coleta do material, foi devidamente isolada e seca com rolos de algodão esterelizados. A porção supragengival do biofilme bacteriano foi removida, para então se obter amostras do biofilme subgengival, por meio da colocação de um cone de papel no interior da bolsa. Após 30 segundos o cone de

papel foi removido e colocado em tubos para microcentrifugação (eppendorfs) com 300 µL de solução Tris-EDTA (Syed & Loesche, 1972), codificados para cada um dos pacientes. Os eppendorfs foram mantidos em temperatura de -20°C até a realização do ensaio. Para cada paciente, em cada tempo, foram coletadas 2 amostras de biofilme subgengival para análise microbiológica. Uma das amostras era proveniente de uma bolsa com PS de 5 ou 6 mm e a outra de uma bolsa com PS ≥ 7 mm.

#### **b- Extração do DNA**

Os eppendorfs foram descongelados em gelo, agitados em vortex e os cones de papel removidos com auxílio de pinça clínica. As amostras foram centrifugadas por 1 minuto para posterior remoção do sobrenadante (solução transporte). Foram adicionados 700 µL do tampão de extração (NaCl 1.4 M; Tris-HCl 100 mM; EDTA 20 mM; PVP-40 1%; CTAB 2%; β-Mercaptanol 0,2%) e 2 µl de proteinase K, feita nova agitação e então os eppendorfs foram deixados em banho-maria por 30 minutos à 65°C (a cada 10 minutos foi feita homogeneização suave). O tampão de extração é uma solução feita a partir da mistura de várias substâncias que permitem o rompimento da parede celular e estabilização do DNA.

A próxima etapa foi adicionar 650 µL de CIA (solução de clorofórmio: álcool isoamílico 24:1, respectivamente), homogeneizar até formar uma emulsão e centrifugar à 12.000-15.000 rpm, durante 7 minutos a 4°C em centrífuga refrigerada. A fase aquosa foi transferida para um novo tubo de 1,5 mL, ao qual foi adicionado 200 µL do tampão de extração e 650 µL de CIA. Seguiu-se uma nova homogeneização e centrifugação à 12.000-15.000 rpm, durante 7 minutos a 4°C.

A fase aquosa foi transferida para outro tubo novo, ao qual foi adicionado 650 µL de CIA, seguindo-se a centrifugação à 12.000-15.000 rpm, durante 7 minutos a 4°C. Novamente, a fase aquosa foi transferida para um novo tubo, ao qual foi adicionado 1 volume de isopropanol à temperatura ambiente para então ser feita homogeneização e centrifugação à 12.000-15.000 rpm, durante 7

minutos a 4°C. Essa fase teve como objetivo provocar a precipitação do DNA. A superfície do precipitado foi lavada 1 vez com 300 µL de etanol 70% e então centrifugado por 2 minutos. O precipitado foi seco, deixando o tubo aberto sobre bancada, ao lado de bico de Busen. Após secagem, foi feita ressuspensão em 30 µL de TE (10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 1 mM EDTA, pH 8.0) + 10 µg/mL de RNase, para então deixar em banho-maria à 37°C por 30 minutos.

O protocolo de extração de DNA foi adaptado de Doyle & Doyle, 1990. Alíquotas de um µL de cada amostra foram utilizadas para verificar a concentração e pureza do DNA em espectrofotômetro. Essa etapa é importante, pois as amostras foram diluídas de acordo com a leitura no espectrofotômetro para garantir que a quantidade de DNA colocada na reação de PCR fosse sempre constante – 50 ng/mL (Teo *et al.*, 2002).

### c- PCR em tempo real

- DESENHO DOS PRIMERS: Primers (par de oligonucleotídeos para iniciar a síntese de DNA) específicos para *Porphyromonas gingivalis* (Kozarov *et al.*, 2006), *Tannerella forsythia* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Boutaga *et al.*, 2005) foram sintetizados (Tabela 1). Todos os primers foram verificados quanto a sua especificidade por meio da verificação da curva de Melting (Figura 3) e correndo gel de agarose 1% para verificação dos produtos amplificados (Figura 4).

Tabela 1: Primers específicos para alguns periodontopatógenos

BACTÉRIA	Primer 5'-3'	Primer 3'- 5'
<i>P. gingivalis</i>	CATAGATATCACGAGGAACTCCGATT	AAACTGTTAGCAACTACCGATGTGG
<i>T. forsythia</i>	CGTTTCCGAAGAGTATAACCACA	CATGCAGCTTGATATTCTGAGG
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	GAACCTTACCTACTCTTGACATCCGAA	TGCAGCACCTGTCTCAAAGC

- OTIMIZAÇÃO DAS REAÇÕES: A utilização do SYBR Green I exige a obtenção de produtos específicos de PCR, em função disso a eficiência das

reações para cada par de primers foi otimizada anteriormente ao início das reações propriamente ditas. Concentrações variando de 0,2 a 0,5  $\mu\text{M}$  de cada “primer” foram testadas para se determinar em quais condições, sugeridas pelo fabricante do equipamento, a reação teria a melhor eficiência. A temperatura e o tempo (variando de 3 a 7 segundos) de anelamento também foram acertados para maior eficiência da reação.

- CURVA PADRÃO: As curvas padrões foram feitas utilizando controles positivos para *P. gingivalis* (ATCC 33277), *T. forsythia* (ATCC 43037) e *A. actinomycetemcomitans* (JP2) cujas concentrações também foram medidas em espectrofotometria. O cálculo da quantidade de cópias de DNA existente em cada controle positivo foi feito conhecendo o tamanho do genoma (pares de bases) da bactéria e levando em consideração que a massa média de  $6,02 \times 10^{23}$  pares de bases é de  $615 \times 10^9$  ng (Dolezel et al., 2003). A utilização de uma curva padrão para cada espécie bacteriana permitiu a realização de uma quantificação absoluta. Todas as curvas tiveram como limite de detecção  $10^3$  cópias de DNA e se comportaram de maneira semelhante à Figura 3.

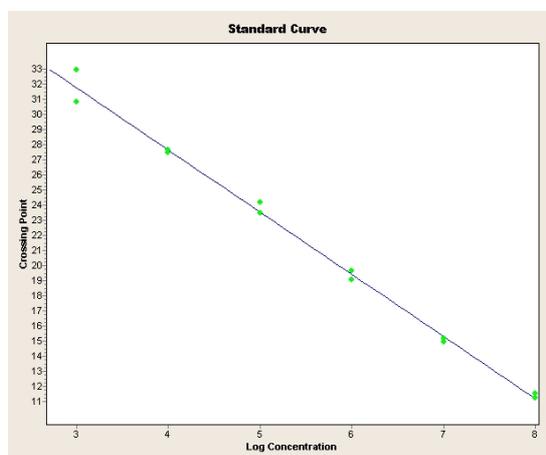


Figura 3: Curva padrão para *P. gingivalis* ( $10^8 - 10^3$ ).

- REAÇÕES DE PCR TEMPO REAL (REAL TIME-PCR): As reações foram realizadas com o sistema LightCycler<sup>4</sup>, utilizando-se o kit “FastStart DNA

<sup>4</sup> Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemanha

Master SYBR Green I<sup>4</sup>". O perfil das reações foi determinado seguindo as recomendações do fabricante do equipamento. Para cada uma das "corridas", a água foi utilizada como controle negativo, e uma das diluições da curva padrão como controle positivo. O produto das reações foi quantificado utilizando-se o programa do próprio fabricante<sup>5</sup>. A concentração de primer utilizada para as reações de P.g e A.a foi 0.5 µM e para T.f foi 0.3 µM. A reação para detecção e quantificação de *P. gingivalis* incluiu 10 minutos de desnaturação seguidos de 40 ciclos de amplificação, cada ciclo de 19 segundos (95°C por 10 segundos, 55°C por 5 segundos e 72°C por 4 segundos). A reação para detecção e quantificação de *T. forsythia* incluiu 10 minutos de desnaturação seguidos de 45 ciclos de amplificação, cada ciclo de 21 segundos (95°C por 10 segundos, 55°C por 5 segundos e 72°C por 6 segundos). A reação para detecção e quantificação de *A. actinomycetemcomitans* incluiu 10 minutos de desnaturação seguidos de 40 ciclos de amplificação, cada ciclo de 18 segundos (95°C por 10 segundos, 55°C por 5 segundos e 72°C por 3 segundos).

#### 4.3.5. Avaliação imunológica (ELISA)

O fluido gengival foi coletado da mesma área de coleta microbiológica. Dessa forma, para cada paciente, em cada tempo, foram coletadas 2 amostras de fluido gengival para análise imunológica. Uma das amostras era proveniente de uma bolsa com PS de 5 ou 6 mm e a outra de uma bolsa com PS ≥ 7 mm.

A área, para coleta do material, foi devidamente isolada e seca com rolos de algodão esterelizados. A porção supragengival do biofilme bacteriano foi removida, para então se obter amostras de fluido gengival através da colocação de tiras papel<sup>6</sup> no interior da bolsa durante 15 segundos. O volume de fluido gengival coletado foi medido com o Periotron<sup>7</sup> e as tiras de papel foram então colocadas em tubos para microcentrifugação (ependorf), codificados para cada um dos pacientes, e com 400µL de solução tampão fosfato (PBS) + Tween-20

---

<sup>5</sup> LightCycler Relative Quantification Software - Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemanha

<sup>6</sup> Periopaper<sup>®</sup> - Oraflow Inc, NY, EUA

<sup>7</sup> Oraflow Inc, NY, EUA

0,05% (Gamonal et al., 2000). Os eppendorfs foram mantidos em temperatura de  $-20^{\circ}$  C até a realização do ensaio. As medidas obtidas com o Periotron® foram convertidas em volume pela construção de uma curva padrão correlacionando as medidas digitais com volumes padronizados. Esses dados foram utilizados para cálculo da quantidade de citocinas por volume de fluido gengival ( $\text{pg}/\mu\text{L}$ ).

Alíquotas de cada amostra de fluido gengival foram submetidas ao teste imunoenzimático (ELISA) para determinar os níveis de IL-1 $\beta$ , PGE<sub>2</sub>, IL-10 e IFN- $\gamma$ , de acordo com as recomendações do fabricante<sup>8</sup>.

#### **a. Prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>)**

Essa reação é baseada numa técnica de competição em que a PGE<sub>2</sub> presente em uma amostra compete com uma quantidade fixa de PGE<sub>2</sub> conjugada (PGE<sub>2</sub> marcada) com uma peroxidase por sítios em um anticorpo monoclonal de rato. Durante o período de incubação de 16 a 20 horas, que garante uma reação de alta sensibilidade, o anticorpo monoclonal específico se liga ao anticorpo policlonal de cabra que está aderido à placa. Segue-se com um procedimento de lavagem para remoção do excesso de PGE<sub>2</sub> conjugada e de amostra não ligada. Um substrato para a enzima foi adicionado a cada poço da placa de maneira a desenvolver uma reação colorimétrica proporcional à atividade de enzima ligada e, portanto inversamente proporcional à quantidade de PGE<sub>2</sub> da amostra. Essa reação foi paralisada com solução de ácido sulfúrico e a absorbância foi lida em 450 nm com correção em 540 nm.

Em cada placa foi feita uma curva padrão com 7 valores de 125  $\text{pg}/\text{mL}$  à 19,6  $\text{pg}/\text{mL}$  (limite de detecção). Foram também feitos 2 controles: um correspondia ao ponto mais baixo da curva e outro foi utilizado como “blank”, ou seja, a sua densidade óptica foi subtraída das densidades ópticas das amostras e da curva padrão. Todas as amostras, controles e pontos da curva foram feitos em duplicata. Para análise, as amostras foram diluídas em PBS (1:8).

#### **b. Interleucina-1beta (IL-1 $\beta$ )**

---

<sup>8</sup> R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA.

Esse ensaio aplica a técnica enzimática de imunoenensaio do tipo “sanduíche”. Foram utilizadas placas pré-sensibilizadas com anticorpos monoclonais específicos para IL-1 $\beta$ . Padrões e amostras foram pipetados nos poços da placa de maneira que qualquer IL-1 $\beta$  se ligasse ao anticorpo imobilizado. Após o período de incubação de 14 a 20 horas e a lavagem para remoção de substâncias não ligadas, um anticorpo policlonal específico para IL-1 $\beta$  e conjugado à enzima fosfatase alcalina foi adicionado aos poços. Novamente foi feito o procedimento de lavagem para adição do substrato (NADPH) para enzima. Após um período de incubação, uma solução amplificadora foi adicionada iniciando uma reação colorimétrica proporcional à quantidade de IL-1 $\beta$  ligada nas etapas iniciais. A reação foi paralisada com solução de ácido sulfúrico e absorbância foi lida em 490 nm com correção em 690 nm. Este foi um ensaio de alta sensibilidade em que a fosfatase alcalina tem a capacidade de desfosforilar o NADPH em NADH. Este por sua vez atua como um co-fator para as reações catalisadas pelas enzimas amplificadoras que produzem cor.

Em cada placa foi feita uma curva padrão com 7 valores de 8 pg/mL à 0,125 pg/mL (limite de detecção). Foi feito um controle que correspondeu ao “blank”, ou seja, a sua densidade óptica foi subtraída das densidades ópticas das amostras e da curva padrão. Todas as amostras, controles e pontos da curva foram feitos em duplicata. As amostras foram diluídas com o diluente do kit - soro animal com preservativos (1:100).

### **c. Interferon-gama (IFN- $\gamma$ )**

Esse ensaio aplica a técnica enzimática de imunoenensaio do tipo “sanduíche”. Foram utilizadas placas pré-sensibilizadas com anticorpos policlonais específicos para IFN- $\gamma$ . Padrões e amostras foram pipetados nos poços da placa de maneira que qualquer IFN- $\gamma$  se ligasse ao anticorpo imobilizado. Após incubação e lavagem para remoção de substâncias não ligadas, um anticorpo policlonal específico para IFN- $\gamma$  e conjugado à enzima peroxidase foi adicionado aos poços. Iniciou-se uma reação colorimétrica proporcional à quantidade de IFN- $\gamma$

ligada nas etapas iniciais. A reação foi paralisada com solução de ácido sulfúrico e a absorbância foi lida em 450 nm com correção em 570 nm.

Em cada placa foi feita uma curva padrão com 7 valores de 1000 pg/mL à 15,6 pg/mL (limite de detecção). Foi feito um controle que correspondeu ao “blank”, ou seja, a sua densidade óptica foi subtraída das densidades ópticas das amostras e da curva padrão. Todas as amostras, controles e pontos da curva foram feitos em duplicata. Para análise, as amostras foram diluídas com o diluente do kit - solução tamponada de proteína com preservativos (1:3).

#### **d. Interleucina-10 (IL-10)**

Esse ensaio aplica a técnica enzimática de imunoensaio do tipo “sanduíche”. Foram utilizadas placas pré-sensibilizadas com anticorpos monoclonais específicos para IL-10. Padrões e amostras foram pipetados nos poços da placa de maneira que qualquer IL-10 se ligasse ao anticorpo imobilizado. Após incubação e lavagem para remoção de substâncias não ligadas, um anticorpo policlonal específico para IL-10 e conjugado à enzima fosfatase alcalina foi adicionado aos poços. Novamente foi feito o procedimento de lavagem para adição do substrato (NADPH) para enzima. Após um período de incubação, uma solução amplificadora foi adicionada iniciando uma reação colorimétrica proporcional à quantidade de IL-10 ligada nas etapas iniciais. A reação foi paralisada com solução de ácido sulfúrico e absorbância foi lida em 490 nm com correção em 690 nm. Este foi um ensaio de alta sensibilidade em que a fosfatase alcalina tem a capacidade de desfosforilar o NADPH em NADH. Este por sua vez atua como um co-fator para as reações catalisadas pelas enzimas amplificadoras que produzem cor.

Em cada placa foi feita uma curva padrão com 7 valores de 50 pg/mL à 0,78 pg/mL (limite de detecção). Foi feito um controle que correspondeu ao “blank”, ou seja, a sua densidade óptica foi subtraída das densidades ópticas das amostras e da curva padrão. Todas as amostras, controles e pontos da curva foram feitos em duplicata. As amostras foram diluídas com o diluente do kit – solução tamponada de proteína (1:3).

#### 4.4. Análise dos resultados

A análise de variância (ANOVA) foi o teste escolhido para a comparação inter-grupo da idade dos pacientes, duração da terapia e quantidade de anestésicos, já que essas variáveis se apresentaram como quantitativas, com distribuição normal e variâncias homogêneas. Da mesma forma, os dados de IP foram comparados pelo ANOVA. O teste de Tukey foi feito para avaliar a significância estatística das diferenças observadas no ANOVA.

O IG não apresentou características de distribuição normal e variâncias homogêneas e por isso sua análise foi feita com teste não-paramétrico. O teste de Friedman foi utilizado para comparação intra-grupo e o teste de Kruskal-Wallis para comparação inter-grupo. Esses testes também foram utilizados para avaliação do SS, PMG, PS e NICr. A comparação da PS e NICr nas diferentes categorias de profundidade de sondagem foi feita pelo teste de Wilcoxon.

O qui-quadrado foi o teste utilizado na análise de variáveis nominais: necessidade de retratamento, número de sítios que ganharam 2 mm ou mais de inserção e número de sítios com profundidade de sondagem  $\geq 5$  mm. A eficiência da terapia foi avaliada pelo teste de Kruskal-Wallis.

A análise estatística da frequência de detecção dos patógenos *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *A. actinomycetemcomitans* foi feita pelo exato de Fischer e qui-quadrado. Já na avaliação quantitativa foi usado o teste de Friedman para comparação intra-grupo, teste de Kruskal-Wallis para análise inter-grupo e Wilcoxon para comparação entre categorias de profundidade de sondagem. Da mesma forma, os resultados da avaliação imunológica foram avaliados pelo teste de Friedman para comparação intra-grupo, teste de Kruskal-Wallis para análise inter-grupo e Wilcoxon para comparação entre categorias de profundidade de sondagem.

Todos os testes com exceção do qui-quadrado e exato de Fisher tiveram o paciente como unidade amostral. Análises foram feitas no SAS Software 2001 (versão 8.2) e no Bio Estat (versão 3.0), sendo adotado um nível de significância de 5%.

## 5. RESULTADOS

Dentre os 52 pacientes selecionados para o estudo, dois foram excluídos em virtude do não comparecimento às consultas mensais para reavaliação e manutenção periodontal. Sendo assim, 50 pacientes concluíram o presente estudo. Doze compuseram o grupo RAR, 12 o grupo RAR/AB, 13 o grupo DB e 13 o grupo DB/AB. Esses pacientes possuíam um total de 418 sítios com profundidade de sondagem  $\geq 5$  mm e sangramento à sondagem, 104 no grupo RAR, 94 no grupo RAR/AB, 108 no grupo DB e 112 no grupo DB/AB.

Os pacientes do grupo RAR, em média, foram instrumentados por 74,5 minutos, enquanto nos pacientes do grupo RAR/AB a instrumentação teve duração de 78,1 minutos ( $p > 0,05$ ). Os valores desses dois grupos foram estatisticamente superiores aos dos grupos DB e DB/AB, respectivamente, 37,1 minutos e 37,0 minutos. A quantidade de anestésicos utilizados durante a terapia ativa também foi maior ( $p < 0,05$ ) nos grupos RAR e RAR/AB, respectivamente, 7,2 e 7,4 tubetes do que a utilizada nos grupos DB e DB/AB, respectivamente, 5,8 e 5,5 tubetes.

O perfil dos pacientes nos quatro grupos apresentou homogeneidade quanto à idade e gênero. Além disso, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos nos parâmetros clínicos antes do tratamento (Tabela 2).

Tabela 2: Médias iniciais (desvio padrão – d.p) da idade, gênero e parâmetros clínicos da população tratada nos grupo RAR, RAR/AB, DB e DB/AB.

PARÂMETROS	RAR	RAR/AB	DB	DB/AB	P*
<b>IDADE</b>	38,9 (33-55)	45,2 (36-53)	45,5 (30-66)	46,0 (34-55)	NS
<b>% HOMENS</b>	25	41,67	30,77	30,77	
<b>IP<sup>†</sup> (%)</b>	40,26 (± 16,66)	30,20 (± 16,09)	30,48 (± 12,77)	37,61 (±13,64)	NS
<b>IG<sup>†</sup> (%)</b>	20,45 (± 8,22)	13,99 (± 11,17)	14,65 (± 6,88)	12,00 (± 14,63)	NS
<b>SS<sup>†</sup> (%)</b>	26,15 (± 10,82)	26,34 (± 10,76)	29,78 (± 13,45)	26,80 (± 12,36)	NS
<b>PMG<sup>§</sup> (mm)</b>	2,13 (± 1,05)	2,11 (± 0,80)	2,05 (± 0,84)	1,75 (± 0,62)	NS
<b>PS<sup>§</sup> (mm)</b>	6,28 (± 0,47)	6,15 (± 0,52)	6,17 (± 0,49)	6,40 (± 0,43)	NS
<b>NICr<sup>§</sup> (mm)</b>	8,41 (± 1,09)	8,26 (± 0,96)	8,22 (± 1,02)	8,15 (±0,55)	NS

\* ANOVA para idade, IP e Kruskal-Wallis para os parâmetros IG, SS, PMG, PS e NICr. <sup>†</sup> Os valores de IP, IG e SS representam médias da boca toda. <sup>§</sup> Os valores de PMG, PS e NICr representam médias dos sítios com PS inicial ≥ 5 mm e SS.

### 5.1. Índice de Placa (IP) e Índice Gengival (IG)

O IP foi mantido em baixos níveis durante todo o estudo, sem diferença estatística entre os grupos (Gráfico 1). O IG foi reduzido e mantido em baixos níveis também durante todo o estudo, sem diferença entre os grupos em nenhum dos períodos de avaliação (Gráfico 2).

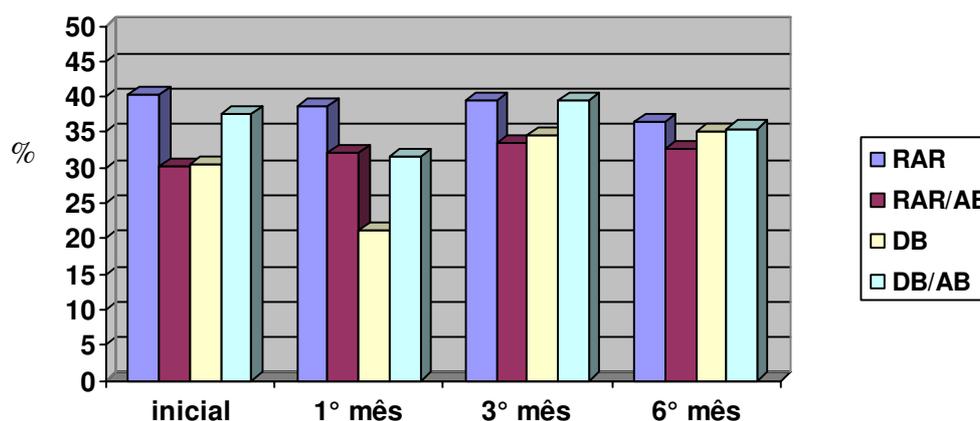


Gráfico 1: Histograma ilustrativo do IP inicial e nas reavaliações. Avaliações intra e inter-grupo feitas pela ANOVA.

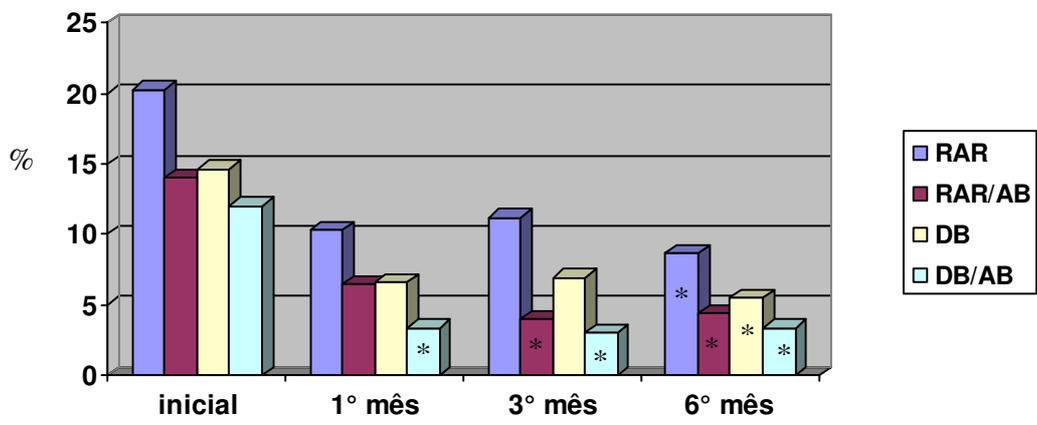


Gráfico 2: Histograma ilustrativo do IG inicial e nas reavaliações. \* indica diferença estatística intra-grupo em relação aos valores iniciais ( $p < 0,05$ ). Avaliação intra-grupo feita pelo teste de Friedman e inter-grupo pelo teste Kruskal-Wallis.

**5.2. Parâmetros clínicos – SS, PMG, PS e NICr**

Os parâmetros clínicos SS, PMG, PS e NICr foram avaliados especificamente nas bolsas inicialmente com profundidade de sondagem  $\geq 5$  mm e sangramento à sondagem. Dessa forma, a avaliação intra-grupo mostrou redução estatisticamente significativa no SS já no primeiro mês após o tratamento e essa redução foi mantida até o final do estudo, sem diferença entre os grupos (Gráfico 3).

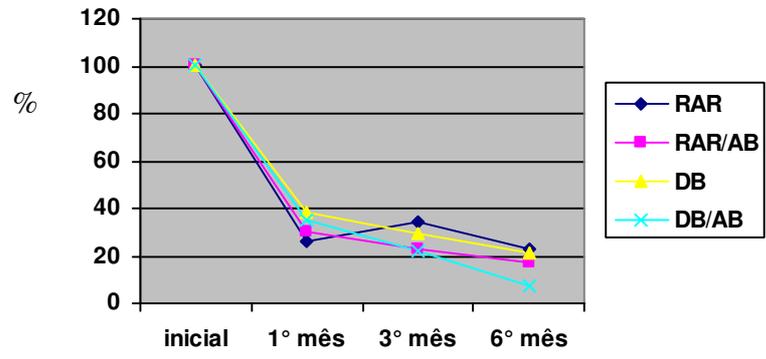


Gráfico 3: Efeito dos tratamentos no SS dos sítios inicialmente com PS  $\geq 5$  mm e SS. Análise estatística feita com Kruskal-Wallis (intergrupo) e Friedman (intragrupo).

Não foi observada diferença estatística entre os grupos quanto aos parâmetros PMG e NICr em nenhum dos períodos de avaliação. No primeiro e sexto mês de pós-operatório, a PS do grupo DB foi estatisticamente maior que a PS dos grupos RAR/AB e DB/AB. Diferença nos parâmetros PMG, PS e NICr foi observada dentro de cada grupo nos diferentes tempos (Tabela 3).

Tabela 3: Médias (d.p) da posição da margem gengival (PMG); profundidade de sondagem (PS) e nível clínico de inserção relativo (NICr), em mm, nos grupos RAR, RAR/AB, DB e DB/AB, em diferentes períodos de avaliação.

TEMPO	RAR	RAR/AB	DB	DB/AB
<b>PMG</b>				
<b>Inicial</b>	2,13 (± 0,97)Aa	2,11 (± 0,97)Aa	2,05 (± 1,06)Aa	1,75 (± 1,14)Aa
<b>1 mês</b>	3,13 (± 0,78)Ab	3,35 (± 0,80)Ab	2,60 (± 0,85)Ab	3,12 (± 0,88)Ab
<b>3 meses</b>	3,08 (± 0,83)Ab	3,20 (± 0,83)Ab	3,11 (± 0,77)Ab	3,12 (± 0,85)Ab
<b>6 meses</b>	3,19 (± 1,13)Ab	3,26 (± 0,87)Ab	2,87 (± 1,00)Ab	3,15 (± 1,05)Ab
<b>PS</b>				
<b>Inicial</b>	6,28 (± 0,47)Aa	6,15 (± 0,52)Aa	6,17 (± 0,49)Aa	6,40 (± 0,43)Aa
<b>1 mês</b>	3,92 (± 0,68)ABb	3,61 (± 0,67)Bb	4,46 (± 0,83)Aab	3,62 (± 0,54)Bb
<b>3 meses</b>	3,71 (± 0,68)Ab	3,18 (± 0,55)Ab	3,59 (± 1,08)Ab	3,47 (± 0,57)Ab
<b>6 meses</b>	3,35 (± 0,33)ABb	3,11 (± 0,46)Bb	3,72 (± 0,50)Ab	3,12 (± 0,41)Bb
<b>NICr</b>				
<b>Inicial</b>	8,41 (± 1,09)Aa	8,26 (± 0,96)Aa	8,22 (± 1,02)Aa	8,15 (± 0,55)Aa
<b>1 mês</b>	7,05 (± 1,18)Ab	6,96 (± 1,13)Aa	7,06 (± 0,96)Aa	6,74 (± 1,01)Ab
<b>3 meses</b>	6,79 (± 1,13)Ab	6,38 (± 0,93)Ab	6,70 (± 0,89)Ab	6,59 (± 1,00)Ab
<b>6 meses</b>	6,54 (± 1,34)Ab	6,37 (± 0,71)Ab	6,59 (± 0,85)Ab	6,27 (± 0,89)Ab

Médias seguidas de letras distintas (maiúscula na horizontal e minúscula na vertical dentro de cada parâmetro) diferem entre si ( $p < 0,05$ ). Análise estatística feita com Kruskal-Wallis (intergrupo) e Friedman (intragrupo).

Todos os grupos apresentaram, portanto, aumento no grau de recessão gengival. Nesse período, a diferença da PMG em relação ao inicial foi de 1,06 mm no grupo RAR, 1,15 mm no grupo RAR/AB, 0,82 mm no grupo DB e 1,40 mm no grupo DB/AB.

Os quatro grupos também apresentaram ganho no nível clínico de inserção. Esse ganho foi observado já no primeiro mês após o tratamento e mantido até o final do estudo. Dessa forma, aos 6 meses, o ganho no NICr foi de 1,87 mm no grupo RAR, 1,89 mm no grupo RAR/AB, 1,63 mm no grupo DB e 1,88 mm no grupo DB/AB.

Em relação à redução da PS, esta foi, no 1° e 6° mês de pós-operatório, inferior no grupo DB quando comparada aos grupos RAR/AB e DB/AB. A média de redução da PS foi no 6° mês 2,93 mm no grupo RAR, 3,04 mm no grupo RAR/AB, 2,45 mm no grupo DB e 3,28 mm no grupo DB/AB.

A avaliação quanto à redução da PS e ao ganho de NICr foi feita também separadamente em bolsas inicialmente moderadas (5 a 6 mm) e profundas ( $\geq 7$  mm). Diferença estatística entre os grupos foi observada na redução da PS, em bolsas moderadas. No primeiro e sexto mês essa redução foi inferior no grupo DB quando comparado ao grupo DB/AB. No terceiro mês a redução na PS foi novamente menor no grupo DB quando comparada à do grupo DB/AB, mas também menor do que a observada no grupo RAR/AB. As bolsas profundas apresentaram maior redução da PS e maior ganho de NICr que as bolsas moderadas (Tabela 4).

Tabela 4: Médias  $\pm$  d.p da redução da profundidade de sondagem (PS) e ganho no nível clínico de inserção relativo (NICr), em mm, em bolsas moderadas e profundas dos grupos RAR, RAR/AB, DB e DB/AB, em diferentes períodos de avaliação.

GRUPOS	PS			NIC		
	1° mês	3° mês	6° mês	1° mês	3° mês	6° mês
<b>Moderadas</b>						
RAR	1,90 $\pm$ 0,66A	2,02 $\pm$ 0,77AB	2,27 $\pm$ 0,43AB	1,14 $\pm$ 1,31A	1,27 $\pm$ 1,30A	1,52 $\pm$ 1,46A
RAR/AB	2,10 $\pm$ 0,50B	2,39 $\pm$ 0,52B	2,47 $\pm$ 0,26AB	0,99 $\pm$ 0,58A	1,33 $\pm$ 0,84A	1,43 $\pm$ 0,64A
DB	1,41 $\pm$ 0,57A	1,81 $\pm$ 0,59A	1,93 $\pm$ 0,62A	0,83 $\pm$ 1,04A	1,13 $\pm$ 0,99A	1,21 $\pm$ 0,98A
DB/AB	2,31 $\pm$ 0,62B	2,55 $\pm$ 0,46B	2,76 $\pm$ 0,40B	1,15 $\pm$ 0,83A	1,36 $\pm$ 0,79A	1,58 $\pm$ 0,64A
<b>Profundas</b>						
RAR	3,16 $\pm$ 0,96A	3,51 $\pm$ 0,58A	3,94 $\pm$ 0,49A	1,75 $\pm$ 0,97A	2,18 $\pm$ 0,85A	2,40 $\pm$ 1,04A
RAR/AB	3,19 $\pm$ 0,89A	3,94 $\pm$ 0,92A	3,99 $\pm$ 0,92A	1,70 $\pm$ 1,57A	2,73 $\pm$ 1,04A	2,61 $\pm$ 0,77A
DB	2,79 $\pm$ 0,94A	3,31 $\pm$ 0,88A	3,44 $\pm$ 0,76A	1,70 $\pm$ 1,14A	2,20 $\pm$ 0,98A	2,41 $\pm$ 0,92A
DB/AB	3,35 $\pm$ 0,97A	3,40 $\pm$ 0,95A	3,88 $\pm$ 0,74A	1,68 $\pm$ 1,57A	1,79 $\pm$ 1,46A	2,22 $\pm$ 1,45A

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si ( $p < 0,05$ ). Análise estatística feita com Kruskal-Wallis (intergrupo).

Não houve diferença entre os grupos também quanto a porcentagem de sítios que ganharam 2 mm ou mais de inserção (NICr), em nenhum dos períodos de avaliação. O grupo RAR apresentou no 1°, 3° e 6° mês após o tratamento 38,46%, 48,08% e 56,73% dos sítios com ganho de inserção  $\geq 2$  mm, respectivamente. O grupo RAR/AB apresentou nesses mesmos períodos, respectivamente, 32,98%, 46,81% e 58,51% dos sítios com ganho de NICr  $\geq 2$  mm. No grupo DB esses valores foram, respectivamente, 28,70%, 44,44% e 43,52% e no grupo DB/AB 41,07%, 53,57% e 58,03%.

A avaliação do percentual de sítios com PS  $\geq 5$  mm permitiu a observação de que os grupos RAR/AB e DB/AB apresentaram em todos os períodos pós-operatórios valores estatisticamente menores do que os observados

nos grupos RAR e DB ( $p=0,003$ ). Todos os grupos apresentaram redução significativa na porcentagem de sítios com  $PS \geq 5$  mm (Gráfico 4).

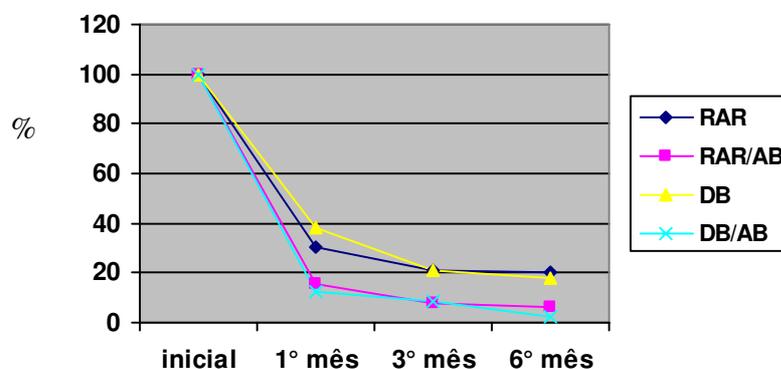


Gráfico 4: Porcentagem de sítios apresentando profundidade de sondagem  $\geq 5$  mm nos diferentes períodos de avaliação. Análise estatística feita pelo Qui-quadrado.

### 5.3. Retratamento e eficiência do tratamento

A porcentagem de sítios que exigiram retratamento acompanhou o padrão de resposta observado na quantidade de sítios com  $PS \geq 5$  mm. Aos 3 meses os grupos RAR/AB (2,13%) e DB/AB (2,68%) apresentaram valores estatisticamente menores do que os observados nos grupos RAR (9,61%) e DB (10,18%) ( $p=0,01$ ). Após os 6 meses, o grupo DB (9,26%) continuou apresentando valores maiores que o grupo DB/AB (0%) ( $p=0,004$ ) (Gráfico 5).

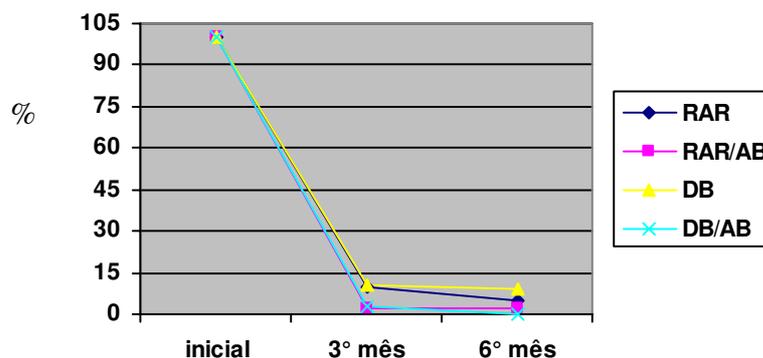


Gráfico 5: Porcentagem de áreas tratadas e retratadas nos quatro grupos inicialmente e aos 3 e 6 meses após o tratamento. Análise estatística feita com Qui-quadrado.

A eficiência terapêutica expressa o tempo de tratamento necessário para “fechar” ( $PS \leq 4$  mm) uma bolsa e foi obtida dividindo o tempo de instrumentação pelo número de bolsas com  $PS \leq 4$  mm aos 6 meses. Diferença estatística foi observada entre as eficiências dos tratamentos RAR e DB/AB (Tabela 5).

Tabela 5: Eficiência do tratamento (em minutos) nos diferentes grupos

	RAR	RAR/AB	DB	DB/AB
Eficiência	7,84*	6,81	5,95	5,40*

\*  $p < 0,05$  pelo teste de Kruskal-Wallis

#### 5.4. Desconforto do paciente

A avaliação do desconforto ao tratamento foi feita dividindo os pacientes em dois grandes grupos, já que o objetivo foi avaliar o efeito da instrumentação em sessão única sobre o desconforto pós-operatório. O grupo 1 englobou os pacientes que receberam RAR e RAR/AB, enquanto o grupo 2 foi composto por aqueles que receberam DB e DB/AB.

Não foi observada diferença entre esses dois grupos quanto à intensidade da sensação dolorosa experimentada nos dois primeiros dias após instrumentação (Tabela 6).

Tabela 6: Freqüências relativas (%) da intensidade de dor experimentada pelos pacientes no dia do final da terapia e no dia seguinte

Intensidade de dor	Dia da instrumentação		Dia seguinte à instrumentação	
	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 1	GRUPO 2
<b>0</b>	29,4%	15,4%	64,7%	50,0%
<b>1-3</b>	47,0%	49,9 %	29,4%	34,8%
<b>4-6</b>	17,7%	23,3%	5,9%	11,4%
<b>7-10</b>	5,9%	11,4%	0%	3,8%

Também não foi observada diferença entre os grupos nas respostas às outras perguntas do questionário. Apenas um único paciente do grupo DB relatou a ocorrência de aumento da temperatura corpórea no dia da terapia. Dentre os outros efeitos adversos apresentados pelos pacientes foram citados dor de cabeça (5 pacientes), mal-estar (2 pacientes) e hipersensibilidade radicular (3 pacientes) (Tabela 7).

Tabela 7: Uso de analgésicos e freqüências relativas (%) dos efeitos adversos experimentados pelos pacientes no dia do final da terapia e no dia seguinte

QUESTÕES	GRUPO 1		GRUPO 2	
	Não	Sim	Não	Sim
<b>Uso de analgésicos no dia</b>	76,5%	23,5%	47,1%	52,9%
<b>Uso de analgésicos no dia seguinte</b>	100%	0%	88,5%	11,5%
<b>Aumento de temperatura no dia</b>	100%	0%	96,2%	3,8%
<b>Aumento de temperatura no dia seguinte</b>	100%	0%	100%	0%
<b>Aftas</b>	82,4%	17,6%	92,3%	7,7%
<b>Outros efeitos</b>	64,7%	35,3%	80,8%	19,2%

### 5.5. Efeitos adversos da antibioticoterapia e adesão ao tratamento

A avaliação dos efeitos adversos da antibioticoterapia foi feita dividindo os pacientes em dois grandes grupos. O grupo INPE englobou os pacientes que receberam RAR e DB, enquanto o grupo INPE/AB foi composto por aqueles que receberam RAR/AB e DB/AB. Essa forma de avaliação não permitiu a detecção de diferença entre os dois grupos. Apesar disso, apenas os pacientes do grupo 2 apresentaram outros efeitos adversos, como dor de cabeça (1 paciente) e mal-estar (1 paciente) (Tabela 8).

Tabela 8: Freqüências relativas (%) dos efeitos adversos à antibioticoterapia experimentados pelos pacientes no dia do final da terapia e no dia seguinte

QUESTÕES	GRUPO INPE		GRUPO INPE/AB	
	Não	Sim	Não	Sim
<b>Desconforto gastro-intestinal</b>	77,8%	22,5%	83,3%	16,7%
<b>Outro efeito adverso</b>	100%	0%	88,9%	11,1%

Quanto a adesão à antibioticoterapia, todos os pacientes devolveram os recipientes utilizados para armazenamento das cápsulas. Entretanto, 4 pacientes do grupo 2 (22,2%) devolveram os recipientes ainda com cápsulas, assim deixaram de tomar, respectivamente, 28,57%, 47,62%, 14,28% e 23,81% da quantidade total de comprimidos. Neste mesmo grupo, 7 pacientes (38,9%) afirmaram não ter tomado os medicamentos conforme orientação devido a ingestão dos medicamentos em horários incorretos.

## 5.6. Parâmetros microbiológicos

Um total de 300 amostras de biofilme subgengival foram avaliadas, incluindo 150 amostras de bolsas moderadas (5 a 6 mm) e 150 de bolsas profundas ( $\geq 7$  mm).

### *P. gingivalis* (Pg)

Não foi detectada diferença estatística na prevalência de *P. gingivalis* entre os grupos. Também não foram encontradas diferenças entre bolsas moderadas e profundas quanto a prevalência de Pg dentro de cada grupo e período de avaliação ( $p < 0,05$ ). Entretanto, redução estatisticamente significativa foi encontrada dentro de cada grupo e de cada categoria de profundidade de sondagem. Essa redução foi detectada aos 3 meses pós-terapia e mantida até o final do estudo (Tabela 9).

Com relação às quantificações de *P. gingivalis*, não foi detectada diferença entre os grupos, em nenhum dos períodos de avaliação. Também não foi detectada diferenças entre bolsas inicialmente moderadas e profundas. Houve,

entretanto, redução significativa no número de Pg dentro de cada grupo e categoria de profundidade de sondagem (Tabela 9).

Tabela 9: Prevalência (%) e Quantidade (log10) de *P. gingivalis* nos diferentes grupos, inicialmente e aos 3 e 6 meses após o tratamento

			RAR	RAR/AB	DB	DB/AB
<b>Pg/B1</b>	<b>%</b>	Inicial	75,0% Aa	75,0% Aa	69,2% Aa	75,0% Aa
		3 meses	16,7% Ab	0,0% Ab	7,7% Ab	0,0% Ab
		6 meses	9,1% Ab	10,0% Ab	0,0% Ab	0,0% Ab
	<b>Log 10</b>	Inicial	5,5 (± 5,8) Aa	6,2 (± 6,6) Aa	6,5 (± 7,0) Aa	5,5 (± 5,8) Aa
		3 meses	4,1 (± 4,6) Ab	0,0 Ab	2,2 (± 2,8) Ab	0,0 Ab
		6 meses	1,7 (± 2,2) Ab	0,8 (± 1,4) Ab	0,0 Ab	0,0 Ab
<b>Pg/B2</b>	<b>%</b>	Inicial	70,0% Aa	72,7% Aa	76,9% Aa	84,6% Aa
		3 meses	0,0% Ab	9,1% Ab	15,4% Ab	0,0% Ab
		6 meses	0,0% Ab	10,0% Ab	25,0% Ab	0,0% Ab
	<b>Log 10</b>	Inicial	6,2 (± 6,5) Aa	6,0 (± 6,2) Aa	6,9 (± 7,5) Aa	6,9 (± 7,3) Aa
		3 meses	0,0 Ab	2,2 (± 2,7) Ab	7,0 (± 7,5) Aab	0,0 Ab
		6 meses	0,0 Ab	2,7 (± 3,2) Ab	3,2 (± 3,7) Ab	0,0 Ab

Médias seguidas de letras distintas (maiúscula na horizontal e minúscula na vertical dentro de cada parâmetro) diferem entre si ( $p < 0,05$ ). Análise estatística da prevalência de Pg feita com qui-quadrado. Análise estatística da quantidade de Pg feita com o teste de Friedman para comparação intragrupo, Kruskal-Wallis para análise inter-grupo e Wilcoxon para comparação entre categorias de profundidade de sondagem. B1: Bolsa moderada; B2: Bolsa profunda.

### *T. forsythia* (Tf)

Não foi detectada diferença estatística na prevalência de Tf entre os grupos. Entretanto, reduções significantes foram encontradas dentro de cada grupo e categoria de profundidade de sondagem com exceção das bolsas profundas nos grupos RAR e RAR/AB. Também foram encontradas diferenças na prevalência de Tf entre bolsas moderadas e profundas no grupo DB, aos 3 e 6 meses, havendo maior quantidade de bolsas inicialmente profundas ainda positivas para Tf do que bolsas moderadas nessa situação (Tabela 10).

Na avaliação da quantidade de Tf não foi detectada diferença entre os grupos, em nenhum dos períodos de avaliação. Diferença na quantidade de Tf em bolsas inicialmente moderadas e profundas foi detectada no grupo DB/AB, antes do tratamento, havendo menor quantidade de Tf em bolsas moderadas do que nas bolsas profundas. Redução significativa no número de Tf só foi observada nos grupos DB e DB/AB, tanto em bolsas moderadas quanto profundas (Tabela 10).

Tabela 10: Prevalência (%) e Quantidade (log10) de *T. forsythia* nos diferentes grupos, inicialmente e aos 3 e 6 meses após o tratamento

			RAR	RAR/AB	DB	DB/AB
<b>Tf/B1</b>	<b>%</b>	Inicial	41,7% Aa	25,0% Aa	61,5% Aa	58,3% Aa
		3 meses	16,7% Ab	0,0% Ab	0,0% Ab	0,0% Ab
		6 meses	0,0% Ab	0,0% Ab	0,0% Ab	0,0% Ab
	<b>Log 10</b>	Inicial	5,6 (± 5,9) Aa	4,6 (± 5,0) Aa	5,6 (± 6,0) Aa	5,3 (± 5,5) Aa
		3 meses	4,4 (± 4,8) Aa	0,0 Aa	0,0 Ab	0,0 Ab
		6 meses	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Ab	0,0 Ab
<b>Tf/B2</b>	<b>%</b>	Inicial	50,0% Aa	27,3% Aa	76,9% Aa	66,7% Aa
		3 meses	10,0% Aa	9,1% Aa	30,8% Ab*	0,0% Ab
		6 meses	20,0% Aa	9,1% Aa	30,8% Ab*	0,0% Ab
	<b>Log 10</b>	Inicial	6,2 (± 6,6) Aa	4,9 (± 5,2) Aa	5,6 (± 5,6) Aa	5,7 (± 5,8) Aa*
		3 meses	3,3 (± 3,8) Aa	3,1 (± 3,7) Aa	4,6 (± 5,1) Ab	0,0 Ab
		6 meses	4,0 (± 4,5) Aa	3,9 (± 4,4) Aa	4,5 (± 4,8) Ab	0,0 Ab

Médias seguidas de letras distintas (maiúscula na horizontal e minúscula na vertical dentro de cada parâmetro) diferem entre si ( $p < 0,05$ ). Análise estatística da prevalência de Tf feita com qui-quadrado e exato de Fischer. \* Indica diferença ( $p = 0,04$ ) na prevalência de Tf entre bolsas profundas e moderadas. Análise estatística da quantidade de Tf feita com o teste de Friedman para comparação intra-grupo, teste de Kruskal-Wallis para análise inter-grupo e Wilcoxon para comparação entre categorias de profundidade de sondagem. \* Indica diferença ( $p < 0,05$ ) nos níveis de Tf entre bolsas profundas e moderadas. B1: Bolsa moderada; B2: Bolsa profunda.

#### *A. actinomycetemcomitans* (Aa)

Não foi detectada diferença estatística na prevalência de *A. actinomycetemcomitans* entre os grupos. Também não foi detectada diferença na

prevalência de Aa entre bolsas inicialmente moderadas e profundas. Além disso, redução intra-grupo significativa na porcentagem de sítios positivos para Aa só foi encontrada nas bolsas inicialmente profundas do grupo RAR (Tabela 11).

Na avaliação da quantidade de Aa não foi detectada diferença entre os grupos, em nenhum dos períodos de avaliação. Da mesma forma, não foi detectada diferença intra-grupo e entre bolsas inicialmente moderadas e profundas nos diferentes grupos e períodos de avaliação. (Tabela 11).

Tabela 11: Prevalência (%) e Quantidade (log<sub>10</sub>) de *A. actinomycetemcomitans* nos diferentes grupos, inicialmente e aos 3 e 6 meses após o tratamento

			RAR	RAR/AB	DB	DB/AB
<b>Aa/B1</b>	<b>%</b>	Inicial	41,67% Aa	33,33% Aa	38,46% Aa	16,67% Aa
		3 meses	16,67% Aa	16,67% Aa	15,38% Aa	0,00% Aa
		6 meses	8,33% Aa	16,67% Aa	8,33% Aa	0,00% Aa
	<b>Log 10</b>	Inicial	3,72 (± 4,13) Aa	3,83 (± 4,33) Aa	3,64 (± 4,01) Aa	3,45 (± 3,82) Aa
		3 meses	3,19 (± 3,73) Aa	2,69 (± 3,17) Aa	2,92 (± 3,43) Aa	0,00 Aa
		6 meses	1,81 (± 2,35) Aa	1,94 (± 2,31) Aa	2,18 (± 2,74) Aa	0,00 Aa
<b>Aa/B2</b>	<b>%</b>	Inicial	40,00% Aa	18,18% Aa	46,15% Aa	7,69% Aa
		3 meses	10,00% Aa	0,00% Aa	23,08% Aa	0,00% Aa
		6 meses	0,00% Ab	0,00% Aa	8,33% Aa	0,00% Aa
	<b>Log 10</b>	Inicial	4,43 (± 4,66) Aa	3,07 (± 3,57) Aa	4,18 (± 4,37) Aa	3,81 (± 4,35) Aa
		3 meses	1,95 (± 2,44) Aa	0,00 Aa	3,58 (± 4,11) Aa	0,00 Aa
		6 meses	0,00 Aa	0,00 Aa	1,94 (± 2,49) Aa	0,00 Aa

Médias seguidas de letras distintas (maiúscula na horizontal e minúscula na vertical dentro de cada parâmetro) diferem entre si ( $p < 0,05$ ). Análise estatística da prevalência de Pg feita com qui-quadrado e exato de Fischer. Análise estatística da quantidade de Pg feita com o teste de Friedman para comparação intragrupo, teste de Kruskal-Wallis para análise inter-grupo e Wilcoxon para comparação entre categorias de profundidade de sondagem. B1: Bolsa moderada; B2: Bolsa profunda.

## 5.7. Parâmetros imunológicos

Um total de 400 amostras de fluido gengival foram avaliadas, incluindo 200 amostras de bolsas moderadas (5 a 6 mm) e 200 de bolsas profundas ( $\geq 7$  mm).

#### Prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>)

Não foi detectada diferença estatística nos níveis de PGE<sub>2</sub> entre os grupos dentro de cada categoria de profundidade de sondagem. Também não foram encontradas diferenças nesses níveis entre bolsas moderadas e profundas dentro de cada grupo e período de avaliação. Redução estatisticamente significativa foi encontrada apenas na avaliação intra-grupo dos grupos RAR/AB e DB/AB dentro de cada categoria de profundidade de sondagem (Tabela 12).

Tabela 12: Níveis de PGE<sub>2</sub> (pg/mL) nos diferentes grupos, inicialmente e no 1<sup>o</sup>, 3<sup>o</sup> e 6<sup>o</sup> mês após o tratamento

PGE <sub>2</sub>	RAR	RAR/AB	DB	DB/AB
<b>B1</b>				
Inicial	1089,0 ( $\pm$ 814,3)Aa	1132,7 ( $\pm$ 1053,9)Aa	727,3 ( $\pm$ 1116,2)Aa	1083,5 ( $\pm$ 1322,3)Aa
1 mês	1082,2 ( $\pm$ 674,9)Aa	922,6 ( $\pm$ 1172,2)Aab	710,7 ( $\pm$ 826,3)Aa	1234,8 ( $\pm$ 1727,8)Aa
3 <sup>o</sup> mês	1311,6 ( $\pm$ 1449,2)Aa	496,93 ( $\pm$ 686,70)Ab	507,5 ( $\pm$ 510,6)Aa	751,4 ( $\pm$ 761,8)Aab
6 <sup>o</sup> mês	380,4 ( $\pm$ 377,7)Aa	333,72 ( $\pm$ 338,74)Ab	356,5 ( $\pm$ 305,3)Aa	435,5 ( $\pm$ 652,5)Ab
<b>B2</b>				
Inicial	1550,0 ( $\pm$ 1469,9)Aa	1790,1 ( $\pm$ 3792,2)Aa	478,1 ( $\pm$ 616,5)Aa	1457,4 ( $\pm$ 2561,3)Aa
1 mês	751,9 ( $\pm$ 992,5)Aa	802,4 ( $\pm$ 1284,4)Aab	1139,9 ( $\pm$ 1790,5)Aa	1345,6 ( $\pm$ 2424,0)Aab
3 <sup>o</sup> mês	345,0 ( $\pm$ 243,7)Aa	466,1 ( $\pm$ 601,9)Ab	399,1 ( $\pm$ 329,5)Aa	795,7 ( $\pm$ 757,0)Aab
6 <sup>o</sup> mês	285,3 ( $\pm$ 315,0)Aa	346,5 ( $\pm$ 437,3)Aab	247,4 ( $\pm$ 214,3)Aa	345,2 ( $\pm$ 442,7)Ab

Médias seguidas de letras distintas (maiúscula na horizontal e minúscula na vertical dentro de cada parâmetro) diferem entre si ( $p < 0,05$ ). Análise estatística feita com o teste de Friedman para comparação intragrupo, teste de Kruskal-Wallis para análise inter-grupo e Wilcoxon para comparação entre categorias de profundidade de sondagem.

#### Interleucina-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )

Não foi detectada diferença estatística nos níveis de IL-1 $\beta$  entre os grupos dentro de cada categoria de profundidade de sondagem. Também não

foram encontradas diferenças nesses níveis entre bolsas moderadas e profundas dentro de cada grupo e período de avaliação. Redução estatisticamente significativa foi encontrada na avaliação intra-grupo dentro de cada categoria de profundidade de sondagem de todos os grupos exceto o de RAR (Tabela 14).

Tabela 14: Níveis de IL-1 $\beta$  (pg/mL) nos diferentes grupos, inicialmente e no 1 $^{\circ}$ , 3 $^{\circ}$  e 6 $^{\circ}$  mês após o tratamento

IL-1 $\beta$	RAR	RAR/AB	DB	DB/AB
<b>B1</b>				
Inicial	82,10 ( $\pm$ 37,76) Aa	151,40 ( $\pm$ 163,39) Aa	91,42 ( $\pm$ 55,03) Aa	113,80 ( $\pm$ 91,19) Aa
1 mês	150,34 ( $\pm$ 249,47) Aa	60,78 ( $\pm$ 63,43) Aab	30,26 ( $\pm$ 30,09) Ab	60,80 ( $\pm$ 85,19) Aab
3 $^{\circ}$ mês	59,47 ( $\pm$ 42,87) Aa	98,75 ( $\pm$ 86, 97) Aab	43,77 ( $\pm$ 51,75) Ab	72,79 ( $\pm$ 85,44) Aab
6 $^{\circ}$ mês	23,07 ( $\pm$ 22,01) Aa	41,90 ( $\pm$ 30,50) Ab	28,17 ( $\pm$ 21,50) Ab	30,80 ( $\pm$ 32,93) Ab
<b>B2</b>				
Inicial	78,98 ( $\pm$ 45,79) Aa	134,33 ( $\pm$ 124,10) Aa	80,48 ( $\pm$ 51,45) Aa	86,22 ( $\pm$ 47,89) Aa
1 mês	33,27 ( $\pm$ 24,80) Aa	67,62 ( $\pm$ 74,45) Aab	41,24 ( $\pm$ 42,81) Aab	49,28 ( $\pm$ 41,34) Aab
3 $^{\circ}$ mês	43,58 ( $\pm$ 37,57) Aa	51,88 ( $\pm$ 35,98) Aab	41,38 ( $\pm$ 31,06) Aab	78,09 ( $\pm$ 92,07) Aab
6 $^{\circ}$ mês	26,50 ( $\pm$ 27,43) Aa	45,77 ( $\pm$ 60,93) Ab	24,59 ( $\pm$ 15,11) Ab	33,32 ( $\pm$ 17,02) Ab

Médias seguidas de letras distintas (maiúscula na horizontal e minúscula na vertical dentro de cada parâmetro) diferem entre si ( $p < 0,05$ ). Análise estatística feita com o teste de Friedman para comparação intragrupo, teste de Kruskal-Wallis para análise inter-grupo e Wilcoxon para comparação entre categorias de profundidade de sondagem.

### Interferon- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )

Não foi detectada diferença estatística nos níveis de IFN- $\gamma$  entre os grupos dentro de cada categoria de profundidade de sondagem. Aumento estatisticamente significativo foi encontrado na avaliação intra-grupo das bolsas moderadas do grupo DB/AB (Tabela 15). Foram encontradas diferenças nos níveis de IFN- $\gamma$  entre bolsas moderadas e profundas nos grupos RAR/AB, DB e DB/AB aos 6 meses após tratamento. Em função disso, as categorias de profundidade de sondagem foram agrupadas, independentemente do grupo (Gráfico 6).

Tabela 15: Níveis de IFN- $\gamma$  (pg/mL) nos diferentes grupos, inicialmente e no 1<sup>o</sup>, 3<sup>o</sup> e 6<sup>o</sup> mês após o tratamento

IFN $\gamma$	RAR	RAR/AB	DB	DB/AB
<b>B1</b>				
Inicial	0,72 ( $\pm$ 0,83) Aa	5,70 ( $\pm$ 7,75) Aa	8,74 ( $\pm$ 21,09) Aa	0,91 ( $\pm$ 1,37) Aa
1 mês	5,14 ( $\pm$ 9,62) Aa	4,42 ( $\pm$ 6,43) Aa	5,09 ( $\pm$ 6,71) Aa	2,72 ( $\pm$ 3,78) Aab
3 <sup>o</sup> mês	4,19 ( $\pm$ 4,53) Aa	8,32 ( $\pm$ 11,43) Aa*	12,06 ( $\pm$ 11,11) Aa*	4,86 ( $\pm$ 8,97) Aab
6 <sup>o</sup> mês	8,64 ( $\pm$ 12,30) Aa	11,58 ( $\pm$ 9,14) Aa*	8,73 ( $\pm$ 12,49) Aa*	4,21 ( $\pm$ 4,61) Ab*
<b>B2</b>				
Inicial	0,72 ( $\pm$ 1,07) Aa	7,35 ( $\pm$ 12,63) Aa	3,27 ( $\pm$ 7,25) Aa	0,94 ( $\pm$ 1,42) Aa
1 mês	2,28 ( $\pm$ 3,91) Aa	4,00 ( $\pm$ 8,45) Aa	3,51 ( $\pm$ 3,48) Aa	1,94 ( $\pm$ 3,63) Aa
3 <sup>o</sup> mês	3,05 ( $\pm$ 4,39) Aa	1,60 ( $\pm$ 2,89) Aa*	4,18 ( $\pm$ 4,99) Aa*	3,32 ( $\pm$ 4,63) Aa
6 <sup>o</sup> mês	1,82 ( $\pm$ 2,29) Aa	4,12 ( $\pm$ 7,49) Aa*	7,15 ( $\pm$ 13,63) Aa*	1,46 ( $\pm$ 1,64) Aa*

Médias seguidas de letras distintas (maiúscula na horizontal e minúscula na vertical dentro de cada parâmetro) diferem entre si ( $p < 0,05$ ). Análise estatística feita com o teste de Friedman para comparação intragrupo, Kruskal-Wallis para análise inter-grupo e Wilcoxon para comparação entre categorias de profundidade de sondagem. \* Indica diferença ( $p < 0,05$ ) nos níveis de IFN $\gamma$  em bolsas profundas e moderadas.

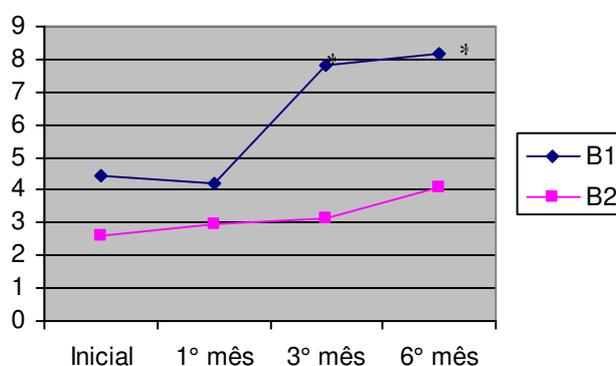


Gráfico 6: Níveis de IFN- $\gamma$  (pg/mL) em bolsas moderadas (B1) e profundas (B2) nos diferentes períodos de avaliação. \* Indica diferença ( $p < 0,05$ ) nos níveis de IFN- $\gamma$  entre bolsas moderadas e profundas.

### Interleucina-10 (IL-10)

Não foi detectada diferença estatística nos níveis de IL-10 entre os grupos dentro de cada categoria de profundidade de sondagem. Diferença nesses níveis entre bolsas moderadas e profundas foi encontrada apenas nos valores iniciais do grupo DB/AB. Aumento estatisticamente significativo foi encontrado na avaliação intra-grupo apenas das bolsas profundas do grupo DB (Tabela 16).

Tabela 16: Níveis de IL-10 (pg/mL) nos diferentes grupos, inicialmente e no 1º, 3º e 6º mês após o tratamento

IL-10	RAR	RAR/AB	DB	DB/AB
<b>B1</b>				
Inicial	0,94 (± 1,92) Aa	3,32 (± 4,59) Aa	1,93 (± 3,44) Aa	3,43 (± 6,10) Aa*
1 mês	1,36 (± 2,82) Aa	3,01 (± 4,69) Aa	9,15 (± 15,73) Aa	7,26 (± 13,95) Aa
3º mês	5,38 (± 9,83) Aa	2,20 (± 4,67) Aa	3,68 (± 2,99) Aa	14,10 (± 24,95) Aa
6º mês	1,06 (± 1,49) Aa	0,80 (± 1,44) Aa	9,68 (± 14,53) Aa	4,15 (± 6,83) Aa
<b>B2</b>				
Inicial	3,33 (± 6,63) Aa	4,27 (± 7,32) Aa	1,10 (± 1,72)Aa	8,51 (± 14,98) Aa*
1 mês	2,37 (± 3,27) Aa	0,81 (± 1,16) Aa	5,34 (± 8,83)Aab	16,15 (± 32,09) Aa
3º mês	0,98 (± 1,24) Aa	0,93 (± 1,37) Aa	3,88 (± 4,03)Ab	11,66 (± 36,04) Aa
6º mês	1,11 (± 1,58) Aa	6,03 (± 15,92) Aa	4,57 (± 7,27)Ab	2,68 (± 4,46) Aa

Médias seguidas de letras distintas (maiúscula na horizontal e minúscula na vertical dentro de cada parâmetro) diferem entre si ( $p < 0,05$ ). Análise estatística feita com o teste de Friedman para comparação intragrupo, teste de Kruskal-Wallis para análise inter-grupo e Wilcoxon para comparação entre categorias de profundidade de sondagem. \* Indica diferença ( $p < 0,05$ ) nos níveis iniciais de IL-10 em bolsas profundas e moderadas.

A IL-10 foi avaliada também na proporção IL-1 $\beta$ /IL-10. Não foi observada diferença entre os grupos e a redução intra-grupo foi observada apenas nos grupos DB e DB/AB. Valores maiores desta proporção foram encontrados nas bolsas profundas do grupo DB/AB aos 3 meses quando comparado às bolsas moderadas (Tabela 17).

Tabela 17: Proporção IL-1 $\beta$ /IL-10 nos diferentes grupos, inicialmente e no 1<sup>o</sup>, 3<sup>o</sup> e 6<sup>o</sup> mês após o tratamento.

IL-1 $\beta$ /IL-10	RAR	RAR/AB	DB	DB/AB
<b>B1</b>				
Inicial	91,98 ( $\pm$ 92,36) Aa	145,89 ( $\pm$ 175,04) Aa	195,63 ( $\pm$ 297,94) Aa	116,27 ( $\pm$ 110,94) Aa
1 mês	161,14 ( $\pm$ 278,5) Aa	49,96 ( $\pm$ 67,43) Aa	21,96 ( $\pm$ 31,28) Ab	83,50 ( $\pm$ 146,24) Aab
3 <sup>o</sup> mês	42,95 ( $\pm$ 38,97) Aa	102,40 ( $\pm$ 123,02) Aa	43,44 ( $\pm$ 104,37) Aab	30,89 ( $\pm$ 52,01) Ab*
6 <sup>o</sup> mês	26,23 ( $\pm$ 28,60) Aa	70,22 ( $\pm$ 71,66) Aa	73,27 ( $\pm$ 150,97) Aab	28,18 ( $\pm$ 34,98) Ab
<b>B2</b>				
Inicial	329,54 ( $\pm$ 582,16) Aa	83,99 ( $\pm$ 82,95) Aa	415,38 ( $\pm$ 1074,54)Aa	126,61 ( $\pm$ 292,39) Aa
1 mês	115,37 ( $\pm$ 222,77) Aa	67,59 ( $\pm$ 76,16) Aa	51,40 ( $\pm$ 78,12)Aab	76,94 ( $\pm$ 157,99) Aab
3 <sup>o</sup> mês	353,43 ( $\pm$ 697,29) Aa	85,86 ( $\pm$ 134,30) Aa	16,31 ( $\pm$ 14,54)Ab	116,17 ( $\pm$ 178,86) Aab*
6 <sup>o</sup> mês	19,79 ( $\pm$ 22,73) Aa	206,36 ( $\pm$ 307,80) Aa	14,67 ( $\pm$ 17,91)Ab	36,83 ( $\pm$ 52,36) Ab

Médias seguidas de letras distintas (maiúscula na horizontal e minúscula na vertical dentro de cada parâmetro) diferem entre si ( $p < 0,05$ ). Análise estatística feita com o teste de Friedman para comparação intragrupo, teste de Kruskal-Wallis para análise inter-grupo e Wilcoxon para comparação entre categorias de profundidade de sondagem. \* Indica diferença ( $p < 0,05$ ) na proporção IL-1 $\beta$ /IL-10 em bolsas profundas e moderadas.

## 6. DISCUSSÃO

O debridamento periodontal baseia-se nas evidências de que a completa remoção do cálculo dental e do cimento “contaminado” pode não ser necessária para a cura periodontal (Nyman *et al.*, 1988). Trata-se de uma instrumentação radicular leve, mais conservadora, feita com instrumentos sônicos ou ultra-sônicos cujo objetivo é tornar a superfície radicular biocompatível (Smart *et al.* 1990). Este conceito foi aplicado clinicamente a partir da evolução do conceito de desinfecção da boca toda em estágio único que se preocupa com a recolonização da bolsa periodontal (Quirynen *et al.*, 1995).

Na tentativa de obter resultados mais previsíveis ao final da terapia periodontal, além do tratamento em sessão única, os antimicrobianos também têm sido utilizados. A combinação de metronidazol com amoxicilina tem sido bastante investigada e apresenta resultados promissores (Flemming *et al.*, 1998a; Winkel *et al.*, 2001). Diante do que foi relatado, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do debridamento periodontal associado ou não à administração sistêmica de metronidazol e amoxicilina no tratamento de pacientes portadores de periodontite crônica avançada.

No presente estudo, não foram observadas diferenças entre os grupos nos valores da variável primária, o NICr. Entretanto, todos os tratamentos foram capazes de promover, de maneira significativa, redução do SS, ganho no NICr e redução de PS. Aos 6 meses, a porcentagem de sítios que não precisaram de retratamento por estarem com ausência de sinais de inflamação foi maior que 90% em todos os grupos.

Essas observações clínicas foram acompanhadas da ausência de diferenças entre os grupos na prevalência e quantidade de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Isso significa que o debridamento periodontal produz resultados clínicos e microbiológicos semelhantes aos da raspagem e alisamento radicular e que a utilização da antibioticoterapia sistêmica não traz benefícios adicionais ao nível clínico de inserção.

Além disso, todos os tratamentos foram capazes de promover redução nos níveis de *P. gingivalis*. A redução deste microorganismo após a instrumentação periodontal é um relato freqüente na literatura (Socransky *et al.*, 1991; Miyazaki *et al.*, 2003; Sakamoto *et al.*, 2004). A média de redução na prevalência deste patógeno foi, aos 6 meses, no grupo RAR 67,91%, no grupo RAR/AB 63,86%, no grupo DB 60,57% e no DB/AB 70,80%. Esses valores são ligeiramente superiores aos dos trabalhos de Takamatsu *et al.* (1999) e DOUNGUDOMDACHA *et al.* (2001) nos quais a redução na prevalência de Pg, um mês após a raspagem e alisamento radicular, foi 43,3% e 46,9%, respectivamente.

Em relação à *T. forsythia*, todos os tratamentos foram efetivos em promover sua eliminação em bolsas moderadas. Em bolsas profundas, redução na prevalência e quantidade de Tf só foi observada nos grupos de DB e DB/AB. Vale ressaltar que os trabalhos iniciais de desinfecção de boca toda em estágio único com ou sem utilização da clorexidina mostraram a possibilidade de erradicação de *T. forsythia*, situação difícil de ser observada no esquema convencional de raspagem e alisamento radicular (Quirynen *et al.*, 1999; Takamatsu *et al.*, 1999; Darby *et al.*, 2001).

Estas reduções nos níveis de *P. gingivalis* e de *T. forsythia* foram observadas 3 meses após o tratamento e mantidas durante os 6 meses do estudo. Isso provavelmente é decorrente da adequada instrumentação subgingival e do rigoroso controle de placa supragingival realizado durante a terapia periodontal de suporte que dificultaram a recolonização subgingival por esses periodontopatógenos (Umeda *et al.*, 2004). Essa possibilidade de manutenção longitudinal das alterações microbiológicas conseguidas com o tratamento periodontal foi também mostrada por Haffajee *et al.* (2006) ao agruparem vários estudos feitos no Instituto Forsyth.

A comparação da freqüência inicial de detecção destes microorganismos entre os estudos é dificultada por sofrer influências da técnica microbiológica utilizada e da população estudada. Neste último tópico, Haffajee *et al.* (2004) mostraram variações importantes no perfil microbiológico do ambiente

subgingival de pacientes com periodontite crônica de quatro diferentes países, mesmo após ajuste para idade, gênero, profundidade de sondagem e hábito de fumar.

Quanto à técnica microbiológica utilizada, os limites de detecção e as particularidades de cada microorganismo influem bastante. Assim, ao contrário do presente estudo em que a frequência de detecção de *P. gingivalis* (74,81%), foi maior que a de *T. forsythia* (50,92%), Takamatsu *et al.* (1999) utilizando sondas de DNA encontraram uma maior frequência de *T. forsythia* (100%) do que de *P. gingivalis* (84,6%), em pacientes periodontais. Já Yang *et al.* (2004) fazendo um ensaio de imunofluorescência indireta com anticorpos policlonais específicos encontraram valores mais próximos aos do presente estudo, 85,7% para *P. gingivalis* e 60,7% para *T. forsythia*. Diferença, principalmente na detecção de *T. forsythia* é também encontrada entre a cultura e o PCR em tempo real (Lau *et al.*, 2004).

A prevalência de *A. actinomycetemcomitans* foi a menor entre os três patógenos analisados. Essa prevalência variou de 16,67% a 41,67% em bolsas moderadas e de 7,69% a 40,00% em bolsas profundas. Isso pode explicar porque, apesar da aparente redução na frequência de detecção e na contagem do microorganismo inclusive à limites abaixo dos níveis detectáveis nos grupos de RAR, RAR/AB e DB/AB, em bolsas profundas, não houve significância estatística. Da mesma forma, Cugini *et al.* (2000) com uma frequência de detecção inicial menor que 20% não conseguiram observar efeito da terapia periodontal não-cirúrgica nos níveis de Aa.

A frequência de detecção de Aa em periodontite crônica tem realmente se mostrado baixa, como relatado por Boutaga *et al.* (2006) - 27,4% e Lau *et al.* (2004) - 18,8%, apesar da população brasileira ter valores um pouco mais altos (Colombo *et al.* 2005). De acordo com esses autores a principal razão para a não detecção de redução nos níveis de *A. actinomycetemcomitans* após a terapia periodontal não-cirúrgica é a capacidade deste microorganismo de invadir os

tecidos periodontais. Entretanto, no presente estudo, mesmo com a utilização de antibióticos sistêmicos a redução não foi estatisticamente significativa.

A eliminação ou suficiente supressão dos principais periodontopatógenos no ambiente subgengival é essencial para o sucesso da terapia periodontal (Umeda *et al.*, 2004). Neste contexto, apesar da ausência de diferença entre os grupos, o tratamento DB/AB foi o único tratamento capaz de promover redução à níveis abaixo dos detectáveis de todos os patógenos avaliados aos 3 e 6 meses após o tratamento, tanto em bolsas moderadas e profundas.

De acordo com o Simpósio Mundial de Periodontia (Consensus report), em 1996, o *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *T. forsythia* são os verdadeiros patógenos periodontais. Apesar desta especificidade, a doença periodontal não pode ser tratada apenas com antimicrobianos sistêmicos porque esses patógenos residem em uma estrutura organizada denominada biofilme que lhes confere maior resistência aos antibióticos (Anwar *et al.*, 1992). Assim, como foi feito no presente estudo, a antibioticoterapia deve ser utilizada sempre em associação com a terapia mecânica.

O momento de administração dos antibióticos em relação à instrumentação mecânica pode ser, portanto, um fator importante para o resultado do tratamento. Apesar disso, pouco foi estudado sobre este assunto. No presente estudo, de acordo com Loesche & Giordano (1994), o antibiótico foi administrado ao final da instrumentação periodontal. Entretanto, mais recentemente foi demonstrado que a antibioticoterapia é mais efetiva quando realizada simultaneamente à raspagem e alisamento radicular do que quando é feita antes ou depois desta terapia mecânica (Arguello, 2006). Essa informação talvez ajude a explicar a ausência de diferença, no presente estudo, entre os grupos de RAR e RAR/AB.

Diante disso, no presente estudo, talvez o debridamento periodontal tenha se beneficiado mais do esquema de antibioticoterapia. Isso é mostrado na avaliação da redução da profundidade de sondagem. No primeiro e terceiro mês

após o tratamento, o grupo DB apresentou valores inferiores aos dos grupos RAR/AB e DB/AB. E no sexto mês este grupo continuava apresentando menor redução de PS que o grupo DB/AB.

De maneira semelhante ao NICr e à avaliação microbiológica não foram observadas diferenças entre os tratamentos nos parâmetros imunológicos. Esses parâmetros apresentaram uma grande variabilidade entre os indivíduos e isso pode ter contribuído para esta similaridade entre os grupos. A avaliação imunológica tem importante significado já que é o balanço dos níveis locais das citocinas, cuja produção ocorre em resposta aos periodontopatógenos e suas toxinas, que determina o resultado da resposta imune. De maneira específica, as citocinas avaliadas ( $PGE_2$ , IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  e IL-10) têm papel importante no início e progressão da periodontite.

A  $PGE_2$  e a IL-1 $\beta$  são importantes mediadores do processo inflamatório, sendo a segunda até chamada de citocina pró-inflamatória. A  $PGE_2$  é um produto do metabolismo do ácido aracdônico produzido principalmente por macrófagos estimulados por lipopolissacarídeos. Esses macrófagos também secretam a IL-1 $\beta$  que estimula fibroblastos a produzir  $PGE_2$ . Esta pode ser considerada um bom indicador de inflamação já que está aumentada em casos de periodontite e gengivite quando comparada aos controles (Nakashima *et al.*, 1994).

A  $PGE_2$  atua inibindo a síntese de colágeno pelos fibroblastos e estimulando a reabsorção óssea (Arai *et al.*, 1995; Dziak, 1993). Offenbacher *et al.* (1986) propuseram que o nível de  $PGE_2$  fosse usado como um preditor de risco para atividade de doença. No presente estudo, redução deste mediador foi observada apenas após os tratamentos associados à antibioticoterapia o que poderia indicar a presença de inflamação sub-clínica nos grupos RAR e DB. Somente o acompanhamento longitudinal poderá determinar se a utilização da antibioticoterapia diminui a recorrência da doença, já que Preshaw *et al.* (1999) não puderam usar as concentrações de  $PGE_2$  no fluido gengival como um preditor de risco confiável para futura destruição de osso alveolar. No presente estudo, a quantidade inicial de  $PGE_2$  nos pacientes que apresentaram necessidade de

retratamento aos 3 meses (874,34 pg/mL) não foi diferente da quantidade desta citocina naqueles que não apresentaram necessidade de retratamento (1350,84 pg/mL).

A IL-1 $\beta$  é um polipeptídeo produzido por monócitos, macrófagos, linfócitos, fibroblastos e células endoteliais que tem uma grande variedade de funções. Ela estimula a proliferação de células endoteliais e fibroblastos e nestas células aumenta a síntese de procolágeno tipo I e fibronectina (Yoshinara *et al.*, 2004). Entretanto, a produção irrestrita desta citocina leva à destruição de tecido periodontal (Figueredo *et al.*, 1999). Inclusive o nível de IL-1 $\beta$  foi identificado por Gamonal *et al.* (2000) como um bom marcador de atividade de doença. Esses mesmos autores não detectaram a presença desta citocina no fluido gengival de pacientes saudáveis, o que pode significar que um dos objetivos da terapia periodontal é reduzir os níveis de IL-1 $\beta$ .

Diante disso, todos os tratamentos do presente estudo, com exceção da RAR, foram capazes de reduzir o processo inflamatório, visto que houve redução dos níveis de IL-1 $\beta$  dentro de cada grupo. Novamente esta é uma informação importante já que pode significar a presença de inflamação subgengival não detectável clinicamente. Isso significa que a avaliação de citocinas pode ser um método mais sensível do que a avaliação clínica para determinação dos resultados da terapia. No trabalho de Oringer *et al.* (2002) o tratamento de RAR também não promoveu redução nos níveis de IL-1 $\beta$ . A incapacidade da RAR em reduzir os níveis de IL-1 $\beta$  no fluido gengival foi confirmada em outros estudos (Miyazaki *et al.*, 2003; Yoshinari *et al.*, 2004). Já a redução dos níveis de PGE<sub>2</sub> após a terapia periodontal não-cirúrgica parece uma constante na literatura (Alexander *et al.*, 1996; Preshaw *et al.*, 1999).

O IFN- $\gamma$  é, como a IL-1 $\beta$ , uma citocina envolvida na resposta imune do tipo Th1 e induz primariamente a imunidade mediada por células e em função disso está, em geral, aumentada em pacientes com doença periodontal (Górska *et al.*, 2003). Essa citocina tem inclusive sido associada à progressão da doença periodontal (Alpagot *et al.*, 2003). A IL-10, ao contrário, é produzida por linfócitos

do tipo Th2 e inibe a produção de citocina por células do tipo Th1 e também têm efeito inibitório sobre a produção de IL-1, IL-6 e IL-8 por macrófagos e monócitos (Cassatella *et al.*, 1993). Assim, parece que a IL-10 tem efeito anti-inflamatório ou imunossupressor.

No presente estudo, tanto o IFN- $\gamma$  quanto a IL-10 foram encontrados em pequenas quantidades quando comparado aos níveis de PGE<sub>2</sub> e IL-1 $\beta$ . No caso do IFN- $\gamma$  isso pode ser decorrente da utilização de um kit de sensibilidade normal e não de alta sensibilidade como para todas as outras citocinas. Além da ausência de diferença entre os grupos, conforme observado na literatura para RAR, nenhum tratamento foi capaz de reduzir as concentrações de IFN- $\gamma$  no fluido gengival (Tsai *et al.*, 2007). Esta citocina, dentre todas, pareceu ser a única a ter diferentes níveis em bolsas moderadas e profundas após o tratamento.

No caso da IL-10, a frequência de detecção em pacientes periodontais é menor quando comparada à frequência de detecção da IL-1 $\beta$  (Gamonal *et al.*, 2000; Górska *et al.*, 2003). O padrão de resposta observado com a IL-10 não combina com os resultados clínicos de redução do SS, PS e ganho de NIC. Apenas nas bolsas profundas do grupo DB foi observado, após o tratamento, aumento nos níveis desta citocina. Esse aumento pode ser um bom indicador de resolução do quadro inflamatório já que a frequência de detecção desta citocina é maior em tecidos gengivais saudáveis do que em tecidos periodontalmente doentes (Górska *et al.*, 2003; Goutoudi *et al.*, 2004). O tratamento periodontal convencional de RAR parece realmente não alterar a quantidade de IL-10 no fluido gengival (Gamonal *et al.*, 2000).

O balanço entre citocinas associadas à resposta imune dos tipos Th1 e Th2, que são mutuamente inibitórias, é que determina o resultado da infecção. Em função disso, foi feita a razão entre IL-1 $\beta$  e IL-10. Nesta avaliação, apenas os grupos de DB e DB/AB foram capazes de reduzir essa proporção. Essa redução é desejável já que Górska *et al.* (2003) demonstraram que as citocinas inflamatórias dominaram a resposta aos periodontopatógenos no tecido gengival de pacientes

periodontais e que a proporção IL-1 $\beta$ /IL-10 estava fortemente associada à inflamação gengival e severidade da periodontite.

Diante do exposto, a utilização dos antibióticos sistêmicos não foi capaz de promover melhora nos padrões de resposta à terapia periodontal não-cirúrgica como também demonstrado por Flemmig *et al.* (1998a) e Xajigeorgiou *et al.* (2006). Entretanto, existe uma série de outros estudos que mostram benefício clínico e microbiológico da administração sistêmica de antibióticos como adjunto à terapia periodontal mecânica (Berglundh *et al.*, 1998; Winkel *et al.*, 2001; Rooney *et al.*, 2002; Guerrero *et al.*, 2005). A comparação entre os estudos é dificultada pela falta de padronização no diagnóstico da doença periodontal; diferentes formas de avaliação dos dados; uso de antibióticos com concentrações diferentes por períodos diferentes e em momentos diversos; utilização de diversas técnicas para avaliação microbiológica e diferentes níveis de adesão dos pacientes à antibioticoterapia.

Um ponto em comum entre os trabalhos que observaram efeito benéfico da antibioticoterapia foi o pobre desempenho dos grupos controles, principalmente nos parâmetros clínicos. Isso faz com que a ausência de efeito benéfico adicional da antibioticoterapia, no presente estudo, possa ser decorrente da boa resposta biológica dos grupos de RAR e DB. No presente estudo, o ganho de NIC, em bolsas profundas, observado nesses grupos foi 2,40 mm e 2,61 mm, respectivamente. Esses valores são superiores aos encontrados na literatura (Cobb, 1996).

Winkel *et al.* (2001) mostraram que a utilização de metronidazol e amoxicilina como adjuntos da terapia periodontal não-cirúrgica promove melhores resultados clínicos e microbiológicos que o uso da terapia periodontal não-cirúrgica isoladamente. Entretanto, neste trabalho, o ganho de NIC observado nas bolsas profundas do grupo controle foi de 1,46 mm. Ehmke *et al.* (2005) também demonstraram benefício clínico da utilização de antibioticoterapia, entretanto, apresentaram ganho de NIC de 1,3 mm em bolsas profundas de pacientes tratados apenas com a terapia mecânica.

No presente estudo, não foram observadas diferenças entre os grupos tratados com ou sem antibiótico ao se avaliar a variável principal do estudo (NICr). Entretanto, algumas análises isoladas, mas clinicamente importantes, mostraram efeito da antibioticoterapia sistêmica. Esta, aos 3 e 6 meses após o tratamento, reduziu a necessidade de retratamento. O critério para retratamento foi escolhido baseado na junção de dois parâmetros clínicos que, de acordo com Vanooteghem *et al.* (1987), apresentam uma precisão diagnóstica de 50%. A precisão diagnóstica relata a proporção de áreas com sangramento à sondagem e profundidade de sondagem residual que apresentaram perda de inserção. Sangramento à sondagem e retratamento são parâmetros relacionados à porcentagem de áreas que retornaram à saúde e à porcentagem de áreas que ainda necessitam de terapia. Esses são dois dos fatores utilizados como critério para determinar a significância clínica da terapia periodontal (Killooy, 2002).

Em relação à antibioticoterapia, os resultados do presente estudo são verdadeiros para a prescrição de amoxicilina 375 mg e metronidazol 250 mg três vezes ao dia por 7 dias. Esta dosagem foi usada em outros estudos que mostraram o efeito benéfico do uso adjunto de antibióticos na terapia periodontal (Berglundh *et al.*, 1998; Ehmke *et al.*, 2005) e efeitos adversos sérios não tem sido reportados com a sua utilização, apenas moderado desconforto gastro-intestinal. Entretanto, não existe um consenso na literatura sobre a ideal dosagem e duração da terapia com antibióticos.

Na indicação da antibioticoterapia sistêmica para tratamento da doença periodontal é preciso, portanto, avaliar os riscos e benefícios. Um dos riscos é a ocorrência de reações adversas à medicação. Entretanto, no presente estudo, 22,5% dos pacientes que receberam placebo relataram a ocorrência de efeitos adversos e 27,8% dos pacientes sobre antibioticoterapia apresentaram esse mesmo relato.

Outro risco está relacionado ao desenvolvimento de resistência bacteriana. Ainda não é claro a frequência deste evento durante a utilização de antibióticos para tratamento da doença periodontal. A maior preocupação é a de

que a antibioticoterapia leve ao surgimento de novas espécies resistentes. Feres *et al.*, (2002) conseguiram demonstrar que, após 14 dias de antibioticoterapia sistêmica, a maioria das cepas ou espécies resistentes ao metronidazol ou amoxicilina já era encontrada antes do período experimental. Entretanto, neste estudo o aparecimento de cepas ou espécies resistentes talvez não pudesse ser detectado pela metodologia empregada.

Estudos têm mostrado maior incidência de cepas resistentes em países que apresentam maior consumo de antibióticos e pobre adesão ao esquema de antibioticoterapia (Baquero *et al.*, 1991; Voss *et al.*, 1994). No presente estudo, 77,8% dos pacientes ingeriram todos os comprimidos, mas apenas 61,1% relataram ter seguido rigidamente as indicações da antibioticoterapia. A discrepância entre esses números se deve ao fato de alguns pacientes relatarem o uso da medicação em horários não indicados. Esse resultado pode também ter contribuído para que o efeito benéfico adicional da antibioticoterapia não fosse observado no presente estudo, já que de acordo com Guerrero *et al.* (2007) a incompleta aderência ao esquema de antibioticoterapia está associada à piores resultados clínicos. Guerrero *et al.* (2005) apresentaram problemas semelhantes em relação à adesão dos pacientes ao esquema de antibioticoterapia.

Os resultados clínicos, microbiológicos e imunológicos do presente estudo reafirmam a semelhança da resposta biológica da periodontite crônica avançada ao debridamento periodontal e à raspagem e alisamento radicular. Esses achados ampliam a indicação do debridamento periodontal que de acordo com Zanatta *et al.* (2005) era um tratamento eficaz para pacientes com periodontite crônica moderada. Isso demonstra que a indicação do debridamento periodontal não está atrelada aos casos de doença periodontal pouco severa.

Dessa forma, uma instrumentação mais leve e em menor tempo permitiu alcançar o objetivo da terapia periodontal de controle da infecção. O trabalho com ultra-som nesse caso exige a utilização, como no presente estudo, de pontas mais finas específicas para o ambiente subgingival. A própria utilização do ultra-som favorece a redução do tempo de tratamento (Copulos *et al.*, 1993).

Este instrumento é tão efetivo na remoção do biofilme, cálculo dental e endotoxinas bacterianas da superfície radicular quanto os instrumentos manuais (Oosterwaal *et al.*, 1987; Checchi & Pelliccione, 1988). Entretanto, os instrumentos ultra-sônicos permitem menor remoção de estrutura dental e causam menor desconforto pós-operatório (Schmidlin *et al.*, 2001; Derdilopoulou *et al.*, 2007). Em relação à textura da superfície radicular, ainda existem controvérsias, mas parece pouco provável que a topografia da superfície subgengival seja um fator determinante na formação do biofilme subgengival (Quirynen & Bollen, 1995).

Essa redução no tempo de instrumentação e instrumentação em sessão única pode ser responsável pela redução dos efeitos adversos relatados por Mongardini *et al.* (1999) com a desinfecção de boca toda em estágio único. No presente estudo, um único paciente dos grupos DB e DB/AB relatou a ocorrência de elevação da temperatura corpórea. Nesses grupos apenas 2 pacientes relataram o aparecimento de aftas.

O debridamento periodontal, entretanto, não promove melhores resultados clínicos e microbiológicos que a terapia convencional como poderia sugerir a interpretação dos estudos de desinfecção de boca toda em estágio único (Mongardini *et al.*, 1999; Quirynen *et al.* 2000). Isso acontece provavelmente porque, no presente estudo, ao contrário dos estudos do grupo citado, foram tomadas medidas, como controle de placa mensal, instrução de higiene oral e instrumentação no intervalo de uma semana na terapia convencional, que dificultaram a recolonização após instrumentação por quadrantes. Assim, novamente os resultados da terapia convencional no presente estudo foram superiores aos encontrados por Quirynen *et al.* (1999).

Uma das preocupações acerca do debridamento periodontal é o menor número de consultas de motivação para controle do biofilme supragengival. Esse problema foi superado no presente estudo pela realização de um adequado preparo inicial composto por um mínimo de 3 consultas nas quais os pacientes receberam instruções sobre as causas e conseqüências da doença periodontal

bem como sobre técnicas de prevenção e, além disso, os fatores de retenção de placa foram removidos.

Outra preocupação é a maior possibilidade de recorrência da doença. Essa avaliação exige o acompanhamento longitudinal dos pacientes do presente estudo, entretanto os resultados microbiológicos de 6 meses após o debridamento não indicam maior prevalência nos grupos de debridamento de *P. gingivalis* e *T. forsythia*, que são fortes indicadores de risco para doença periodontal (Grossi *et al.*, 1994; Yano-Higuchi *et al.*, 2000). Além disso, Tomasi *et al.*, 2006 não demonstraram maior incidência de recorrência da doença após o debridamento periodontal quando comparado à raspagem e alisamento radicular por sextantes.

Diante dos resultados do presente estudo, a descontaminação radicular pode ser obtida através de medidas simples e rápidas de maneira que o debridamento periodontal pode ser indicado para tratamento da periodontite crônica. Assim, fatores como preferência do paciente e do profissional também devem ser avaliados na escolha do tratamento. Quanto à antibioticoterapia, benefícios da sua utilização foram encontrados apenas em relação ao retratamento, mas a avaliação dos riscos e benefícios é importante para determinar a sua correta indicação.

## **7. CONCLUSÃO**

O debridamento periodontal é uma abordagem justificável para tratamento da periodontite crônica avançada e o benefício clínico da utilização adjunta de metronidazol e amoxicilina parece ser a redução da necessidade de retratamento. As avaliações microbiológica e imunológica não mostraram benefícios da antibioticoterapia utilizada.

## REFERÊNCIAS\*

1. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J.* 1975; 25: 229-235.
2. Adriaens PA, De Boever JA, Loesche WJ. Bacterial invasion in root cementum and radicular dentin of periodontally diseased teeth in humans. A reservoir of periodontopathic bacteria. *J Periodontol.* 1988; 59: 222-230.
3. Alexander DCC, Martin JC, King PJ, Powell JR, Caves J, Cohen ME. Interleukin-1 beta, prostaglandin E<sub>2</sub>, and immunoglobulin G subclasses in gingival crevicular fluid in patients undergoing periodontal therapy. *J Periodontol.* 1996; 67: 755-762.
4. Aleo JJ, De Renzis FA, Farber PA, Varboncoeur AP. The presence and biologic activity of cementum-bound endotoxin. *J Periodontol.* 1974; 45: 672-5.
5. Alpagot T, Font K, Lee A. Longitudinal evaluation of GCF IFN- $\gamma$  levels and periodontal status in HIV<sup>+</sup> patients. *J Clin Periodontol.* 2003; 30: 944-948.
6. Anderson GB, Palmer JA, Bye FL, Smith BA, Caffesse RG. Effectiveness of subgingival scaling and root planing: Single versus multiple episodes of instrumentation. *J Periodontol.* 1996; 67: 367-373.
7. Andrade ED. Uso clínico dos antimicrobianos. In: Andrade ED. *Terapêutica medicamentosa em Odontologia.* 1 ed. São Paulo: Artes Médicas; 2000. p. 65-92.
8. Anwar H, Strap JL, Costerton JW. Establishment of aging biofilms: possible mechanism of bacterial resistance to antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 1992; 36: 1347-1351.
9. Apatzidou DA, Kinane DF. Quadrant root planing versus same-day full-mouth root planing. I. Clinical findings. *J Clin Periodontol.* 2004; 31: 132-40.
10. Arai H, Nomura Y, Kinoshita M et al. Response of human gingival fibroblasts to prostaglandins. *J Periodont Res.* 1995; 30: 303-311

---

\* De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseadas na norma do International Committee of Medical Journals Editors – Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade como Medline.

11. Arguello EI. Timing of systemic antibiotic usage in periodontal therapy. *J Periodontol.* 2006; 77: 1459.
12. Asikainen S, Alaluusua S, Saxen L. Recovery of *A. actinomycetemcomitans* from teeth, tongue and saliva. *J Periodontol.* 1991; 62: 203-206.
13. Badersten A, Nilveus R, Egelberg J. Effect of nonsurgical periodontal therapy. II. Severely advanced periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1984; 11: 63-76.
14. Baquero F, Martinez-Beltran J, Loza E. A review of antibiotic resistance patterns of *Streptococcus pneumoniae* in Europe. *J Antimicrob Chemother.* 1991; 28 Suppl C: 31-38.
15. Berglundh T, Krok L, Liljenberg B, Westfelt E, Serino G, Lindhe J. The use of metronidazole in the treatment of advanced periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1998; 25: 354-362.
16. Bernd G; Opperman R. Estudo clínico entre raspagem radicular e jateamento com bicarbonato de sódio no tratamento da periodontite. *R Periodontia.* 1998; 7: 92-101.
17. Blomlöf L, Friskopp J, Appelgren R, Lindskog S, Hammarstrom L. Influence of granulation tissue, dental calculus and contaminated root cementum on periodontal wound healing. An experimental study in monkeys. *J Clin Periodontol.* 1989; 16: 27-32.
18. Bollen CML, Vandekerckhove BNA, Papaioannou W, van Eldere J, Quirynen M. Full- versus Partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections. A pilot study: long-term microbiological observations. *J Clin Periodontol.* 1996; 23: 960-70.
19. Bollen CML, Mongardini C, Papaioannou W, van Steenberghe D, Quirynen M. The effect of a one stage full-mouth disinfection on different intra-oral niches – Clinical and microbiological observations. *J Clin Periodontol.* 1998; 25: 56-66.
20. Boutaga K, Van Winkelhoff AJ, Vandenbroucke-Grauls CMJE, Savelkoul PHM. Periodontal pathogens: A quantitative comparison of anaerobic culture and real-time PCR. *FEMS Immunology and Medical Microbiology.* 2005; 45: 191-199.

21. Boutaga K, Van Winkelhoff AJ, Vandenbroucke-Grauls CMJE, Savelkoul PHM. The additional value of real-time PCR in the quantitative detection of periodontal pathogens. *J Clin Periodontol.* 2006; 33: 427-433.
22. Braun A, Krause F, Frentzen M, Jepsen S. Efficiency of subgingival calculus removal with the Vector-system compared to ultrasonic scaling and hand instrumentation in vitro. *J Periodontal Res.* 2005; 40: 48-52.
23. Cadosch J, Zimmermann U, Ruppert M, Guindy J, Case D, Zappa U. Root surface debridement and endotoxin removal. *J Periodont Res.* 2003; 38: 229-36.
24. Caffesse RG, Sweeney PL, Smith PA. Scaling and root planning with and without periodontal flap surgery. *J Clin. Periodontol.* 1986; 13: 205-10.
25. Christersson LA, Slots J, Zambon JJ, Genco RJ. Transmission and colonization of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in localized juvenile periodontitis patients *J Periodontol.* 1985; 56: 127-31.
26. Cassatella AM, Meda L, Bonora S, Ceska M, Constantin G. Interleukin 10 (IL-10) inhibits the release of proinflammatory cytokines from human polymorphonuclear leucocytes. Evidence for an autocrine role of tumor necrosis factor and IL-1 $\beta$  in mediating the production of IL-8 triggered by lipopolysaccharide. *J Exp Med.* 1993; 178: 2207-2211.
27. Checchi L, Pelliccioni GA. Hand versus ultrasonic instrumentation in the removal of endotoxins from root surfaces in vitro. *J Periodontol.* 1988; 59: 398-402.
28. Chiew SYT, Wilson M, Davies EH, Kieser JB. Assessment of ultra-sonic debridement of calculus-associated periodontally-involved root surfaces by the limulus amoebocyte lysate assay. An in vitro study. *J Clin Periodontol.* 1991; 18: 240-244.
29. Cobb CM, McCawley TK, Killoy WJ. A preliminary study on the effects of the Nd:YAG laser on root surfaces and subgingival microflora in vivo. *J Periodontol.* 1992; 63: 701-707.

30. Cobb CM. Non-surgical pocket therapy: mechanical. *Ann Periodontol.* 1996; 1: 443-90.
31. Colombo APV, Teles RP, Torres MC, Rosalém Jr W, Mendes MCS, Souto RM *et al.* Effects of non-surgical mechanical therapy on the subgingival microbiota of brazilians with untreated chronic periodontitis: 9-month results. *J Periodontol.* 2005; 76: 778-784.
32. Consensus report for periodontal diseases pathogenesis and microbial factors. *Annals of Periodontology.* 1996; 1: 926-932.
33. Copulos TA, Low SB, Walker CB, Trebilcock YY, Hefti AF. Comparative analysis between a modified ultrasonic tip and hand instruments on clinical parameters of periodontol disease. *J Periodontol.* 1993; 64: 694-700.
34. Cosyn J, Wyn I, De Rouck T, Moradi Sabzevar M. Clinical benefits of subgingival chlorhexidine varnish application as an adjunct to same-day full-mouth root planing: a pilot study. *J Periodontol.* 2006; 77: 1074-9.
35. Cugini MA, Haffajee AD, Smith C, Kent Jr RL, Socransky SS. The effect of scaling and root planning on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases: 12-month results. *J Clin Periodontol.* 2000; 27: 30-36.
36. Darby I, Mooney J, Kinane D. Changes in subgingival microflora and humoral immune response following periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 2001; 28: 796-805.
37. Derdilopoulou FV, Nonhoff J, Neumann K, Kielbassa AM. Microbiological findings after periodontal therapy using curettes, Er:YAG laser, sonic and ultrasonic scalers. *J Clin Periodontol.* 2007; 34: 588-98.
38. De Soete N, Mongardini C, Pauwels M, Haffajee AD, Socransky SS, van Steenberghe D, Quirynen M. One-stage full-mouth disinfection. Long-term microbiological results analyzed by checkerboard DNA-DNA hybridization. *J Periodontol.* 2001; 72: 374-82.
39. Dolezel Bartos J, Voglmayr H, Greilhuber J. Nuclear DNA content and genome size of trout and human. *Cytometry A.* 2003; 51 (2): 127-8.
40. Doungudomdacha S, Rawlinson A, Walsh TF, Douglas CWI. Effect of non-

- surgical periodontal treatment on clinical parameters and the numbers of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* at adult periodontitis sites. J Clin Periodontol. 2001; 28: 437-445.
41. Doyle JJT, Doyle JL. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus. 1990; 12: 13-18.
  42. Drisko CH. The use of locally-delivered doxycycline in the treatment of periodontitis. Clinical results. J Clin Periodontol. 1998; 25: 947-952.
  43. Dziak R. Biochemical and molecular mediators of bone metabolism. J Periodontol. 1993; 64: 407-415.
  44. Ehmke B, Moter A, Beikler T, Milian E, Flemmig TF. Adjunctive antimicrobial therapy of periodontitis: long-term effects on disease progression and oral colonization. J Periodontol. 2005; 76: 749-759.
  45. Figueredo CMS, Ribeiro MSM, Fischer RG, Gustafsson A. Increased interleukin-1 $\beta$  concentration in gingival crevicular fluid as a characteristic of periodontitis. J Periodontol. 1999; 70: 1457-1463.
  46. Feres M, Haffajee AD, Allard K, Som S, Goodson S, Socransky SS. Antibiotic resistance of subgingival species during and after antibiotic therapy. J Clin Periodontol. 2002; 29: 724-735.
  47. Fleischer HC, Mellonig JT, Brayer WK, Gray JL, Barnett JD. Scaling and root planing efficacy in multirrooted teeth. J Periodontol. 1989; 60: 402-409.
  48. Flemmig TF, Milián E, Kopp C, Karch H, Klaiber B. Differential effects of systemic metronidazole and amoxicilin on *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in intraoral habitats. J Clin Periodontol. 1998; 25: 1-10.
  49. Flemming TF, Milián E, Karch H, Klaiber B. Differential clinical treatment outcome after systemic metronidazole and amoxicilina in patients harboring *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and/or *Porphyromonas gingivalis*. J Clin Periodontol. 1998; 25: 380-38.
  50. Flemmig TF. Periodontitis. *Annals of Periodontology* 1999; 4: 32-38.

51. Fujikawa K, O'Leary TJ, Kafrawy AH. The effect of retained subgingival calculus on healing after flap surgery. *J. Periodontol* 1988; 59: 170-5.
52. Gamonal J, Acevedo A, Bascones A, Jorge O, Silva A. Levels of interkin-1 $\beta$ , -8 and -10 and RANTES in gingival crevicular fluid and cell populations in adult periodontitis patients and the effect of periodontal treatment. *J Periodontol.* 2000; 71: 1535-1545.
53. Gonçalves PF, Gurgel BC, Pimentel SP, Sallum EA, Sallum AW, Casati MZ, Nociti FH. Root cementum modulates periodontal regeneration in Class III furcation defects treated by the guided tissue regeneration technique: a histometric study in dogs. *J Periodontol.* 2006; 77: 976-82.
54. Górska R, Gregorek H, Kowalski J, Laskus-Perendyk A, Syczewska M, Madalinski K. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 1046-1052.
55. Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-1 $\beta$  and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. *J Dent.* 2004; 32: 511-520.
56. Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW, Koch G, Dunford RG, Machtei EE et al. Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. *J Periodontol.* 1994; 65: 260-267.
57. Guerrero A, Griffiths GS, Nibali L, Suvan J, Moles DR, Laurell L, Tonetti MS. Adjunctive benefits of systemic amoxicillin and metronidazole in non-surgical treatment of generalized aggressive periodontitis: a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2005; 32: 1096-1107.
58. Guerrero A, Echeverría JJ, Tonetti MS. Incomplete adherence to an adjunctive systemic antibiotic regimen decreases clinical outcomes in generalized aggressive periodontitis patients: a pilot retrospective study. *J Clin Periodontol.* 2007; 84: 897-902.
59. Haffajee AD, Socransky SS, Smith C, Dibart S. Microbial risk indicators for periodontal attachment loss. *J Periodontal Res.* 1991; 26 (3 Pt 2): 293-6.

60. Haffajee AD, Bogren A, Hasturk H, Feres M, Lopez NJ, Socransky SS. Subgingival microbiota of chronic periodontitis subjects from different geographic locations. *J Clin Periodontol.* 2004; 31: 996-1002.
61. Haffajee AD, Teles RP, Socransky SS. The effect of periodontal therapy on the composition of the subgingival microbiota. *Periodontol 2000.* 2006; 42: 219-258.
62. Herrera D, Sanz M, Jepsen S, Needleman I, Roldán S. A systemic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients. *J Clin Periodontol.* 2002; 29 (Suppl. 3): 136-159.
63. Hughes FJ, Smales FC. Immunohistochemical investigation of the presence and distribution of cementum-associated lipopolysaccharides in periodontal disease. *J Periodont Res.* 1986; 21: 660-7.
64. Jervoe-Storm PM, AlAhdab H, Semaan E, Fimmers R, Jepsen S. Microbiological outcomes of quadrant versus full-mouth root planing as monitored by real-time PCR. *J Clin Periodontol.* 2007; 34:156-63.
65. Jervoe-Storm PM, Semaan E, AlAhdab H, Engel S, Fimmers R, Jepsen S. Clinical outcomes of quadrant root planning versus full-mouth root planning. *J Clin Periodontol.* 2006; 33: 209-215.
66. Kopic TJ, O'Leary TJ, Kafrawy AH. Total calculus removal: an attainable objective. *J Periodontol.* 1990; 61: 16-20.
67. Killoy WJ. The clinical significance of local chemotherapies. *J Clin Periodontol.* 2002; 29 Suppl 2: 22-29.
68. Kinane DF. Single-visit, full-mouth ultrasonic debridement: a paradigm shift in periodontal therapy? *J Clin Periodontol.* 2005; 32: 732-733.
69. Koshy G, Kawashima Y, Kiji M, Nitta H, Umeda M, Nagasawa T, Ishikawa I. Effects of single-visit full-mouth ultrasonic debridement versus quadrant-wise ultrasonic debridement. *J Clin Periodontol.* 2005; 32: 734-43.
70. Kozarov E, Sweier D, Shelburne C, Progulske-Fox A, Lopatin D. Detection of bacterial DNA in atheromatous plaques by quantitative PCR. *Microbes Infect.* 2006; 8: 687-693.

71. Lang NP, Mombelli A, Attström R. Dental plaque and calculus, IN: Lindhe J, Karring T, Lang NP. Clinical Periodontology and Implant Dentistry. 3<sup>a</sup> ed, Copenhagen: Munksgaard; 1998. p. 102-134.
72. Lau L, Sanz M, Herrera D, Morillo JM, Martín C, Silva A. Quantitative real-time polymerase chain reaction versus culture: a comparison between two methods for the detection and quantification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythensis* in subgingival plaque samples. J Clin Periodontol. 2004; 31: 1061-1069.
73. Listgarten MA; Ellegard B. Electron microscopic evidence of a cellular attachment between junctional epithelium and dental calculus. J Periodont Res. 1973; 8: 143-150.
74. Loesche WJ, Giordano JR Metronidazole in periodontitis V: debridement should precede medication. Compendium. 1994; 15 (10): 1198, 1201, 1203 passim; quiz 1218.
75. Miyazaki A, Yamaguchi T, Nishikata J, Okuda K, Suda S, Orima K *et al.* Effects of Nd:YAG and CO<sub>2</sub> laser treatment and ultrasonic scaling on periodontal pockets of chronic periodontitis patients. J Periodontol. 2003; 74: 175-180.
76. Mombelli A, Lehmann B, Tonetti M, Lang NP. Clinical response to local delivery of tetracycline in relation to overall and local periodontal conditions. J Clin Periodontol. 1997; 24: 470-7.
77. Mongardini C, van Steenberghe D, Dekeyser C, Quirynen M. One-stage full-versus partial-mouth disinfection in the treatment of chronic adult or generalized early onset periodontitis. I. Long-term clinical observations. J Periodontol. 1999; 70: 632-645.
78. Moore J, Wilson M, Kieser JB. The distribution of bacterial lipopolysaccharide (endotoxin) in relation to periodontally involved root surfaces. J Clin Periodontol. 1986; 13: 748-51.
79. Moore WE, Moore LV. The bacteria of periodontal diseases. Periodontol 2000. 1994; 5: 66-77.

80. Mühlemann HR, Son S. Gingival sulcus bleeding-leading symptom in initial gingivitis. *Helvetica Odontologica Acta*. 1971; 15: 107-113.
81. Nakashima K, Roehlich N, Cimasoni G. Osteocalcin, prostaglandin E<sub>2</sub> and alkaline phosphatase in gingival crevicular fluid: their relations to periodontal status. *J Clin Periodontol*. 1994; 21: 327-333.
82. Nakib NM, Bissada NF, Simmelink JW, Goldstine SN. Endotoxin Penetration into root cementum of periodontally healthy and diseased human teeth. *J Periodontol*. 1982; 53: 368-78.
83. Nowzari H, MacDonald ES, Flynn J, London RM, Morton JL, Slots J. The dynamics of microbial colonization of barrier membranes for guided tissue regeneration. *J Periodontol*. 1996; 67: 694-702.
84. Nyman S, Sahed G, Ericsson I, Gottlow J, Karring T. Role of "diseased" root cementum in healing following treatment of periodontal disease. An experimental study in the dog. *J Period Res*. 1986; 21: 496-503.
85. Nyman S, Westfelt E, Sahed G, Karring T. Role of "diseased" root cementum in healing following treatment of periodontal disease. A clinical study. *J Clin Periodontol*. 1988; 15: 464-468.
86. Offenbacher S, Odle BM, Van Dyke TE. The use of crevicular fluid prostaglandin E<sub>2</sub> levels as a predictor of periodontal attachment loss. *J Periodont Res*. 1986; 21: 101-112.
87. Oosterwaal PJM, Matee MI, Mikx FHM. The effect of subgingival debridement with hand and ultrasonic instruments on the subgingival microflora. *J Clin Periodontol*. 1987; 14: 528-533.
88. Oringer RJ, Al-Shammari KF, Aldredge WA, Iacono VJ, Eber RM, Wang HL *et al*. Effect of locally delivered minocycline microspheres on markers of bone resorption. *J Periodontol*. 2002; 73: 835-842.
89. Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol 2000*. 1997; 14: 216-248.

90. Parashis AO, Anagnou-Vereltzides, Demetriou N. Calculus removal from multirrooted teeth with and without surgical access. (I) Efficacy on external and furcation surfaces in relation to probing depth. *J Clin Periodontol.* 1993; 20: 63-68.
91. Pähkla E-R, Koppel T, Saag M, Pähkla R: Metronidazole concentrations in plasma, saliva and periodontal pockets in patients with periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 163–166.
92. Pavicic MJ, van Winkelhoff AJ, Douque NH, Steures RW, de Graaff J. Microbiological and clinical effects of metronidazole and amoxicillin in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. A 2-year evaluation. *J Clin Periodontol.* 1994; 21: 107-12.
93. Pavicic MJ, van Winkelhoff AJ, Pavicic-Temming YA, de Graaff J. Amoxycillin causes an enhanced uptake of metronidazole in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: a mechanism of synergy. *J Antimicrob Chemother.* 1994; 34 (6): 1047-50.
94. Preshaw PM, Lauffart B, Zak E, Jeffcoat MK, Baton I, Heasman PA. Progression and treatment of chronic adult periodontitis. *J Periodontol.* 1999; 70: 1209-1220.
95. Quirynen M, Bollen CML, Vandekerckhove BNA, Dekeyser C, Papaioannou W, Eysen H. Full-versus partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections: Short-term clinical and microbiological observations. *J Dent Res.* 1995; 74: 1459-67.
96. Quirynen M, Bollen CML. The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. A review of the literature. *J Clin Periodontol.* 1995; 22: 1-14.
97. Quirynen M, Papaioannou W, van Steenberghe D. Intra-oral transmission and the colonization of oral hard tissues. *J Periodontol.* 1996; 67: 986-993.
98. Quirynen M, Mongardini C, Pauwels M, Bollen C, Van Eldere J, van Steenberghe D. One-stage full-versus partial-mouth disinfection in the treatment of chronic adult or generalized early-onset periodontitis. II. Long-term

- impact on microbial load. J Periodontol. 1999; 70: 646-56.
99. Quirynen M, Mongardini C, De Soete M, Pauwels M, Coucke W, Van Eldere J et al. The role of chlorhexidine in the one-stage full-mouth disinfection. Long-term clinical and microbiological observations. J Clin Periodontol. 2000; 27: 578-89.
  100. Quirynen M, De Soete M, Dierickx K, van Steenberghe D. The intra-oral translocation of periodontopathogens jeopardises the outcome of periodontal therapy. A review of the literature. J Clin Periodontol. 2001; 28: 499-507.
  101. Quirynen M, De Soete M, Boschmans G, Pauwels M, Coucke W, Teughels W, van Steenberghe D. Benefit of "one-stage full-mouth disinfection" is explained by disinfection and root planing within 24 hours: a randomized controlled trial. J Clin Periodontol. 2006 ; 33: 639-47.
  102. Rabbani GM, Ash MM, Caffesse RG. The effectiveness of subgingival scaling and root planing in calculus removal. J Periodontol. 1981; 52: 119-123.
  103. Ramfjord SP. Maintenance care for treated periodontitis patients. J Clin Periodontol. 1987; 14: 433-437.
  104. Rateitschak-Plüs EM, Schwarz JP, Guggenheim R, Düggelein M, Rateitschak KH. Non-surgical periodontal treatment: Where are the limits? J Clin Periodontol. 1992; 19: 240-244.
  105. Rooney J, Wade WG, Sprague SV, Newcombe RG, Addy M. Adjunctive effects to non-surgical periodontal therapy of systemic metronidazole and amoxicilina alone and combined. A placebo controlled study. J Clin Periodontol. 2002; 29: 342-350.
  106. Rudney JD, Chen R, Sedgewick GJ. Intracellular *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in buccal epithelial cells collected from human subjects. Infect Immun. 2001; 69: 2700-2707.
  107. Sakamoto M, Huang Y, Ohnishi M, Umeda M, Ishikawa I, Benno Y. Changes in oral microbial profiles after periodontal treatment as determined by

- molecular analysis of 16S rRNA genes. J Med Microbiol. 2004; 53 (Pt 6): 563-571.
108. Sallum AW, Alves RV, Damis LF, Bertolini PF, Nociti FH Jr, Sallum EA. Open flap debridement with or without intentional cementum removal: a 4-month follow-up. J Clin Periodontol. 2005; 32: 1007-10.
  109. Schmidlin PR, Beuchat M, Busslinger A, Lehmann B, Lutz F. Tooth substance loss resulting from mechanical, sonic and ultrasonic root instrumentation assessed by liquid scintillation. J Clin Periodontol. 2001; 28: 1058-66.
  110. Sherman PR, Hutchens LH Jr, Jewson LG, Moriarty JM, Greco GW, McFall WT Jr. The effectiveness of subgingival scaling and root planning. I. Clinical detection of residual calculus. J Periodontol. 1990; 61: 3-8.
  111. Sherman PR, Hutchens LH Jr, Jewson LG. The effectiveness of subgingival scaling and root planing. II. Clinical responses related to residual calculus. J Periodontol. 1990; 61: 9-15.
  112. Shinn DLS. Metronidazole in acute ulcerative gingivitis (letter to the editor). Lancet. 1962; 1: 1191.
  113. Slots J, Ting M. Systemic antibiotics in the treatment of periodontal disease. Periodontol 2000; 2002; 28: 106-176.
  114. Smart GJ, Wilson M, Davies EH, Kieser JB. Assessment of ultrasonic root surface debridement of residual endotoxin levels. J Clin Periodontol. 1990; 1: 174-8.
  115. Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Dibart S. Relation of counts of microbial species to clinical status at the sampled site. J Clin Periodontol. 1991; 18: 766-775.
  116. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. Periodontol 2000. 2002; 28: 12-55.
  117. Syed SA, Loesche WJ. Survival of human dental plaque flora in various transport media. Appl Microbiol. 1972; 24: 638-644.
  118. Takamatsu N, Yano K, He T, Umeda M, Ishikawa I. Effect of initial periodontal therapy on the frequency of detecting *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas*

- gingivalis*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. J Periodontol. 1999; 70: 574-580.
119. Teo IA, Choi JW, Morlese J, Taylor G, Shaunak S. LightCycler qPCR optimization for low copy number target DNA. J Immunol Methods. 2002; 270: 119-133.
  120. Tomasi C, Bertelle A, Dellasega E, Wennström JL. Full-mouth ultrasonic debridement and risk of disease recurrence: a 1-year follow-up. J Clin Periodontol. 2006; 33: 626-631.
  121. Tsai CC, Ku CH, Ho YP, Ho KY, Wu YM, Hung CC. Changes in gingivalcrevicular fluid interleukin-4 and interferon-gamma in patients with chronic periodontitis before and after periodontal initial therapy. Kaohsiung J Med Sci. 2007; 23: 1-7.
  122. Umeda M, Takeuchi Y, Noguchi K, Huang Y, Koshy G, Ishkawa I. Effects of non-surgical periodontal therapy on the microbiota. Periodontology 2000. 2004; 36: 98-120.
  123. Van der Velden U, van Winkelhoff AJ, Abbas F, De Graaff J. The habitat of periodontopathic microorganisms. J Clin Periodontol. 1986; 13: 243-248.
  124. Vandekerckhove BNA , Bollen CML, Dekeyser C, Darius P, Quirynen M. Full-versus Partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections. Long-term clinical observations. J Periodontol. 1996; 67: 1251-9.
  125. Vanooteghem R, Hutchens LH, Garrett S, Kiger R, Egelberg J. Bleeding on probing and probing depth as indicators of the response to plaque control and root debridement. J Clin Periodontol. 1987; 14: 226-230.
  126. Van Winkelhoff AJ, van der Velden U, Clement M, De Graaff J. Intra-oral distribution of black-pigmented *Bacteroides* species in periodontitis patients. Oral Microbiol Immunol. 1988; 3: 83-85.
  127. Van Winkelhoff AJ, Tjihof CJ, Graaff J. Microbiological and clinical results of metronidazole plus amoxicilin therapy in *Actinobacillus actinomycetemcomitans* – associated periodontitis. J Periodontol. 1992; 63: 52-57.

128. Voss A, Milatovic D, Wallrauch-Schwarz C, Rosdahl VT, Braveny I. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1994; 13 (1): 50-5.
129. Xajigeorgiou C, Sakellari D, Slini T, Baka A, Konstantinidis A. Clinical and microbiological effects of different antimicrobials on generalized aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2006; 33: 254-264.
130. Waerhaug J. Healing of the dento-epithelial junction following subgingival plaque control. II. As observed on extracted teeth. *J Periodontol*. 1978; 49: 119-134.
131. Wallace JA, Bissada NF. Pulpal and root sensitivity related to periodontal therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1990; 69: 743-7.
132. Walker CB, Karpinia K, Baehni P. Chemotherapeutics: antibiotics and other antimicrobials. *Periodontol 2000*. 2004; 36: 146-165.
133. Wang D, Koshy G, Nagasawa T, Kawashima Y, Kiji M, Oda S et al. Antibody response after single-visit full-mouth ultrasonic debridement versus quadrant-wise therapy. *J Clin Periodontol*. 2006; 33: 632-638.
134. Wennström JL, Newman HN, MacNeill SR, et al. Utilization of locally delivered doxycycline in non-surgical treatment of chronic periodontitis. A comparative multi-center trial of 2 treatment approaches. *J Clin Periodontol*. 2001; 28: 753-61.
135. Wennström JL, Tomasi C, Bertelle A, Dellasega E. Full-mouth ultra-sonic debridement versus quadrant scaling and root planing as an initial approach in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005; 32: 851-9.
136. Wylam JM, Mealey BL, Mills MP, Waldrop TC, Moskowicz DC. The clinical effectiveness of open versus closed scaling and root planing on multi-rooted teeth. *J Periodontol*. 1993; 64: 1023-1028.
137. Winkel EG, Van Winkelhoff AJ, Van der Velden U. Additional clinical and microbiological effects of amoxicillin and metronidazole after initial periodontal therapy. *J Clin Periodontol*. 1998; 25: 857-864.
138. Winkel EG, Van Winkelhoff AJ, Timmerman MF, Van der Velden U, Van der

- Weijden GA. Amoxicilin plus metronidazole in the treatment of adult periodontitis patients. A double-blind placebo-controlled study. *J Clin Periodontol.* 2001; 28: 296-305.
139. Yang HW, Huang YF, Chou MY. Occurrence of *Porphyromonas gingivalis* and *Tannarella forsythensis* in periodontally diseased and healthy subjects. *J Periodontol.* 2004; 75: 1077-1083.
140. Yano-Higuchi K, Takamatsu N, He T, Umeda M, Ishikawa I. Prevalence of *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in subgingival microflora of Japanese patients with adult and rapidly progressive periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2000; 27: 597-602.
141. Yoskinari N, Kawase H, Mitani A, Ito M, Sugiishi S, Matsuoka M *et al.* Effects of scaling and root planing on the amounts of interleukin-1 receptor antagonist and the mRNA expression of interleukin-1 $\beta$  in gingival crevicular fluid and gingival tissues. *J Periodont Res.* 2004; 39: 158-167.
142. Zanatta GM, Bittencourt S, Nociti Jr FH, Sallum EA, Sallum, AW, Casati MZ. Periodontal debridement with povidine-iodine in periodontal treatment short-term clinical and biochemical observations. *J Periodontol.* 2006; 77: 498-505.

## ANEXO 1 – Parecer do Comitê de Ética

<b>COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA</b> FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS	
<b>CERTIFICADO</b>	
<p>O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "Avaliação da utilização de metronidazol e amoxicilina associados ao debridamento periodontal no tratamento da periodontite crônica avançada", protocolo nº 126/2005, dos pesquisadores <b>ÉRICA DEL PELOSO RIBEIRO</b> e <b>MÁRCIO ZAFFALLON CASATI</b>, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 14/12/2005.</p>	
<p>The Research Ethics Committee of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that project "Evaluation of the use metronidazole and amoxicilin associated with the periodontal debridement in the treatment of advanced chronic periodontal disease", register number <b>126/2005</b>, of <b>ÉRICA DEL PELOSO RIBEIRO</b> and <b>MÁRCIO ZAFFALLON CASATI</b>, comply with the recommendations of the National Health Council – Ministry of Health of Brazil for researching in human subjects and was approved by this committee at 14/12/2005.</p>	
 Cíntia Pereira Machado Tabchoury Secretária CEP/FOP/UNICAMP	 Jacks Jorge Júnior Coordenador CEP/FOP/UNICAMP
<p>Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição. Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.</p>	