



MESTRADO EM ODONTOLOGIA
Área de Concentração em Periodontia

RAFAEL DE OLIVEIRA DIAS

**EFEITO CLÍNICO E MICROBIOLÓGICO DA
ADMINISTRAÇÃO DE ANTIBIOTIÓTICOS NA
FASE CIRÚRGICA DA TERAPIA PERIODONTAL
EM INDIVÍDUOS COM PERIODONTITE CRÔNICA**

**Guarulhos
2010**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

RAFAEL DE OLIVEIRA DIAS

**EFEITO CLÍNICO E MICROBIOLÓGICO DA
ADMINISTRAÇÃO DE ANTIBIOTIÓTICOS NA
FASE CIRÚRGICA DA TERAPIA PERIODONTAL
EM INDIVÍDUOS COM PERIODONTITE CRÔNICA**

**Dissertação apresentada à Universidade Guarulhos
para obtenção do título de Mestre em Odontologia
Área de concentração: Periodontia**

**Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Luciene C. de Figueiredo
Co-orientadora: Prof^ª.Dr^ª. Magda Feres**

**Guarulhos
2010**

D541e Dias, Rafael de Oliveira Dias
Efeito clínico e microbiológico da administração de antibióticos na fase cirúrgica da terapia periodontal em indivíduos com periodontite crônica / Rafael de Oliveira Dias. Guarulhos, 2010.

74 f.; 31 cm

Dissertação (Mestrado em Odontologia, área de concentração em Periodontia) - Centro de Pós-Graduação e Pesquisa, Universidade Guarulhos, 2010.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Luciene C. de Figueiredo

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Magda Feres

Bibliografia: f. 62-74

1. Periodontite crônica. 2. Metronidazol. 3. Amoxicilina. 4. Terapia periodontal I. Título. II. Universidade Guarulhos.

CDD 22st 617.632



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de MESTRADO, intitulada "EFEITO CLÍNICO E MICROBIOLÓGICO DA ADMINISTRAÇÃO DE ANTIBIÓTICOS NA FASE CIRÚRGICA DA TERAPIA PERIODONTAL EM INDIVÍDUOS COM PERIODONTITE CRÔNICA" em sessão pública realizada em 26 de Abril de 2010, considerou o candidato Rafael de Oliveira Dias aprovado com louvor.

COMISSÃO EXAMINADORA:

1. Profa. Dra. Luciene Cristina de Figueiredo (UnG)

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'L. Figueiredo', written over a horizontal line.

2. Profa. Dra. Elizabeth Pimentel Rosetti (UFES)

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'E. Rosetti', written over a horizontal line.

3. Prof. Dr. Marcelo de Faveri (UnG)

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'M. Faveri', written over a horizontal line.

Guarulhos, 26 de Abril de 2010.

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais Alzira de Oliveira Dias e João Dias por terem me dado a vida, carinho, amor, atenção, amizade, educação sempre me conduzirem pelo caminho da honestidade e integridade, os grandes responsáveis pela trajetória da minha vida. Ao meu sogro Elias Tomé da Silva Pires e minha sogra Miriam Myiace Pires por me receberem na família como um filho e me apoiarem em todos os momentos, tanto nos difíceis quanto nos felizes. Aos meus filhos Diogo e Felipe, e a minha esposa Monica que são a base e o alicerce da minha vida e nas quais busco forças para continuar lutando.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, por guiar meus passos e permitir que eu tivesse todas as oportunidades para meu crescimento pessoal e profissional.

Aos meus pais João Dias e Alzira de Oliveira Dias, por todo o cuidado, educação e formação que me deram, além do amor incondicional. Pelos valores que me passaram, e por me ajudarem e apoiarem a realizar os meus sonhos e atingir meus objetivos.

Aos meus filhos Diogo e Felipe simplesmente por serem os grandes amores da minha vida, e com apenas um olhar fazer os meus dias mais felizes.

À minha esposa Monica, pelo amor, carinho e compreensão. Por todo apoio nos momentos difíceis que passamos e que com muita fé e força conseguimos superar, sem você certamente não conseguiria.

Ao meu sogro Elias Tome da Silva Pires e Miriam Myiace Pires, pessoas maravilhosas que com muito amor e dedicação sempre estiveram ao meu lado e que são muito importantes na minha vida.

Ao meu irmão Marcos pela sua eterna amizade e companheirismo.

Ao meu cunhado Ulysses por estar sempre presente e solícito.

Agradeço à minha orientadora, profa. Dra. Luciene Figueiredo, por todos os ensinamentos, toda orientação, cuidado, apoio e dedicação, deixando muitas vezes as suas obrigações para me orientar na execução desta pesquisa. Pelo exemplo de profissionalismo e competência.

À minha co-orientadora, profa. Dra. Magda Feres, por toda ajuda e dedicação.

Ao prof. Dr. Marcelo de Faveri por ajudar, orientar e acompanhar em toda realização desta pesquisa.

Aos demais professores, Poliana Duarte, pelos ensinamentos, pela amizade, e pelo exemplo de profissionalismo e competência; Jamil Shibli, pela amizade, dedicação e a grande contribuição para o meu aprendizado; Marta Bastos e Claudia pelos ensinamentos e profissionalismo. José Augusto, André Reis, Alessandra, Cesar, Sergio Sato. Todos, que com muita dedicação e profissionalismo em muito contribuíram nesses dois anos de formação.

À Izilvania, bióloga responsável pela parte laboratorial da pesquisa, muito obrigado por seu trabalho, ajuda e dedicação.

À Cintia, auxiliar da clínica, por sua ajuda e dedicação.

À Adriana, funcionária da clínica, por sua colaboração.

Às alunas de iniciação científica Priscila e Fernanda Sampaio que em diversos momentos colaboraram para realização desta pesquisa.

Aos meus colegas de turma Felipe Brilhante e Fabio Borges pelos bons momentos que passamos neste período e que tornou o trabalho e os estudos mais agradáveis.

As alunas de Mestrado Luciana, Tatiana Onuma, Renata, Lucas e Jadson pela amizade e auxílio neste trabalho.

Aos amigos Eduardo Sampaio, Josefa, Marcelo Rafaelli e Joyce Bezerra, pela amizade, ajuda e companheirismo nos dias de trabalho na clínica.

À Cristina Zoucas pela colaboração e cuidado na organização da parte burocrática.

Aos pacientes voluntários, fundamentais para realização desta pesquisa.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito clínico e microbiológico da administração de metronidazol e amoxicilina na fase cirúrgica da terapia periodontal em indivíduos com periodontite crônica. Vinte indivíduos receberam a terapia básica de raspagem e alisamento radicular (RAR) realizada em seis sessões e finalizada em 14 dias. Após 60 dias da RAR, os indivíduos foram reavaliados e, em seguida, aleatoriamente distribuídos em dois grupos terapêuticos (n=10): Grupo Controle - abertura cirúrgica de acesso aos sítios periodontais com profundidade de sondagem ≥ 5 mm e sangramento à sondagem, localizados em dentes posteriores, para receberem nova RAR em campo aberto (**CIR**) + medicação placebo: metronidazol 400mg + amoxicilina 500mg, 3x/dia, 10 dias (**PCB**); e Grupo Teste - **CIR** + combinação de antibióticos: metronidazol 400mg + amoxicilina 500mg, 3x/dia, 10 dias (**ANT**). Os seguintes parâmetros clínicos foram avaliados em seis sítios por dente no início do estudo (T0), 60 dias após a RAR (T1) e 60 dias após o momento cirúrgico (T2): profundidade de sondagem, nível clínico de inserção, índice de placa visível, índice de sangramento gengival, sangramento à sondagem e supuração. Nove amostras de biofilme subgengival foram coletadas por indivíduo, 3 amostras em cada uma das seguintes categorias de profundidade de sondagem iniciais: rasas (PS ≤ 3 mm), intermediárias (PS 4-6mm) e profundas (PS ≥ 7 mm). As amostras foram avaliadas, quanto aos níveis e proporções de 40 espécies bacterianas subgengivais pela técnica *checkerboard DNA-DNA hybridization*. Os resultados demonstraram que as duas terapias propostas promoveram melhoras clínicas e microbiológicas sem diferença estatística entre os grupos. No tempo T2 foi possível observar um benefício para o grupo teste (CIR + ANT), principalmente em relação à média do nível clínico de inserção e da redução no percentual de complexo vermelho, em comparação ao grupo controle. Em conclusão, a associação de antibioticoterapia no momento cirúrgico não demonstrou benefícios clínicos relevantes, porém os benefícios microbiológicos parecem promissores.

Palavras-Chaves: Periodontite crônica; Metronidazol; Amoxicilina; Terapia cirúrgica; Microbiota subgengival.

ABSTRACT

The aim of this study was evaluate the clinical and microbiological effect of the adjunctive systemically administered amoxicillin and metronidazole in the surgical treatment of the chronic periodontitis subjects. Twenty subjects received scaling and root planing (SRP) conducted in six sessions and completed in 14 days. After 60 days of the SRP the subjects were reassessed and, then randomly assigned to two treatment groups (n=10): Control – open flap debridement of the periodontal sites with probing depth ≥ 5 mm and bleeding on probing, located in posterior teeth, to receive another SRP in open field (SURG) + placebo: metronidazole 400mg + amoxicilin 500mg, 3x/day, 10 days (**PCB**); Test – **SURG** + combination of antibiotics: metronidazole 400mg + amoxicilin 500mg, 3x/day, 10 days (**ANT**). The following clinical parameters were evaluated at six sites per tooth at baseline (T0), 60 days after SRP (T1) and 60 days after the surgical time (T2): probing depth, clinical attachment level, visible plaque, gingival bleeding, bleeding on probing and suppuration. Nine samples of subgingival biofilm were collected for subject, 3 samples in each of the following categories of inicial probing depth: shallow (PD ≤ 3 mm), moderate (PD 4-6 mm), and deep (PD ≥ 7 mm). The samples were evaluated for the levels and proportions of 40 subgingival bacterial species using the checkerboard DNA-DNA hybridization test. The results showed that the two proposed therapies promoted clinical and microbiological improvement without statistical difference between groups. At time T2 was possible to observe a benefit for the test group (SURG + ANT), especially in relation to the average of clinical attachment level and reduction in the percentage of red complex. In conclusion, the combination of the antibiotics in the surgical moment has not shown important clinical benefits, but the microbiological benefits seem promising.

Key Words: Chronic periodontitis; Metronidazole; Amoxicillin; Surgical therapy; Subgingival microbiota.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Delineamento experimental	31
Figura 2	Representação gráfica do <i>Minislot</i> (Immunitics, Cambridge, MA, USA) e resumo da preparação e deposição das amostras de biofilme subgengival (técnica <i>Checkerboard DNA-DNA Hybridization</i>).....	38
Figura 3	Representação gráfica do <i>Miniblotter</i> (Immunitics, Cambridge, MA, USA) e resumo das etapas de hibridização e detecção das espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival (técnica <i>Checkerboard DNA-DNA Hybridization</i>).....	39
Figura 4	Representação gráfica do padrão de hibridização entre as bactérias presentes nas amostras de biofilme e as sondas de DNA (técnica <i>Checkerboard DNA-DNA Hybridization</i>).....	40
Figura 5	Representação esquemática do padrão de hibridização entre as bactérias presentes nas amostras de biofilme e as sondas de DNA (técnica <i>Checkerboard DNA-DNA Hybridization</i>).....	42
Figura 6	Alterações nas médias de profundidade de sondagem e nível clínico de inserção, de boca toda, ocorridas nos tempos T1 (entre início e 60 dias após a RAR) e T2 (entre início e 60 dias após o momento cirúrgico) nos dois grupos terapêuticos.....	47
Figura 7	Alterações nas médias de profundidade de sondagem e nível clínico de inserção, de acordo com as categorias de profundidade de sondagem inicial, ocorridas nos tempos T1 (entre início e 60 dias após a RAR) e T2 (entre início e 60 dias após o momento cirúrgico) nos dois grupos terapêuticos.....	48
Figura 8	Alterações na média percentual de sítios com profundidade de sondagem (PS) \geq 5 mm, ocorridas nos tempos T0 (início), T1 (60 dias após a RAR) e T2 (60 dias após o momento cirúrgico) nos dois grupos terapêuticos.....	49

Figura 9	Perfil microbiano das médias de proporção (%) das 40 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival nos tempos T0 (início), T1 (60 dias após a RAR) e T2 (60 dias após o momento cirúrgico) nos dois grupos terapêuticos.....	52
Figura 10	Proporções (%) dos complexos microbianos presentes nas amostras de biofilme subgengival nos tempos T0 (início), T1 (60 dias após a RAR) e T2 (60 dias após o momento cirúrgico) nos dois grupos terapêuticos.....	53
Figura 11	Alterações nas médias das proporções do complexo vermelho ocorridas nos tempos T1 (entre início e 60 dias após a RAR) e T2 (entre início e 60 dias após o momento cirúrgico) nos dois grupos terapêuticos.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Relação das cepas bacterianas empregadas para a confecção das sondas de DNA.....	41
Tabela 2	Índice utilizado para a determinação dos níveis dos microrganismos nas amostras de biofilme subgengival.....	42
Tabela 3	Média (\pm DP) dos parâmetros clínicos, no exame inicial (T0), 60 dias após a RAR (T1) e 60 dias após o procedimento cirúrgico (T2) para os dois grupos terapêuticos.....	46

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	13
1.1	Antibióticos no tratamento da doença periodontal	14
1.1.1	<i>Metronidazol</i>	15
1.1.2	<i>Metronidazol combinado à amoxicilina</i>	19
1.2.	Cirurgia periodontal.....	23
2	PROPOSIÇÃO	28
3	MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1	Seleção de indivíduos	29
3.2	Critérios de inclusão e exclusão	29
3.3	Delineamento experimental	30
3.4	Avaliação clínica.....	31
3.5	Procedimentos terapêuticos	32
3.5.1	<i>Terapia periodontal básica</i>	32
3.5.2	<i>Cirurgia periodontal de acesso à superfície radicular</i>	33
3.5.3	<i>Administração de metronidazol e amoxicilina sistêmicos e placebos</i>	34
3.6	Avaliação microbiológica.....	35
3.6.1	<i>Seleção dos sítios-testes</i>	35
3.6.2	<i>Coleta das amostras de biofilme subgengival</i>	35
3.6.3	<i>Cepas bacterianas e condições de crescimento</i>	36
3.6.4	<i>Isolamento do DNA e preparo das sondas</i>	36
3.6.5	<i>Checkerboard DNA-DNA Hybridization</i>	37
3.7	Análise estatística.....	43
4	RESULTADOS	44
4.1	Resultados clínicos.....	44
4.2	Resultados microbiológicos.....	50
5	Discussão	55
6	Conclusão	61
	Referências Bibliográficas	62

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Caracterizada como uma doença infecciosa, a doença periodontal, tem como fator etiológico microrganismos específicos presentes no biofilme bucal, que acometem as estruturas de proteção e sustentação dos dentes, levando à perda de inserção, de tecido ósseo, e eventualmente do elemento dentário (LÖE et al., 1965, SOCRANSKY, 1970; LISTGARTEN et al., 1978; LOESCHE et al., 1985; SOCRANSKY & HAFFAJEE, 1994a; HAFFAJEE & SOCRANSKY, 1994; SOCRANSKY et al., 1998; ARMITAGE, 1999). A doença periodontal crônica é reconhecida como a forma mais comum de periodontite e apesar de sua etiopatogenia ser conhecida e bem estudada, ainda não está estabelecido o padrão ideal e definitivo da terapia. A busca por uma terapêutica periodontal mais eficaz é contínua, já que alguns pacientes ou sítios continuam a apresentar progressão de doença, mesmo após o tratamento convencional de raspagem e alisamento radicular (RAR) subgingival (HAFFAJEE et al., 1997; ROSLING et al., 2001).

O controle mecânico tem como objetivo desorganizar o biofilme dental, suprimir os patógenos periodontais da cavidade bucal e impedir a progressão da doença (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2002). Entretanto, o debridamento mecânico sozinho tem sido questionado para a eliminação de espécies periodontopatogênicas como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Porphyromonas gingivalis* dos nichos subgingivais (SHILOAH et al., 1998; MOMBELLI et al., 2000), por essas espécies apresentarem habilidade de atingir locais de difícil acesso, invadindo células epiteliais orais (LAMONT & JENKINSON, 1998; FIVES-TAYLOR et al., 1999; LAMONT & JENKINSON, 2000; RUDNEY et al., 2005). Alguns microrganismos subgingivais não podem ser removidos porque estão localizados em áreas fora do alcance da instrumentação periodontal, como as lesões de furca profunda e dentina radicular (SLOTS & RAMS, 1991; ADRIAENS & ADRIAENS, 2004). Além disso, a RAR tem um efeito limitado no biofilme extracrevicular, o qual pode representar um importante reservatório para a reinfecção e recolonização dos nichos subgingivais (DANSER et al., 1996; QUIRYNEN et al., 2001; MAGER et al., 2003). Portanto, a permanência ou a rápida recolonização com

microrganismos periodontopatogênicos, após o debridamento subgingival, pode ser a razão de resultados clínicos menos favoráveis (RODENBURG et al., 1990; RAMS et al., 1996).

O conhecimento das limitações da terapia mecânica para o controle da doença periodontal e o entendimento atual da especificidade do biofilme subgingival e da existência de diferentes patógenos associados às diferentes formas de infecções periodontais, levam à busca por uma terapia fundamentada nos fatores etiológicos da infecção, que parece ser o caminho para melhores resultados clínicos e microbiológicos em longo prazo.

1.1 Antibióticos no tratamento da doença periodontal

O entendimento da especificidade do biofilme subgingival, das limitações do controle mecânico da doença periodontal e dos mecanismos que os microrganismos possuem para obter acesso a locais privilegiados, têm levado pesquisadores a desenvolverem novas terapias coadjuvantes à RAR, para que melhores resultados clínicos e microbiológicos sejam obtidos. Dentre as diversas terapias coadjuvantes, o uso dos antibióticos sistêmicos tem sido empregado no tratamento das doenças periodontais (VAN WINKELHOFF et al., 1997; FERES et al., 1999a, 1999b, 1999c; MOEINTAGHAVI et al., 2007).

Os antibióticos mais utilizados na literatura como adjuntos à terapia periodontal básica para a periodontite crônica, foram a tetraciclina e seus derivados, doxiciclina e minociclina (HELLDEN et al., 1979; SLOTS et al., 1979; SCOPP et al., 1980; CIANCIO et al., 1982; LINDHE et al., 1983b; MÜLLER et al., 1990; FREEMAN et al., 1992; MULLER et al., 1993; CROUT et al., 1996; LOESCHE et al., 1996; FERES et al., 1999b, 1999c); as penicilinas, principalmente a amoxicilina (HELOVUO & PAUNIO, 1989; ABU-FANAS et al., 1991; HELOVUO et al., 1993); o metronidazol (LINDHE et al., 1983a; LOESCHE et al., 1984, 1987, 1991, 1992, 1996; FERES et al., 1999a; CARVALHO et al., 2004; POULET et al., 2005; HAFFAJEE et al., 2007); e a azitromicina (MASCARENHAS et al. 2005; DASTOOR et al. 2007, GOMI et al., 2007a; GOMI et al., 2007b; HAFFAJEE et al., 2007). Outros estudos mostraram excelentes resultados clínicos e microbiológicos no tratamento da doença periodontal em indivíduos adultos utilizando a associação do metronidazol e da

amoxicilina (PAVICIC et al., 1994; LÓPEZ et al., 1998, 2000; WINKEL, et al. 2001; LÓPEZ et al., 2006; DANNEWITZ et al., 2007; MOEINTAGHAVI et al., 2007).

1.1.1 Metronidazol

O metronidazol é um composto sintético, derivado do nitroimidazol, com atividade bactericida e protozoaricida sobre diversos protozoários. Atua penetrando em células por difusão passiva e em condições de anaerobiose, tem seu nitrogrupo reduzido, gerando metabólitos altamente tóxicos, que interagem com o DNA e outras macromoléculas. O metronidazol penetra uniformemente bem em todas as células bacterianas. Todavia, nos anaeróbios sensíveis, a porção nitro da droga é enzimaticamente reduzida, sendo o metabólito resultante a forma ativa da droga. A droga reage com o DNA bacteriano, causando a inibição da replicação do DNA, fragmentação do DNA existente e com baixas doses de resistência. O metronidazol é bem absorvido após a administração oral, e é geralmente bem tolerado; todavia, alguns efeitos adversos mais comuns podem acontecer, como, náusea, dor epigástrica, estomatite, língua saburrosa negra e gosto metálico na boca (MONTGOMERY et al., 2000).

Após quatro anos de intensiva pesquisa, o metronidazol foi utilizado primeiramente em 1958 em um ensaio clínico, por cientistas no laboratório de Rhône-Poulenc - França, como antitricomonas e, posteriormente utilizado na terapia de outras infecções parasitárias como amebíase e giardíase. Apesar de ter sido desenvolvido para ser efetivo contra tricomonas, suas propriedades antimicrobianas em relação aos anaeróbios estritos e sua aparente habilidade de evitar que microrganismos susceptíveis tornem-se resistentes ao antimicrobiano têm sido interessante sob o ponto de vista odontológico (TALLY et al., 1975).

Shinn, em 1962, foi o primeiro a utilizar o metronidazol em odontologia após observar um alívio casual nos sintomas da gengivite ulcerativa necrosante aguda, numa mulher em uso de metronidazol para o tratamento da tricomoníase vaginal. Logo em seguida passou a ser usado

como protocolo dessa alteração periodontal (DAVIES et al., 1964; GLENWRIGHT & SIDAWAY, 1966; LOESCHE et al., 1982).

A partir desta capacidade que o metronidazol demonstrou de suprimir patógenos periodontais, um número considerável de estudos sobre seus efeitos clínicos e microbiológicos como adjunto da terapia mecânica periodontal têm sido publicados. Lindhe et al. (1983a) observaram que o metronidazol de uso sistêmico, (200mg, 4x/dia, 3 períodos de 2 semanas com intervalos de 8 semanas), associado com a RAR, obteve melhores resultados clínicos em comparação com a raspagem somente, já que houve maior redução na média de profundidade de sondagem e nível clínico de inserção periodontal, no índice gengival e no infiltrado histológico de células inflamatórias. Gusberti et al. (1988) pesquisaram sítios com recorrência da doença periodontal e os resultados clínicos mostraram que a administração de metronidazol sistêmico (250mg, 3x/dia, durante 7 dias) e RAR repetidos, reduziu significativamente a inflamação gengival, profundidade de sondagem e perda de nível clínico de inserção em bolsas reinfectedas, e após o tratamento estes sítios abrigavam menos espiroquetas e cepas gram-negativas e um maior número de bactérias sem motilidade. Loesche et al. (1987, 1991, 1992, 1996) avaliaram em uma série de estudos, a necessidade de realização de cirurgia periodontal, quando o metronidazol sistêmico foi utilizado em combinação com a RAR. Os resultados desses estudos, e principalmente de Loesche et al. (1996), sugeriram que o uso do metronidazol pode reduzir a necessidade de cirurgia periodontal em até 93% e a necessidade de extração de dentes em até 81%.

Ainda na década de 90, Söder et al. (1990) estudaram indivíduos com periodontite recorrente moderada e avançada, e realizaram a terapia mecânica e química por meio do metronidazol de uso sistêmico (400mg, 3x/dia, durante 7 dias). Os resultados mostraram melhoras clínicas estatisticamente significantes, com redução do número dos sítios com profundidade de sondagem ≥ 5 mm, sendo que o grupo teste obteve uma redução de 30% e o grupo controle de 9%. Loesche et al. (1993) estudaram a cooperação dos indivíduos no uso do metronidazol sistêmico (250mg em múltiplas administrações) no tratamento periodontal e observaram um significativo e

rápido declínio ou desaparecimento de espiroquetas do biofilme dental naqueles que eram cooperativos, durante o intervalo de tempo em que o metronidazol foi detectado na saliva. Além disso, esses indivíduos apresentaram os melhores resultados clínicos e uma redução de necessidade cirúrgica de 8,3 dentes em comparação a 3,6 dentes dos indivíduos não-cooperativos. Elter et al. (1997) realizaram um estudo de meta-análise sobre o uso do metronidazol sistêmico como parte da terapia periodontal e concluíram que o metronidazol apresenta benefícios clínicos, quando em conjunto com a RAR; entretanto, esses resultados satisfatórios foram observados somente em sítios com 4mm ou mais. Outros estudos corroboram essa observação, enfatizando maior efetividade do tratamento com o metronidazol em sítios profundos em relação aos sítios rasos (LOESCHE et al., 1981; CLARK et al., 1983; LEKOVIC et al., 1983; JOYSTON-BECHAL et al., 1984; LOESCHE et al., 1984; STERRY et al., 1985; JOYSTON-BECHAL et al., 1986; CARVALHO et al., 2004; HAFFAJEE et al., 2007).

Os efeitos do uso sistêmico de diversos antibióticos na composição da microbiota subgengival e nos parâmetros clínicos da doença periodontal também foram determinados por meio de uma série de estudos que utilizaram sondas de DNA para 40 espécies bacterianas e avaliaram aproximadamente 4.000 amostras de biofilme subgengival (FERES et al., 1999a, 1999b, 1999c, 2001; GOODSON & FERES, 1999; CARVALHO et al., 2005). Feres et al. (2001) compararam o efeito do uso do metronidazol (250 mg, 3x/dia, 14 dias) ou da amoxicilina (500mg, 3x/dia, 14 dias) sistêmicos na microbiota subgengival e nos parâmetros clínicos de indivíduos com periodontite crônica. O metronidazol apresentou os melhores resultados clínicos e microbiológicos. Sua ação principal foi na redução de patógenos dos complexos vermelho e laranja. As espécies consideradas benéficas, como as do gênero *Actinomyces*, *Streptococcus* e *Capnocytophaga*, foram minimamente afetadas por este agente. Clinicamente, a média de profundidade de sondagem de boca toda foi significativamente reduzida e houve um considerável ganho de inserção. Carvalho et al. (2004 e 2005) mostraram que os indivíduos portadores de periodontite crônica que fizeram uso de metronidazol sistêmico (400mg, 3x/dia, 10 dias) com ou sem remoção profissional do biofilme supragengival, obtiveram

uma melhor resposta clínica nos sítios com profundidade de sondagem maior de 6mm. Os resultados clínicos e as alterações mais profundas na composição do biofilme subgengival, foram obtidos com a utilização da remoção profissional do biofilme supragengival e, principalmente, do metronidazol. Modificações benéficas importantes na composição do biofilme subgengival tanto logo após o tratamento quanto um ano pós-terapia, foram encontradas no grupo dos indivíduos que fizeram uso do metronidazol sistêmico. Foram observadas reduções significativas nos níveis e nas proporções dos patógenos do complexo vermelho nesses indivíduos, e adicionalmente, as espécies consideradas benéficas, como os *Actinomyces*, *Streptococcus* e *Veilonella parvula*, foram minimamente afetadas por esses agentes.

Pahkla et al. (2005) compararam a concentração do metronidazol sistêmico (500mg, 2 ou 3x/dia, por pelo menos 2 dias) no plasma, saliva e fluído crevicular gengival, em indivíduos com periodontite crônica generalizada avançada. A frequência da dosagem foi escolhida pelo examinador clínico dependendo da atividade e extensão da doença. Os resultados revelaram uma boa penetração do metronidazol no fluído crevicular gengival e saliva. As concentrações do metronidazol no fluído crevicular foram similares as concentrações da droga disponíveis no plasma. Portanto, considerando a farmacocinética do metronidazol, os autores sugeriram sua aplicação no tratamento da doença periodontal. Ainda em 2005, Poulet et al. mostraram que a terapia antibiótica com metronidazol (250mg, 3x/dia, 6 dias) ou metronidazol (250mg, 3x/dia, 6 dias) associado à espiramicina (250mg, 3x/dia, 6 dias) sistêmicos, apresentam resultados consistentes na atividade antimicrobiana *in vitro* e nas concentrações antibióticas locais, sugerindo que o metronidazol sozinho ou combinado pode ser importante para o tratamento da periodontite.

Haffajee et al. (2007) acompanharam, por um período de um ano, um grupo de indivíduos portadores de periodontite crônica submetidos à terapia mecânica ou combinada ao metronidazol sistêmico (250mg, 3x/dia, 14 dias), azitromicina sistêmica (500mg, 1x/dia, 3 dias) ou uma dose sub-clínica de doxiciclina (20mg, 2x/dia, por 3 meses). Os autores observaram que o sítios que inicialmente apresentavam profundidade de sondagem maiores que 6mm, demonstraram significativa redução de profundidade e um importante ganho de

inserção em indivíduos que receberam metronidazol ou azitromicina sistêmicos, demonstrando que a terapia antibiótica possui efeitos adicionais sobre a raspagem e o alisamento radicular particularmente em sítios periodontais inicialmente profundos.

Em 2008, Haffajee et al. publicaram os dados microbiológicos realizados no tempo inicial, 2 semanas, e 3, 6 e 12 meses para avaliação de 40 espécies pela técnica do *checkerboard DNA-DNA hybridization*. A porcentagem das espécies e dos sítios colonizados por espécies resistentes para os antibióticos testes foram determinados em cada tempo. Todos os tratamentos reduziram a contagem do complexo vermelho e foi mantida por 12 meses, entretanto nenhuma diferença estatística foi encontrada entre os grupos terapêuticos em todos os tempos. Ambos antibióticos reduziram a contagem das espécies do complexo vermelho em duas semanas. A porcentagem de isolados resistentes aumentou nas amostras de biofilme em todas as terapias coadjuvantes tanto na máxima concentração antibiótica quanto no final da administração, entretanto retornaram para os níveis pré-tratamento em um ano.

1.1.2 Metronidazol combinado à amoxicilina

Em 1928, Alexander Fleming, enquanto trabalhava com variantes de estafilococos no laboratório do St Mary's Hospital em Londres, observou que um fungo ao contaminar uma de suas placas de cultura, promovia uma inibição no crescimento bacteriano. Fleming isolou o fungo em cultura pura e demonstrou que ele produzia uma substância antibacteriana, e que, portanto foi denominada de penicilina, já que esse fungo pertencia ao gênero *Penicillium*. Essa substância foi posteriormente extraída e seus efeitos antibacterianos foram analisados por Florey & Chain et al. em Oxford, na década de 40 (FLOREY et al., 1945; CHAIN, 1948). Esses pesquisadores demonstraram que a penicilina possuía poderosas propriedades quimioterápicas em camundongos infectados e que era atóxica (HARE, 1970).

Todas as penicilinas possuem o mesmo mecanismo básico de ação, isto é, inibem as enzimas responsáveis pela ligação cruzada dos polímeros de peptidoglicano durante o último estágio da síntese da parede celular, resultando na inibição da formação de uma parede celular intacta e completa, e

produzindo uma célula bacteriana instável na osmolalidade dos líquidos orgânicos. As penicilinas constituem-se na primeira opção como coadjuvantes no tratamento das infecções odontológicas leves e moderadas. A amoxicilina tem um amplo espectro de atividade contra espécies anaeróbias estritas e facultativas subgengivais (WALKER et al., 1985; KULIK et al., 2008). Atua sobre microrganismos cocos e bacilos Gram-negativos devida à capacidade de penetrar nas barreiras lipídicas e na parede celular mais complexa destes microrganismos, agindo sobre as enzimas situadas na parte externa da membrana celular bacteriana lipoprotéica (MONTGOMERY, 2000).

As características benéficas individuais da amoxicilina e do metronidazol e a possível complementariedade de ação farmacológica para a cura da doença periodontal tem levado pesquisadores a associar ambas as medicações como uma terapia adjunta a terapia mecânica, com o objetivo de suprimir ou eliminar os patógenos envolvidos com a doença e obter melhores resultados em longo prazo. Entretanto, até o presente momento, a literatura está escassa em informações sobre esta combinação antibiótica.

A destruição dos tecidos periodontais está fortemente associada à presença de vários patógenos periodontais. Um destes microrganismos é o *A. actinomycetemcomitans*. A periodontite agressiva (SLOTS et al., 1980; MANDELL & SOCRANSKY, 1981; MANDELL et al., 1987) e a periodontite crônica (BRAGD et al., 1987) estão associadas a presença do *A. actinomycetemcomitans*, sendo conseqüência da sua supressão uma melhor resposta periodontal (VAN WINKELHOFF et al., 1989 e 1992).

Pavicic et al. (1994) avaliaram a presença do *A. actinomycetemcomitans* subgengivalmente, na mucosa jugal, tonsila e na saliva após dois anos da terapia mecânica associada ao metronidazol (250mg, 3x/dia, 7 dias) e amoxicilina (375mg, 3x/dia, 7 dias) sistêmicos. Observaram resultados negativos para a presença do *A. actinomycetemcomitans* em 47 dos 48 indivíduos do estudo, além de reduções na profundidade de sondagem, nível clínico de inserção, índice de placa, sangramento à sondagem em 3 e 24 meses após terapia ativa, sugerindo que esta terapia pode ser efetiva para a supressão do *A. actinomycetemcomitans* por um longo período de tempo.

López et al. (1998) avaliaram os efeitos clínicos e microbiológicos da amoxicilina (500mg, 3x/dia, 7 dias) e do metronidazol (250mg, 3x/dia, 7 dias) sistêmicos como uma única terapia, durante uma semana, em indivíduos portadores de periodontite crônica moderada e avançada. Foram incluídos no estudo indivíduos que apresentaram pelo menos dois sítios com ≥ 2 mm de perda de inserção clínica. Os parâmetros clínicos mensurados foram sangramento à sondagem, índice de placa, profundidade de sondagem e nível clínico de inserção. A porcentagem dos sítios sangrantes diminuiu significativamente, para o grupo teste, nos tempos 2 e 4 meses após a terapia; e aumentou para o grupo controle, que recebeu apenas medicação placebo. A média dos valores de nível clínico de inserção para os tempos de 2 e 4 meses pós-terapia foi significativamente melhor para o grupo teste em relação ao grupo controle. O grupo teste mostrou significativa redução de sítios com *P. gingivalis* e *Prevotella intermedia* em relação ao grupo controle, mostrando que terapia antibiótica proposta usada isoladamente, altera a proporção de alguns microrganismos subgingivais e promove benefícios clínicos nas condições periodontais.

Ainda nesta linha de pesquisa, em 2000, López et al. selecionaram indivíduos portadores de periodontite crônica avançada e moderada que apresentassem perda de nível clínico de inserção de ≥ 2 mm. Os indivíduos foram aleatorizados em dois grupos conforme o estudo anterior, sendo que o grupo teste recebeu metronidazol (250mg, 3x/dia, 7 dias) e amoxicilina (500mg, 3x/dia, 7 dias) sistêmicos como terapia única, e o grupo controle recebeu apenas medicação placebo. As principais diferenças com a publicação anterior foi que o regime antibiótico foi repetido após 4 e 8 meses, e a avaliação microbiológica não foi realizada. Os resultados demonstraram que após 2 meses e nas avaliações posteriores, o grupo teste mostrou melhoras clínicas significantes, enquanto o grupo controle demonstrou uma progressiva piora do estado periodontal. Após um ano, os indivíduos do grupo teste mostraram significativo ganho de inserção de 0,43mm ($p=0,005$), diminuição de sítios ativos ($p<0,03$), aumento de sítios que ganharam inserção clínica ($p<0,01$), redução de profundidade de sondagem ($p<0,00006$) e diminuição da porcentagem de sangramento à sondagem ($p<0,0005$). Os sítios que

mostraram perda de inserção ≥ 2 mm em avaliações sucessivas e abscesso periodontal foram observados somente no grupo controle.

Winkel et al. (2001) avaliaram clínica e microbiologicamente indivíduos com periodontite crônica generalizada avançada. Os indivíduos foram aleatorizados, sendo que o grupo controle foi submetido somente ao tratamento mecânico, e ao grupo teste foi adicionado o uso do metronidazol (250mg, 3x/dia, 7 dias) e da amoxicilina (375mg, 3x/dia, 7 dias) sistêmicos. Observaram as maiores reduções em profundidade de sondagem e ganho de inserção clínica no grupo teste e nos sítios que eram inicialmente ≥ 7 mm. O número de indivíduos positivos para *P. gingivalis*, *Tanarella forsythia* e *P. intermedia* no grupo teste mostrou-se significativamente menor. As diferenças na redução da profundidade de sondagem entre *P. gingivalis* positivo e negativo, foi particularmente evidente no grupo teste.

Já em 2006, López et al. selecionaram indivíduos com pelo menos seis sítios com profundidade de sondagem ≥ 4 mm e perda de inserção ≥ 3 mm que foram divididos em dois grupos: teste (metronidazol - 250mg, 3x/dia, 7 dias, e amoxicilina - 500mg, 3x/dia, 7 dias, como terapia única) e controle (RAR). Os indivíduos foram submetidos ao exame clínico e microbiológico por meio do teste *checkerboard DNA-DNA hybridization*, realizados no início, 3, 6, 9 e 12 meses. Os autores concluíram que as duas terapias promoveram melhoras, e as alterações nos parâmetros clínicos e microbiológicos foram semelhantes entre os grupos teste e controle.

Moeintaghavi et al. (2007) estudaram a amoxicilina (500mg, 3x/dia, 7 dias) e o metronidazol (250mg, 3x/dia, 7 dias) sistêmicos como coadjuvantes ao tratamento da periodontite crônica. O estudo foi aleatorizado, duplo cego, paralelo e placebo. Os parâmetros clínicos realizados foram profundidade de sondagem, nível clínico de inserção, índice de placa, sangramento à sondagem. Os sítios ≥ 5 mm foram selecionados para a análise microbiológica. Os resultados demonstraram diferenças estatísticas nos parâmetros clínicos entre o grupo teste e o grupo controle. Paralelamente as mudanças clínicas, houve uma redução significativa no número dos *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *P. intermedia*, no grupo teste, em relação aos dados iniciais. Após a terapia havia diferenças estatísticas entre o grupo teste e controle em número

de indivíduos negativos para *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *P. intermedia* ($p=0,033$).

O recente estudo de Matarazzo et al. (2008), avaliou clínica e microbiologicamente indivíduos fumantes com periodontite crônica, aleatorizados em 3 grupos terapêuticos. O grupo controle recebeu apenas RAR, os grupos testes receberam além da terapia mecânica, metronidazol sistêmico (400mg, 3x/dia, 14 dias) ou a combinação amoxicilina (500mg, 3x/dia, 14 dias) e metronidazol (400mg, 3x/dia, 14 dias). O grupo que recebeu os dois antibióticos associados apresentou as maiores reduções de profundidade de sondagem e nível clínico de inserção. Além disso, este grupo apresentou um aumento mais expressivo das proporções das espécies benéficas e maior redução dos patógenos.

Apesar dos estudos mostrarem evidentes resultados positivos sobre a associação do metronidazol e da amoxicilina como coadjuvante à RAR no tratamento da periodontite crônica, o momento de iniciar a administração das drogas (metronidazol/amoxicilina) ainda está controverso na literatura. Watts et al. (1986) e Walsh et al. (1986), embasados no conceito de que a escolha do protocolo terapêutico de antibioticoterapia iniciada junto com a RAR visa à disponibilidade da droga no ambiente subgingival pelo máximo de tempo possível em que a RAR estiver sendo realizada, demonstraram que a terapia com metronidazol não concomitante à RAR promovia um efeito limitado e transitório nos parâmetros clínicos e microbiológicos. Por outro lado, alguns autores (JENKINS et al., 1989; LOESCHE et al., 1992; CARVALHO et al., 2004; CARVALHO et al., 2005; KANER et al., 2007a, 2007b) sugerem o uso da terapia antibiótica iniciada após a terapia mecânica de RAR, pois acreditam que neste momento a carga microbiana já está reduzida e assim o efeito da droga pode ser potencializado.

1.2 Cirurgia periodontal

Os benefícios clínicos da terapia de raspagem e alisamento radicular se devem a desorganização do biofilme e remoção do cálculo resultando em diminuição dos patógenos periodontais e reestabelecimento de microrganismos compatíveis com saúde (CUGINI et al., 2000; PETERSILKA et al., 2002). Na

tentativa de se alcançar melhores resultados e facilitar a instrumentação e manutenção periodontal por um período mais longo de tempo foram desenvolvidas algumas técnicas cirúrgicas como as gengivectomias, retalhos de Widman e Widman modificado, retalhos reposicionados apicalmente com ou sem osteotomia e osteoplastia e retalhos para acesso e debridamento radicular (GOLDMAN, 1951; OCHSENBEIN, 1986).

Uma das primeiras descrições detalhadas do uso de técnicas cirúrgicas a retalho para eliminação da bolsa periodontal foi publicada em 1918 por Leonard Widman, onde se preconizava a remoção do epitélio e tecido conjuntivo inflamado e também facilitava a instrumentação radicular. Em 1920, Neumann sugeriu outro tipo de técnica, diferente da descrita por Widman apenas pela incisão que neste caso era intrasulcular e não com bisel interno, onde além da curetagem na porção interna do retalho também permitia o acesso a superfície radicular e tecido ósseo. Após 11 anos, em 1931, Kirkland descreveu a técnica da cirurgia do retalho modificado que se constituía de um retalho de acesso radicular realizado por meio de incisão intrasulcular na região dos dentes elegidos e descolamento do tecido gengival para debridamento radicular e do tecido ósseo. Após a remoção do epitélio da bolsa na parte interna do retalho, o tecido era suturado na sua posição original, causando o mínimo de trauma aos tecidos periodontais e desconforto para o paciente.

Considerando o breve histórico do desenvolvimento das primeiras técnicas cirúrgicas, Lindhe et al. (1982) compararam o tratamento periodontal cirúrgico com o não-cirúrgico, sendo que em um quadrante foi realizada RAR e no quadrante contralateral foi realizada RAR com retalho de widman modificado. Após 24 meses, as reduções mais pronunciadas de profundidade de sondagem foram observadas em sítios inicialmente profundos que receberam tratamento cirúrgico, e pequena perda de inserção em sítios inicialmente rasos, porém sem diferença estatística entre os grupos.

Em 1988, Hafajee et al. encontraram melhoras microbiológicas utilizando a terapia cirúrgica em conjunto com a administração sistêmica de tetraciclina. Os autores observaram a redução na freqüência de detecção e na contagem dos microrganismos periodontopatogênicos e aumento dos microrganismos relacionados com a saúde. Uma limitação deste estudo é o

envolvimento de apenas um grupo de tratamento, ou seja, não há informação sobre um grupo controle.

Já Mombelli et al. (1995), com o objetivo de provar que a restituição de um sulco raso com valores fisiológicos seria capaz de modificar o ambiente subgengival e obter melhora nos parâmetros clínicos, realizaram em apenas sete indivíduos com periodontite crônica generalizada a redução cirúrgica de bolsa sem instrumentação em um dente unirradicular com a maior profundidade de sondagem. O procedimento cirúrgico se resumiu em incisão de bisel interno, descolamento mucoperiostal, remoção do tecido de granulação, osteotomia e osteoplastia de defeitos angulares sem RAR e reposicionamento apical do retalho (grupo teste). Dentes do quadrante contralateral foram considerados grupo controle e receberam RAR. Foram observadas melhoras clínicas e microbiológicas nos dois grupos estudados.

De acordo com os conhecimentos científicos prévios, Wang & Greenwell e Heitz-Mayfield et al. chegaram a considerações finais bem semelhantes em relação a terapia periodontal cirúrgica em suas revisões de literatura publicadas respectivamente em 2001 e 2002. Ambas as terapias, RAR ou RAR associada à cirurgia a retalho são capazes de promover ganho de inserção e redução dos parâmetros de inflamação gengival. No tratamento de sítios profundos, a abertura do retalho para a realização da RAR promove as melhores reduções de profundidade de sondagem e ganho de inserção.

Em 2008, König et al., compararam as diferenças clínicas entre a realização de repetidos procedimentos de apenas RAR e a cirurgia periodontal associada a RAR em um estudo com delineamento denominado boca-dividida. Os dois grupos demonstraram melhora clínica. Os autores ainda sugerem que a realização do segundo procedimento de RAR reduziu a necessidade de indicação cirúrgica.

De um modo geral, em função dos melhores resultados obtidos pela terapia cirúrgica periodontal em sítios profundos e médios em comparação com a RAR somente e, considerando também, o constante interesse no estudo da antibioticoterapia sistêmica ou local como coadjuvante da terapia não-cirúrgica, alguns autores estudaram a associação dessas terapias. Needleman et al. (2000) analisaram os efeitos clínicos da utilização do gel de metronidazol 25%

como coadjuvante ao tratamento cirúrgico em indivíduos com periodontite crônica moderada-avançada. Todos os indivíduos foram submetidos ao retalho de Widman modificado onde os defeitos ósseos e as raízes foram debridadas, porém o grupo teste recebeu o gel de metronidazol na superfície radicular e o grupo controle somente recebeu debridamento, sem a colocação de gel. Os dois grupos apresentaram benefícios clínicos, mas nenhum benefício adicional foi alcançado pelo uso do gel de metronidazol.

Dastoor et al., em 2007, avaliaram os efeitos clínicos e microbiológicos do uso sistêmico da azitromicina como coadjuvante da cirurgia de redução de bolsa em indivíduos fumantes com periodontite crônica. Ambos os grupos reduziram a profundidade de sondagem e o nível clínico de inserção. O uso da antibioticoterapia não promoveu benefício adicional com diferença estatisticamente significativa, entretanto, apresentou uma cicatrização mais rápida, menos inflamação em curto prazo e sustentou em longo prazo a redução das bactérias periodontopatogênicas.

Por outro lado, Hellstrom et al. (2008) analisaram o efeito clínico do uso das microesferas de minociclina aplicada localmente no ambiente subgengival em conjunto com a terapia cirúrgica (retalho de Widman modificado) e encontraram a maior redução da profundidade de sondagem no grupo que recebeu o antimicrobiano.

Com base na maioria dos estudos apresentados na literatura, a associação de metronidazol e amoxicilina parece ser de grande utilidade no tratamento da periodontite crônica. Porém, até o momento existem poucos estudos científicos sobre o uso de antibióticos durante a fase cirúrgica da terapia periodontal. A meta-análise elaborada por Haffajee et al. (2003) sugeriu que esta modalidade terapêutica promove benefícios clínicos, principalmente em termos de ganho de inserção. Outros grupos de pesquisa demonstraram também benefícios microbiológicos além dos clínicos, no entanto, poucos microrganismos foram analisados (KLEINFELDER et al., 2000; DASTOOR et al., 2007).

Assim, Herrera et al. (2008) em revisão de literatura elaborada à partir do 6th *European Workshop on Periodontology*, com o objetivo de definir o melhor protocolo terapêutico para o uso dos antimicrobianos, abordou a

seguinte questão: “Se os antimicrobianos sistêmicos devem ser prescritos como terapia adjunta durante o tratamento de periodontites severas, eles devem ser prescritos como adjuntos a RAR ou ao debridamento cirúrgico?” Após extensa revisão crítica de diversos estudos científicos, os autores declararam que não há evidência que suporte o uso de antimicrobianos com a terapia cirúrgica, senso assim, existe a necessidade de novos estudos científicos que demonstrem os efeitos da associação de antibióticos à cirurgia periodontal.

2 PROPOSIÇÃO

Avaliar o efeito clínico e microbiológico da administração de metronidazol e amoxicilina na fase cirúrgica da terapia periodontal em indivíduos com periodontite crônica.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Seleção de indivíduos

Vinte indivíduos portadores de periodontite crônica e com idade igual ou superior a 30 anos que compareceram na Clínica Odontológica da Universidade Guarulhos foram selecionados para a participação no estudo. Foi realizado o cálculo de potência para cada um dos parâmetros clínicos e microbiológicos, com base nos resultados dos estudos de Feres et al. (1999 e 2001), encontrando uma potência superior a 80% para uma amostragem de 10 pacientes. A seleção foi realizada por dois examinadores previamente calibrados ($Kappa > 0,80$). Todos os participantes foram informados dos objetivos do estudo, de seus riscos e benefícios, incluindo os tipos de medições clínicas, coletas, terapias e caráter longitudinal do estudo. Os que concordaram em participar do estudo assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), e receberam a terapia periodontal gratuitamente estando de acordo com as diretrizes e normas do Conselho Nacional de Saúde (Resolução nº 196/96). Todas as informações e explicações sobre o estudo contempladas no TCLE foram transmitidas aos participantes do estudo pelo pesquisador responsável, que obteve a assinatura no TCLE.

3.2 Critérios de inclusão e exclusão

Critérios de inclusão

- Voluntários portadores de periodontite crônica (moderada-avançada);
- Idade igual ou superior a 30 anos;
- Possuir um mínimo de 15 dentes, excluindo-se os terceiros molares;
- Mínimo de seis dentes com pelo menos um sítio interproximal, não contíguo, com profundidade de sondagem e nível clínico de inserção ≥ 5 mm, distribuídos nos sextantes posteriores.

Critérios de exclusão

- Fumantes e ex-fumantes há menos de 5 anos.
- Gestantes ou lactantes;
- Histórico de tratamento periodontal prévio nos últimos seis meses;
- Histórico de antibioticoterapia nos últimos seis meses;

- Doença sistêmica que comprometesse a resposta do hospedeiro ou exigisse medicação profilática ao tratamento;
- Relato de alergia ao metronidazol e/ou à penicilina e/ou à clorexidina;
- Reabilitações protéticas extensas.

3.3 Delineamento experimental

No início deste estudo duplo cego, aleatorizado, placebo controlado, todos os indivíduos (n=20) foram submetidos à anamnese, exame clínico periodontal e coleta de amostras de biofilme subgengival dos sítios selecionados (ver 3.6.1 Seleção dos sítios-teste). Todos os indivíduos receberam a terapia básica de RAR realizada em seis sessões e finalizada em 14 dias. Após 60 dias da terapia periodontal básica, os indivíduos foram reavaliados e, em seguida, um pesquisador não envolvido diretamente no estudo, fez a distribuição aleatória dos indivíduos por meio de uma tabela de números equiprováveis em dois grupos terapêuticos (n=10):

- Grupo Controle: abertura cirúrgica de acesso aos sítios periodontais com profundidade de sondagem \geq 5mm e sangramento à sondagem, localizados em dentes posteriores, para receberem nova RAR em campo aberto (**CIR**) + medicação placebo: metronidazol 400mg + amoxicilina 500mg, 3x/dia, 10 dias (**PCB**).

- Grupo Teste: **CIR** + combinação de antibióticos: metronidazol 400mg + amoxicilina 500mg, 3x/dia, 10 dias (**ANT**).

Avaliações clínicas e microbiológicas foram realizadas no início do estudo (T0), 60 dias após a RAR (no momento cirúrgico - T1) e 60 dias após o momento cirúrgico – T2. O protocolo experimental está apresentado na Figura 1.

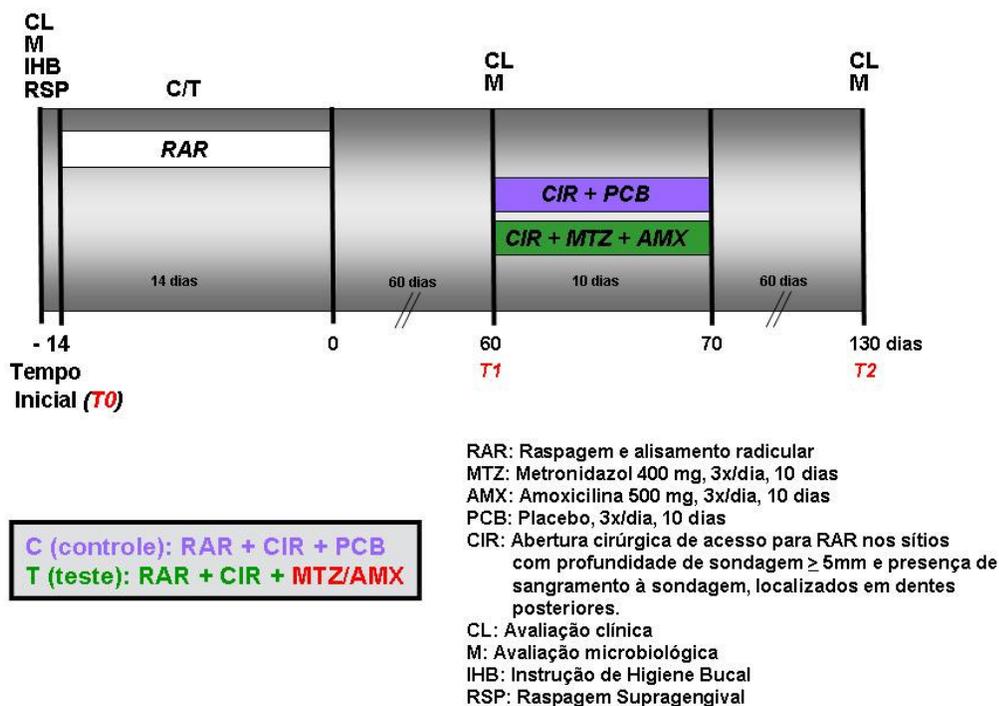


Figura 1. Delineamento experimental.

3.4 Avaliação clínica

O exame clínico-periodontal foi efetuado no início do estudo, por um examinador treinado e calibrado para se conseguir a máxima reprodutibilidade nas medições realizadas e com o objetivo de realizar o diagnóstico do indivíduo e selecionar os sítios-testes. A metodologia utilizada para a calibração foi preconizada por Araujo et al. (2003) onde se avaliaram o erro padrão da medida (e.p.m) e o erro médio percentual (e.m.p) para os parâmetros clínicos periodontais contínuos (profundidade de sondagem e nível clínico de inserção). O e.p.m. e o e.m.p. intra-examinador foram de 0,21mm e 5,3% para a profundidade de sondagem e de 0,27mm e 6,4% para o nível clínico de inserção, respectivamente. Os valores de e.p.m. indicam uma reprodutibilidade aceitável dentro dos parâmetros de pesquisa clínica periodontal. Para as variáveis categóricas considerando a presença ou ausência do parâmetro clínico, foi realizada a média do nível de concordância para o examinador, obtendo-se concordância superior a 90% (Teste Kappa).

Avaliações clínicas foram realizadas no início do estudo (T0), 60 dias após a RAR (no momento cirúrgico – T1) e 60 dias após o momento cirúrgico – T2), em seis sítios por dente (mesiovestibular, vestibular, distovestibular, mesiolingual, lingual, distolingual), em todos os dentes (exceto terceiros molares) utilizando-se de sonda periodontal milimetrada Carolina do Norte (PCPUNC-BR 15 HuFriedy do Brasil, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Os seguintes parâmetros clínicos foram avaliados:

-Índice de Placa Visível - IPV: presença (escore 1) ou ausência (escore 0) de placa supragengival visível;

-Índice de Sangramento Gengival - ISG: presença (escore 1) ou ausência (escore 0) de sangramento da gengiva marginal, após percorrer levemente a sonda periodontal ao longo do sulco gengival;

-Profundidade de Sondagem - PS: distância, em milímetros, entre a margem gengival livre e a porção mais apical sondável do sulco/bolsa periodontal;

-Nível Clínico de Inserção - NCI: distância, em milímetros, entre a junção cimento-esmalte e a porção mais apical sondável do sulco/bolsa periodontal;

-Sangramento à Sondagem - SS: presença (escore 1) ou ausência (escore 0) de sangramento, após 20 segundos da sondagem com a sonda periodontal milimetrada;

-Supuração - SUP: presença (escore 1) ou ausência (escore 0) de SUP espontânea ou após 20 segundos da sondagem com a sonda periodontal milimetrada.

3.5 Procedimentos terapêuticos

3.5.1 Terapia periodontal básica

Após o registro das medidas clínicas e coleta de biofilme subgengival para a análise microbiológica, todos os indivíduos foram submetidos a sessões de adequação do meio bucal que incluem instrução de higiene bucal (IHB), raspagem supragengival de todos os dentes (RSP) com instrumentos manuais,

desgaste de restaurações em excesso, selamento provisório das lesões cariosas cavitadas, curativos endodônticos e exodontias. Durante as sessões de instrução de higiene bucal, os indivíduos foram orientados a utilizar escovas com cerdas macias, juntamente com creme dental Colgate Total® (Anacol Ind. E Com. Ltda - Kolynos do Brasil – Colgate Palmolive Co., São Bernardo do Campo, SP, Brasil). Em seguida, os indivíduos receberam seis sessões de RAR com curetas Gracey, números 5/6, 7/8, 11/12 e 13/14 (Hufriedy) sob anestesia local. Estas sessões de RAR foram realizados por um aluno treinado do Mestrado em Odontologia da Universidade Guarulhos, tiveram a duração de aproximadamente 1 hora e foram realizadas em no máximo 14 dias, sendo que os sítios mais comprometidos foram tratados com prioridade.

As necessidades adicionais de tratamento odontológico, quando observadas, foram encaminhadas às demais disciplinas da clínica odontológica da própria Universidade.

3.5.2 Cirurgia periodontal de acesso à superfície radicular

Após 60 dias da RAR, os indivíduos foram monitorados clinicamente (ver item 3.4 Avaliação clínica) e os sítios localizados nas regiões posteriores (pré-molares e molares) que apresentaram $PS \geq 5\text{mm}$ e presença de SS foram submetidos a terapia cirúrgica de raspagem em campo aberto. Os procedimentos cirúrgicos foram realizados por um mesmo operador (periodontista). Inicialmente os indivíduos foram submetidos a uma anti-sepsia extra-oral com solução de clorexidina a 2% e intra-oral por meio de bochecho com solução de clorexidina 0,12%. A região a ser operada foi anestesiada com uma solução de lidocaína a 2% e 1:100.000 de adrenalina. O preparo da região a ser operada iniciou por meio de uma incisão intra-sulcular com lâmina de bisturi nº 15 C englobando o sítio com $PS \geq 5\text{mm}$ e os dentes adjacentes. Um retalho total foi realizado até a exposição da crista óssea e depósitos de cálculo subgingival e/ou tecido de granulação foram removidos por meio de curetas Gracey, números 7/8, 11/12 e 13/14 (Hufriedy) e do aparelho de ultrassom (Cavitron, Dentsply, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). O retalho foi posicionado no mesmo local de origem e estabilizado com suturas simples por meio de fio de nylon 4-0 (Nylon 4-0, Eticon Inc. Johnson & Johnson Company,

somerville, NJ, EUA). Com o objetivo de evitar sintomatologia dolorosa, os indivíduos receberam analgésicos (Paracetamol 750mg, 1 comprimido a cada 6 horas, por 48 horas). Após a cirurgia, os indivíduos receberam a recomendação de utilizarem clorexidina líquida 0,12% para realizarem a higienização no local da cirurgia durante sete dias, por meio de um cotonete umedecido na solução e levemente friccionado na margem gengival. Caso o indivíduo possuísse vários sítios com encaminhamento para o procedimento cirúrgico, ficou estabelecido que os procedimentos de um hemiarco superior e inferior fossem realizados no mesmo momento e na semana subsequente fossem realizados os procedimentos cirúrgicos no outro hemiarco.

3.5.3 Administração de metronidazol e amoxicilina sistêmicos e placebos

Indivíduos do grupo teste foram submetidos ao procedimento cirúrgico e à administração de 1,2 g/dia de metronidazol (400mg de 8/8 hs) combinado com 1,5 g/dia de amoxicilina (500mg de 8/8 horas) via oral por 10 dias, iniciada junto com a cirurgia. Os indivíduos do grupo controle também foram submetidos ao procedimento cirúrgico, mas receberam os comprimidos de placebo (3x/dia, durante 10 dias), sendo que a administração foi iniciada em conjunto com a terapia cirúrgica.

Os antibióticos e os placebos foram manipulados especialmente para este estudo em uma Farmácia de Manipulação na cidade de Guarulhos. Todas as cápsulas (medicação ou placebo) apresentaram a mesma coloração e tamanho, e foram estocados em frascos plásticos leitosos, devidamente codificados. Quanto ao controle da ingestão da droga nos intervalos pré-determinados, os indivíduos foram orientados a retornar na próxima semana à clínica de Odontologia-UnG, trazendo o frasco vazio. Além disso, também foram monitorados de 4 em 4 dias, pessoalmente ou via telefone pelo pesquisador responsável sobre a cooperação e também sobre a ocorrência de eventuais efeitos adversos dos medicamentos.

3.6 Avaliação microbiológica

3.6.1 Seleção dos sítios-testes

Foram selecionados no mínimo nove sítios em cada voluntário, distribuídos uniformemente de acordo com a profundidade de sondagem inicial nas seguintes categorias: três sítios rasos ($PS \leq 3\text{mm}$), três ou mais sítios intermediários ($PS 4\text{-}6\text{ mm}$), e três ou mais sítios profundos ($PS \geq 7\text{mm}$). Sítios localizados em dentes com próteses mal adaptadas, lesão de cárie extensa e/ou lesão endo-periodontal não foram utilizados. Em virtude da impossibilidade de saber qual sítio com $PS \geq 5\text{mm}$ responderia de maneira insatisfatória exigindo o procedimento cirúrgico posterior (profundidade de sondagem remanescente $\geq 5\text{mm}$), as amostras de biofilme subgengival foram coletadas de todos os sítios com $PS \geq 5\text{mm}$ no início do estudo. Porém, somente nove sítios foram escolhidos para a análise em todos os tempos, dando preferência àqueles que foram submetidos à cirurgia.

As amostras de biofilme foram coletadas no início do estudo e nos tempos T1 e T2.

3.6.2 Coleta das amostras de biofilme subgengival

Após a remoção de cálculo e biofilme supragengivais, as amostras de biofilme subgengival foram retiradas com curetas Gracey do tipo minifive 11-12 estéreis, posicionadas na porção mais apical dos sítios e em um único golpe de raspagem no sentido ápico-coronal. As amostras foram imediatamente depositadas em tubos plásticos individuais contendo 150 μL de solução tampão TE (10 mM Tris-HCL (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, EUA), 1 mM EDTA (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, SP, Brasil), pH 7,6, e a estas foi acrescentado 100 μL de NaOH (Labsynth) a 0,5M para que o DNA bacteriano permaneça viável por um longo período de tempo. Esses tubos plásticos foram previamente identificados com o código do indivíduo, data e sítio, e após a coleta foram armazenados sob refrigeração a -20°C até as amostras serem analisadas por meio da técnica do *checkerboard DNA-DNA hybridization* para 40 cepas bacterianas no Laboratório de Pesquisa em Odontologia II da UnG.

3.6.3 Cepas bacterianas e condições de crescimento

A lista das 40 cepas bacterianas utilizadas neste estudo para o preparo das sondas de DNA está apresentada na Tabela 1. Todas as cepas foram adquiridas liofilizadas da ATCC (American Type Culture Collection, Rockville, MD, EUA) ou do Forsyth Institute (Boston, MA, EUA). O conteúdo liofilizado foi reidratado em caldo para crescimento de *Mycoplasma* (Difco Laboratories, Detroit, MI, EUA) e cultivado em ágar-triptose de soja (Difco) contendo 5% de sangue desfibrinado de ovelha (BBL, Baltimore Biological Laboratories, Cockeysville, MD, EUA) a 35°C sob condição de anaerobiose (80% N₂, 10% CO₂, 10% H₂). Algumas bactérias foram cultivadas em meios de cultura enriquecidos de forma a suprir suas necessidades nutricionais. *T. forsythia*, por exemplo, foi cultivada em ágar-triptose de soja com 5% de sangue desfibrinado de ovelha e 10 µg/mL de ácido N-acetil murâmico (NAM) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA); enquanto *P. gingivalis* cresce em um meio similar, suplementado com 5% de sangue desfibrinado de ovelha, 0,3 µg/mL de menadiona (Sigma) e 5 µg/mL de hemina (Sigma). As espécies *T. denticola* e *Treponema socranskii* foram cultivadas em caldo para crescimento de *Mycoplasma* suplementado com 1 mg/mL de glicose (Sigma), 400 µg/mL de niacinamida (Sigma), 150 µg/mL de espermina tetraidroclorídrica (Sigma), 20 µg/mL de isobutirato de sódio (ICN, Costa Mesa, CA, EUA), 1 mg/mL de L-cisteína (Sigma), 5 µg/mL de tiamina pirofosfato (Sigma) e 0,5% de soro bovino (Laborclin, São José dos Pinhais, PR, Brasil).

3.6.4 Isolamento do DNA e preparo das sondas

As cepas bacterianas foram cultivadas anaerobicamente na superfície de ágar-sangue, com exceção das duas espécies de espiroquetas, que foram cultivadas em caldo, por 3 a 7 dias. As colônias foram raspadas e depositadas em tubos plásticos para microcentrifuga de 1,5 mL contendo 1 mL de solução TE (pH 7,6). As células foram lavadas 2 vezes por centrifugação na solução-tampão de TE a 3.500xg por 10 minutos. Em seguida, as cepas gram-negativas foram novamente suspensas e lisadas com SDS (dodecilsulfato de sódio, C₁₂H₂₅NaO₄S, Labsynth) a 10% e proteinase K (Sigma) em uma concentração de 20 mg/mL. As cepas de bactérias gram-positivas foram

lisadas em 150µL de uma mistura enzimática contendo 15 mg/mL de lisozima (Sigma) e 5 mg/mL de acromopeptidase (Sigma) em solução tampão TE (pH 8,0).

O DNA foi isolado e purificado como descrito por Smith et al. (1989). As sondas genômicas foram preparadas para cada uma das 40 espécies pela marcação de 1 µg do DNA bacteriano com digoxigenina, por meio do *random primer digoxigenin labeling kit* (Roche Diagnostics, Indianápolis, IN, EUA), de acordo com o método descrito por Feinberg & Vogelstein (1983). As espécies avaliadas foram selecionadas segundo suas associações com diferentes tipos de doenças ou saúde periodontal (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 1994b; SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2005).

3.6.5 Checkerboard DNA-DNA Hybridization

As suspensões contidas nos tubos plásticos foram fervidas em banho-maria por 10 minutos e, em seguida, neutralizadas pela adição de 0,8 ml de acetato de amônia a 5M. Cada suspensão de biofilme dental contendo o DNA livre foi depositada em uma das canaletas do *Minislot* 30 (Immunitics, Cambridge, MA, EUA) e transferida para a membrana de *nylon* (15 x 15 cm – Figura 2) com carga positiva (Amersham Biosciences UK Limited, Buckinghamshire, Inglaterra). As duas últimas das 30 canaletas do *Minislot* foram ocupadas por controles contendo uma mistura das espécies de microrganismos investigados pelas sondas, nas concentrações correspondentes a 10^5 e 10^6 células, ou seja, 1 ng e 10 ng de DNA de cada espécie, respectivamente. A membrana foi removida do *Minislot* 30 e o DNA nela concentrado será fixado por aquecimento em forno a 120°C por 20 min.

A membrana foi pré-hibridizada a 42°C, por 1 hora, em uma solução contendo 50% formamida (Vetec Química Fina Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), 1% caseína (Vetec), 5 x solução salina citratada (SSC) (1 x SSC= 150mM NaCl (Vetec), 15M de citrato de sódio (J.T.Baker, Edo. de Méx., México) , pH 7,0, 25mM de fosfato de sódio (Na_2HPO_4 , Labsynth) pH 6,5 e 0,5 mg/mL de RNA de levedura (Sigma).

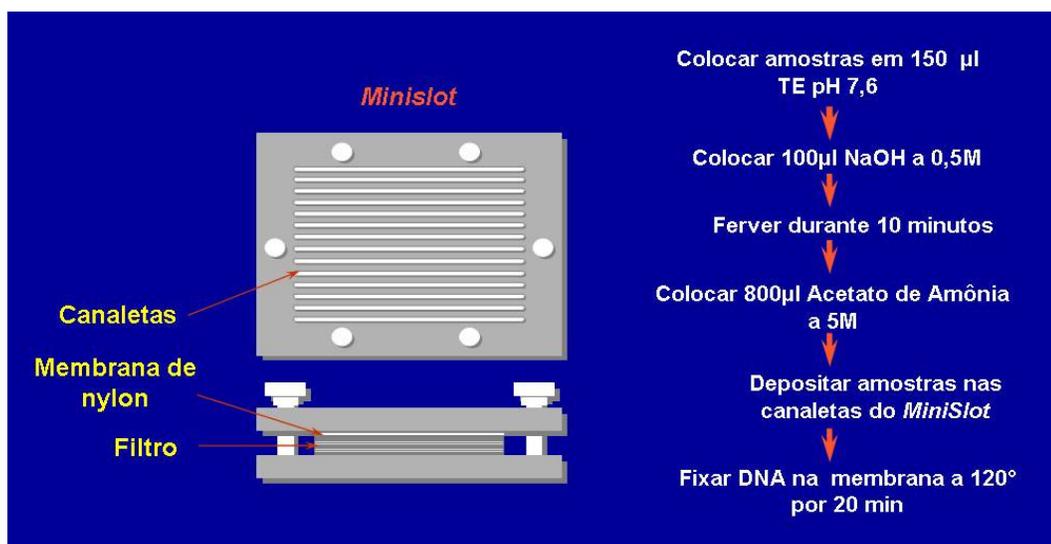


Figura 2. Representação gráfica do *Minislot* (Immunitics, Cambridge, MA, USA) e resumo da preparação e deposição das amostras de biofilme subgingival (técnica *Checkerboard DNA-DNA Hybridization*).

Em seguida, a membrana foi posicionada no *Miniblotter* 45 (Immunitics, Cambridge, MA, EUA – Figura 3) com as linhas contendo o DNA das amostras e dos controles posicionadas perpendicularmente às canaletas do aparato. Em cada canaleta do *Miniblotter* 45 foi adicionada uma sonda de DNA, diluída a aproximadamente 20 η g/mL, em 130 μ L de solução de hibridização composta de 45% formamida, 5 x SSC, 20mM de Na_2HPO_4 (pH 6,5), 0,2 mg/ml de RNA de levedura, 10% de sulfato de dextrano (Amersham) e 1% caseína. A hibridização ocorreu dentro de um período mínimo de 20 horas, a 42°C.

Após o período de hibridização, a membrana foi removida do *Miniblotter* 45 (Immunitics), lavada por 40 minutos a 65°C numa solução adstringente composta por 1% de SDS, 1mM de EDTA e 20mM de Na_2HPO_4 , a fim de remover sondas que não hibridizaram completamente. Em seguida, a membrana foi imersa por 1 hora em uma solução contendo 1% de ácido maleico ($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4$, Vetec), 3M NaCl, 0,2M NaOH (Labsynth), 0,3% Tween 20 (Vetec), 0,5% caseína, pH 8,0, e, logo após, por 30 minutos, na mesma solução contendo o anticorpo anti-digoxigenina conjugado à fosfatase alcalina

(Roche) em uma concentração de 1:10.000. A membrana foi, então, lavada 2 vezes, por 20 minutos, em uma solução de 0,1M de ácido maleico, 3M de NaCl, 0,2M de NaOH, 0,3% de Tween 20, pH 8,0, e 1 vez, por 5 minutos, em uma solução de 0,1M de Tris HCl, 0,1M de NaCl, pH 9,5.

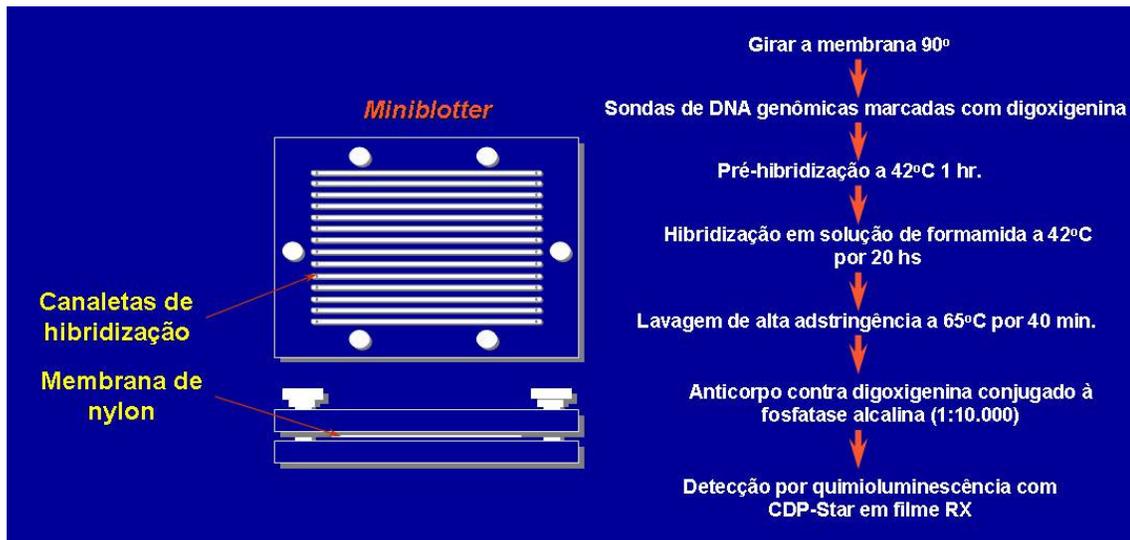


Figura 3. Representação gráfica do *Miniblotter* (Immunetics, Cambridge, MA, USA) e resumo das etapas de hibridização e detecção das espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival (técnica *Checkerboard DNA-DNA Hybridization*).

Para a detecção dos sinais a membrana foi incubada por 45 minutos a 37°C em uma solução detectora contendo substrato para fosfatase alcalina, *CDP-Star™ Detection Reagent* (Amersham). Em seguida, a membrana foi colocada em um cassete, Chassi Radiográfico 30 x 40 cm (Konex, São Paulo, SP, Brasil), sob um filme radiográfico 18 x 24 cm (Agfa Gevaert, NV, Bélgica) por aproximadamente 40 minutos. O filme foi posteriormente revelado (Figuras 4 e 5) manualmente pelo método convencional temperatura-tempo, de acordo com orientações do fabricante. As soluções utilizadas foram da marca Kodak (Kodak Brasileira Com. e Ind. Ltda, São José dos Campos, SP, Brasil), mantidas a temperatura de 20°C.

A leitura dos filmes radiográficos foi realizada por um único examinador treinado, calibrado e cego para as terapias empregadas. A leitura

foi realizada 2 vezes, em dias diferentes, para conferência de resultados. Cada sinal produzido por uma determinada sonda na amostra de biofilme foi comparado, em intensidade, ao sinal produzido pela mesma sonda nas 2 linhas de controles contendo 10^5 e 10^6 bactérias. Desta forma, o número 0 foi registrado quando não houver detecção do sinal; 1 equivaleu a um sinal menos intenso que o controle de 10^5 células; 2 equivaleu a 10^5 células; 3 entre 10^5 e 10^6 células; 4 a aproximadamente 10^6 células e 5 mais de 10^6 células (Tabela 2). Estes registros foram utilizados para determinar os níveis das diferentes espécies investigadas nas diferentes amostras avaliadas.

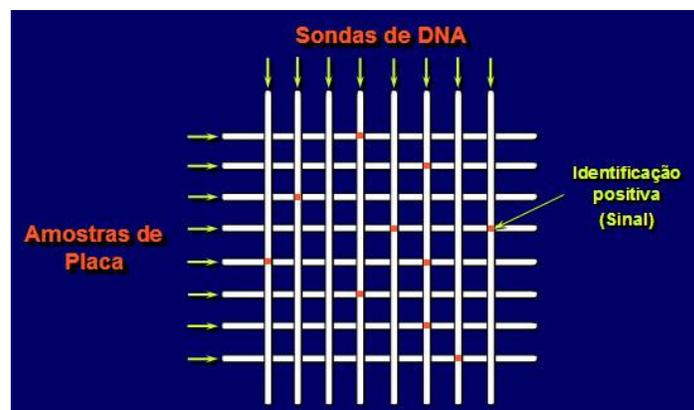


Figura 4. Representação gráfica do padrão de hibridização entre as bactérias presentes nas amostras de biofilme e as sondas de DNA (técnica *Checkerboard DNA-DNA Hybridization*).

Tabela 1. Relação das cepas bacterianas empregadas para a confecção das sondas de DNA. As espécies estão agrupadas por complexos bacterianos (Socransky et al., 1998; Socransky & Haffajee, 2002).

Espécies	Cepas	Espécies	Cepas
Complexo Azul		Complexo Laranja (cont.)	
<i>Actinomyces gerencseriae</i>	23860 ^a	<i>Fusobacterium nucleatum</i> ssp <i>nucleatum</i>	25586 ^a
<i>Actinomyces israelii</i>	12102 ^a	<i>Fusobacterium nucleatum</i> ssp <i>polymorphum</i>	10953 ^a
<i>Actinomyces naeslundii</i> I	12104 ^a	<i>Fusobacterium nucleatum</i> ssp <i>vincentii</i>	49256 ^a
<i>Actinomyces oris</i>	43146 ^a	<i>Fusobacterium periodonticum</i>	33693 ^a
Complexo Roxo		<i>Parvimonas micra</i>	33270 ^a
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	17929 ^a	<i>Prevotella intermedia</i>	25611 ^a
<i>Veillonella parvula</i>	10790 ^a	<i>Prevotella nigrescens</i>	33563 ^a
Complexo Amarelo		<i>Streptococcus constellatus</i>	27823 ^a
<i>Streptococcus gordonii</i>	10558 ^a	Complexo Vermelho	
<i>Streptococcus intermedius</i>	27335 ^a	<i>Tannerella forsythia</i>	43037 ^a
<i>Streptococcus mitis</i>	49456 ^a	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	33277 ^a
<i>Streptococcus oralis</i>	35037 ^a	<i>Treponema denticola</i>	B1 ^b
<i>Streptococcus sanguinis</i>	10556 ^a	Outras Espécies	
Complexo Verde		<i>Eubacterium saburreum</i>	33271 ^a
<i>Aggregatibacter</i>	43718 ^a	<i>Gemella morbillorum</i>	27824 ^a
<i>actinomycetemcomitans</i> a + b	29523 ^a	<i>Leptotrichia buccalis</i>	14201 ^a
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	33624 ^a	<i>Neisseria mucosa</i>	19696 ^a
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	33596 ^a	<i>Prevotella melaninogenica</i>	25845 ^a
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	33612 ^a	<i>Propionibacterium acnes</i> I + II	11827 ^a
<i>Eikenella corrodens</i>	23834 ^a		11828 ^a
Complexo Laranja		<i>Selenomonas noxia</i>	43541 ^a
<i>Campylobacter gracilis</i>	33236 ^a	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397 ^a
<i>Campylobacter rectus</i>	33238 ^a	<i>Treponema socranskii</i>	S1 ^b
<i>Campylobacter showae</i>	51146 ^a		
<i>Eubacterium nodatum</i>	33099 ^a		

^a ATCC (American Type Culture Collection); ^b Forsyth Institute

3.7 Análise estatística

Avaliação clínico-periodontal

A média dos parâmetros clínicos de boca toda avaliados foi computada para cada indivíduo e, posteriormente, dentro de cada grupo. De maneira semelhante, as médias das alterações dos parâmetros clínicos nos três tempos experimentais foram categorizadas em sítios rasos ($PS \leq 3\text{mm}$), intermediários ($PS 4-6\text{ mm}$), e profundos ($PS \geq 7\text{mm}$). As diferenças entre os tempos experimentais em cada grupo foram analisadas por meio dos testes Friedman e Wilcoxon. O teste U de Mann-Whitney foi utilizado para examinar diferenças entre os dois grupos terapêuticos em cada tempo experimental. A significância estatística foi estabelecida em 5% ($p < 0,05$).

Avaliação microbiológica

Os dados microbiológicos resultaram da análise das 40 espécies bacterianas em nove amostras de biofilme subgengival por indivíduo e foram expressos em percentual de contagem das sondas de DNA (proporção). A proporção de cada espécie foi computada para cada sítio, depois foram calculadas as médias entre os sítios em cada indivíduo, e então entre os indivíduos de um mesmo grupo terapêutico em cada tempo experimental. Os dados iniciais (proporções) foram analisados pelo teste U de Mann-Whitney para detectar possíveis diferenças significantes entre os dois grupos terapêuticos. Diferenças nas proporções de microrganismos dentro de cada grupo, entre os tempos experimentais foram avaliadas por meio dos testes Friedman e Wilcoxon. A significância estatística foi estabelecida em 5%.

4 RESULTADOS

Os dados obtidos nas avaliações clínica e microbiológica dos indivíduos com doença periodontal crônica estão apresentados na Tabela 3 e nas Figuras 6-11. Dos 20 indivíduos selecionados no início do estudo e aleatoriamente distribuídos entre os dois grupos terapêuticos, todos completaram a participação no estudo, sendo que 10 indivíduos pertenciam ao grupo controle (C) e 10 ao grupo que ingeriu metronidazol e amoxicilina (T).

4.1 Resultados clínicos

As características epidemiológicas e as médias dos parâmetros clínicos avaliados no exame inicial (T0), 60 dias após a RAR (no momento cirúrgico - T1) e 60 dias após o momento cirúrgico (T2), nos dois grupos terapêuticos, estão apresentadas na Tabela 3 e nas Figuras 6-8.

Os resultados demonstraram que os grupos eram homogêneos no início do estudo e permaneceram homogêneos após a realização da terapia periodontal básica (60 dias após a RAR - T1), sem diferença estatística entre os grupos para qualquer parâmetro clínico. As duas terapias propostas após a RAR, no T1, promoveram melhoras nos parâmetros clínicos observados no T2, porém tais melhoras não alcançaram significância estatística ($p > 0,05$). A única exceção foi o parâmetro NCI que apresentou melhora entre T1 (60 dias após a RAR) e T2 (60 dias após o momento cirúrgico) após a RAR no grupo teste, evidenciada por uma redução estatisticamente significativa (Tabela 3).

A Figura 6 demonstra que os parâmetros PS e NCI reduziram após o procedimento cirúrgico, porém a associação com antibioticoterapia (grupo teste) não promoveu benefícios adicionais. Apesar de não ter sido encontrada diferença estatística entre os grupos ($p > 0,05$), foi possível observar uma discreta alteração clínica superior no grupo teste, sendo que as reduções em PS, entre T1 e T2, foram de 0,38mm e 0,51mm, respectivamente para os grupos controle e teste. Para o NCI, as reduções foram de 0,14mm e 0,24mm, respectivamente para os grupos controle e teste.

Para um melhor entendimento do efeito entre as duas terapias e para permitir comparações mais claras entre os grupos, os sítios foram divididos baseados nos valores iniciais de PS, sendo rasos ($PS \leq 3\text{mm}$), intermediários ($PS 4\text{-}6\text{mm}$) e profundos ($PS \geq 7\text{ mm}$). A Figura 7 apresenta o gráfico com os valores médios das alterações observadas para os parâmetros clínicos de PS e NCI nos tempos T1 e T2, nas três categorias de PS estabelecidas inicialmente. As duas terapias promoveram melhoras clínicas em PS e NCI nos dois tempos experimentais, principalmente nos sítios intermediários e profundos, porém sem diferença estatística entre os grupos ($p > 0,05$). Comparando-se as alterações ocorridas entre T1 e T2, pequenas diferenças apareceram após a terapia cirúrgica, sugerindo discreta vantagem para o grupo teste. As reduções em PS nos sítios intermediários foram de 0,67mm e 0,83mm, e nos sítios profundos foram de 1,19mm e 1,53mm, respectivamente para os grupos controle e teste. Para o NCI, as reduções nos sítios intermediários foram de 0,33mm e 0,57mm, e nos sítios profundos foram de 0,59mm e 0,85mm, respectivamente para os grupos controle e teste.

A Figura 8 apresenta o percentual de sítios com $PS \geq 5\text{mm}$ nos três tempos experimentais (inicial – T0, 60 dias após a RAR – T1 e 60 dias após o momento cirúrgico – T2) nos dois grupos terapêuticos. No início do estudo os dois grupos apresentaram percentuais similares de sítios com $PS \geq 5\text{mm}$, sendo 26,5% no grupo controle e 27,0% no grupo teste. Nos tempos T1 e T2, tais números reduziram drasticamente ($p < 0,05$). Na avaliação de 60 dias após o procedimento cirúrgico (T2) os percentuais observados foram 2,6% de sítios com $PS \geq 5\text{mm}$ no grupo controle e 2,2% no grupo teste.

A análise dos dados clínicos referentes apenas aos sítios que foram submetidos ao procedimento cirúrgico revelou que não houve diferença estatística entre os grupos em nenhum dos tempos de avaliação (dados não apresentados).

Tabela 3. Média (\pm DP) dos parâmetros clínicos, no exame inicial (T0), 60 dias após a RAR (T1) e 60 dias após o procedimento cirúrgico (T2) para os dois grupos terapêuticos.

Variáveis	Tempos	Grupos terapêuticos	
		Controle (n=10) (CIR+PCB)	Teste (n=10) (CIR+ANT)
Gênero (Ma / Fe)	T0	4 / 6	4 / 6
Idade (anos)	T0	47,6 \pm 7,6	44,3 \pm 6,2
PS \leq 3 mm (%)	T0	55,5 \pm 13,2	58,9 \pm 19,5
PS 4-6 mm (%)	T0	25,8 \pm 9,8	23,7 \pm 12,8
PS \geq 7 mm (%)	T0	18,7 \pm 7,8	16,4 \pm 9,8
PS (mm) ^{NS}	T0	3,50 \pm 0,4 ^a	3,50 \pm 0,5 ^a
	T1	2,64 \pm 0,2 ^b	2,75 \pm 0,4 ^b
	T2	2,25 \pm 0,2 ^b	2,24 \pm 0,3 ^b
NCI (mm) ^{NS}	T0	4,40 \pm 0,4 ^a	4,40 \pm 0,7 ^a
	T1	3,82 \pm 0,5 ^b	3,87 \pm 0,6 ^b
	T2	3,68 \pm 0,4 ^b	3,63 \pm 0,6 ^c
% sítios IPV 1 ^{NS}	T0	77,00 \pm 13,9 ^a	87,00 \pm 9,4 ^a
	T1	62,00 \pm 23,0 ^b	61,00 \pm 15,8 ^b
	T2	45,00 \pm 23,1 ^b	44,00 \pm 21,9 ^b
% sítios ISG 1 ^{NS}	T0	56,35 \pm 18,4 ^a	54,29 \pm 18,1 ^a
	T1	31,30 \pm 12,8 ^b	31,90 \pm 21,8 ^b
	T2	18,10 \pm 10,8 ^b	16,90 \pm 12,9 ^b
% sítios SS 1 ^{NS}	T0	63,41 \pm 17,5 ^a	60,00 \pm 20,6 ^a
	T1	29,90 \pm 12,6 ^b	28,00 \pm 16,0 ^b
	T2	13,00 \pm 8,9 ^b	12,90 \pm 9,7 ^b
% sítios Sup 1 ^{NS}	T0	0,0 \pm 1,0 ^a	0,1 \pm 1,0 ^a
	T1	0,0 \pm 0,2 ^b	0,0 \pm 0,0 ^b
	T2	0,0 \pm 0,2 ^b	0,0 \pm 0,0 ^b

RAR: Raspagem e alisamento radicular; ANT: Antibióticos (Metronidazol + Amoxicilina); PS: Profundidade de Sondagem; NCI: Nível Clínico de Inserção; IPV 1: Índice de Placa Visível (escore 1); ISG 1: Índice de Sangramento Gengival (escore 1); SS 1: Sangramento à Sondagem (escore 1); Sup 1: Supuração (escore 1).

^{NS} Teste U de Mann-Whitney ($p > 0,05$): sem diferenças estatísticas entre os grupos.

Teste Friedman e Wilcoxon: Letras distintas indicam as diferenças existentes entre os tempos.

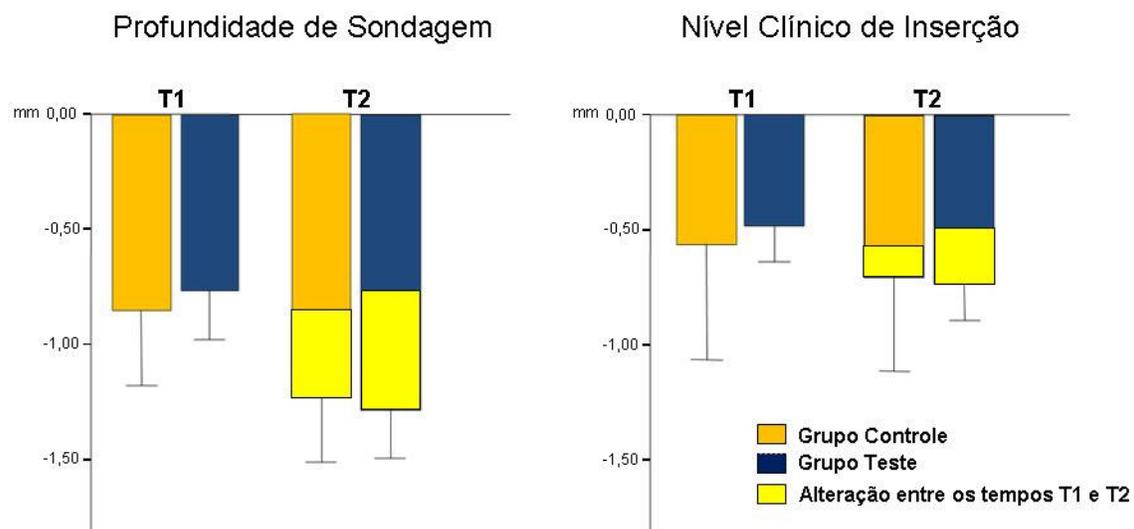


Figura 6. Alterações nas médias de profundidade de sondagem e nível clínico de inserção, de boca toda, ocorridas nos tempos T1 (entre início e 60 dias após a RAR) e T2 (entre início e 60 dias após o momento cirúrgico) nos dois grupos terapêuticos.

Teste U de Mann-Whitney: $p > 0,05$, sem diferenças estatísticas entre os grupos.

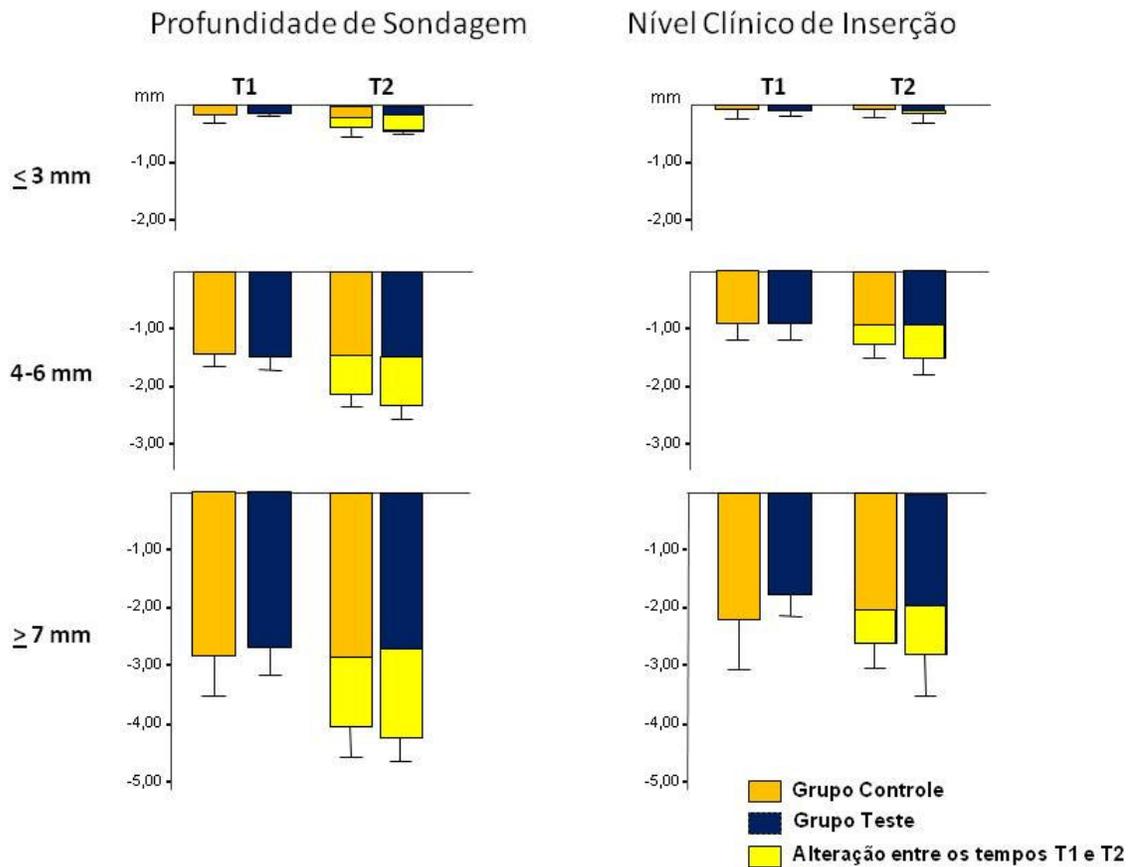


Figura 7. Alterações nas médias de profundidade de sondagem e nível clínico de inserção, de acordo com as categorias de profundidade de sondagem inicial, ocorridas nos tempos T1 (entre início e 60 dias após a RAR) e T2 (entre início e 60 dias após o momento cirúrgico) nos dois grupos terapêuticos.

Teste U de Mann-Whitney: $p > 0,05$, sem diferenças estatísticas entre os grupos.

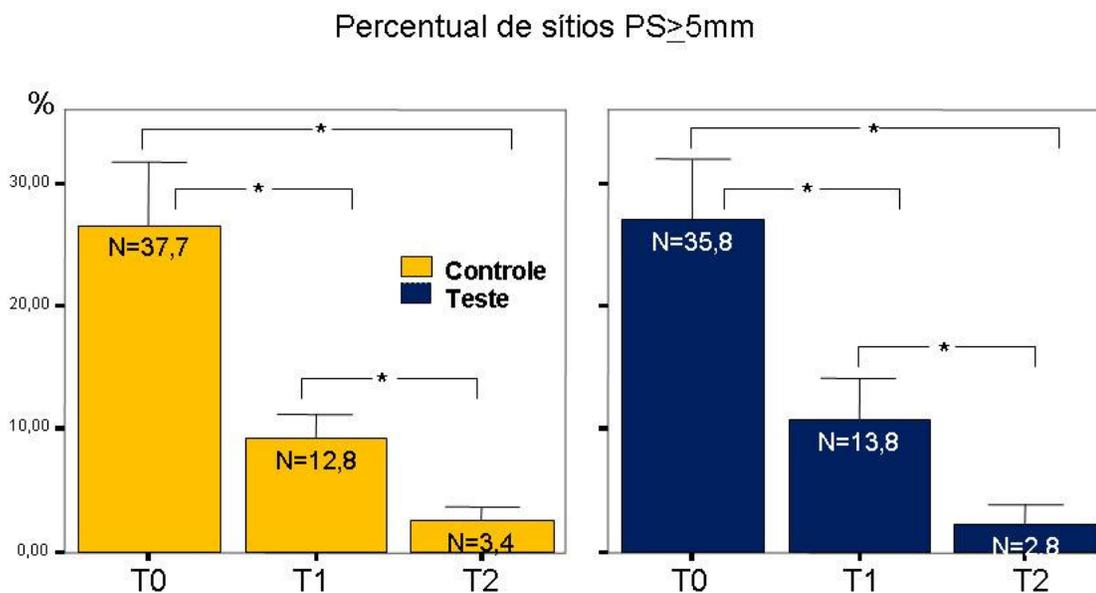


Figura 8. Alterações na média percentual de sítios com profundidade de sondagem (PS) \geq 5 mm, ocorridas nos tempos T0 (início), T1 (60 dias após a RAR) e T2 (60 dias após o momento cirúrgico) nos dois grupos terapêuticos.

* Teste Wilcoxon: $p < 0,05$.

4.2 Resultados microbiológicos

A Figura 9 apresenta a proporção das 40 espécies bacterianas avaliadas nos dois grupos experimentais (C e T), no exame inicial (T0), 60 dias após a RAR (T1) e 60 dias após o momento cirúrgico (T2). As proporções médias de cada grupo experimental foram computadas para cada indivíduo e depois dentro do grupo. A composição da microbiota subgengival nos dois grupos terapêuticos mostrou-se com perfis semelhantes no início do estudo, ou seja, não foram encontradas diferenças estatísticas em proporções para nenhuma das espécies bacterianas analisadas. Isso demonstra a homogeneidade dos grupos. As duas terapias propostas alteraram significativamente as proporções de vários microrganismos, sendo destaque as reduções significativas observadas no complexo vermelho (*P. gingivalis*, *T. forsythia* e *T. denticola*), exceto as proporções de *T. denticola* que no grupo controle demonstraram diferenças estatisticamente significantes apenas entre o tempo inicial (T0) e 60 dias após a RAR. De forma geral, os níveis e as proporções da maioria das espécies do complexo laranja foram reduzidos nos dois grupos nos tempos T1 e T2. Outro ponto muito importante foi a observação da alteração do perfil microbiológico em relação ao aumento das proporções das espécies consideradas compatíveis com o hospedeiro (complexos azul, roxo, amarelo e verde), principalmente os *Actinomyces sp* integrantes do complexo azul (Figura 9).

A Figura 10 mostra as alterações ocorridas nas proporções dos diferentes complexos microbianos nos dois grupos e em todos os tempos experimentais. Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos para nenhum dos complexos avaliados nos tempos T0, T1 e T2. As proporções dos complexos considerados benéficos (azul, roxo, verde e amarelo) aumentaram após as terapias, com destaque para o complexo azul. No tempo T2 (60 dias após o procedimento cirúrgico) as duas terapias demonstraram uma redução significativa nas proporções do complexo vermelho, alterando de 35,11% para 8,3% no grupo controle e 34,65% para 6,48% no grupo teste.

Para um melhor entendimento da influência das duas terapias nos resultados microbiológicos, a Figura 11 apresenta a redução ocorrida nas proporções do complexo vermelho em T1 (entre início e 60 dias após a RAR) e T2 (entre início e 60 dias após o momento cirúrgico), para os dois grupos terapêuticos. Não houve diferença entre os grupos em T1 ou T2, porém quando a alteração entre T1 e T2 foi analisada, observou-se diferença significativa entre os grupos, sendo que o grupo que associou a antibioticoterapia aos procedimentos cirúrgicos demonstrou a maior redução no complexo vermelho.

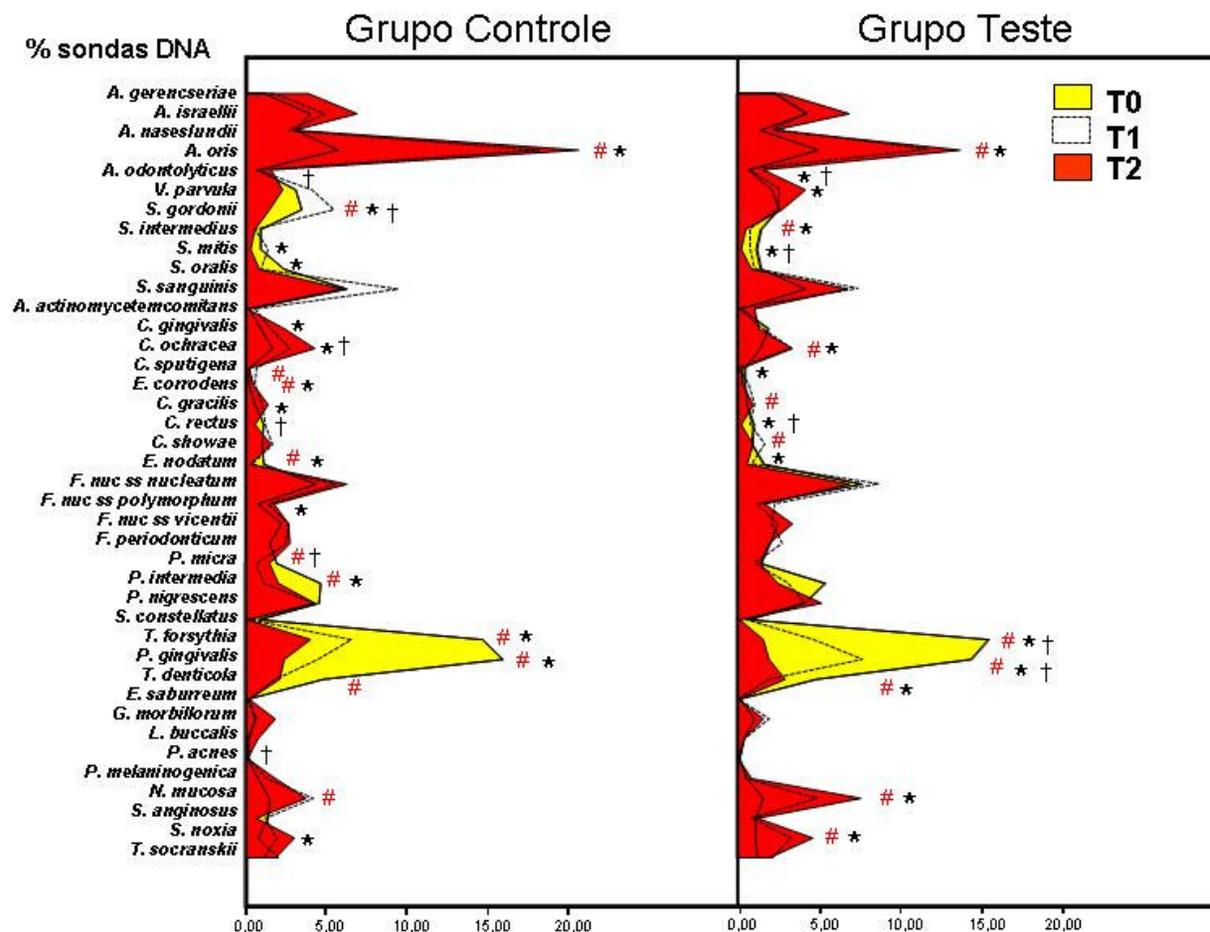


Figura 9. Perfil microbiano das médias de proporção (%) das 40 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgingival nos tempos T0 (início), T1 (60 dias após a RAR) e T2 (60 dias após o momento cirúrgico) nos dois grupos terapêuticos.

Teste de Wilcoxon (# $p < 0,05$, entre início e T1; * $p < 0,05$, entre início e T2; † $p < 0,05$, entre T1 e T2).

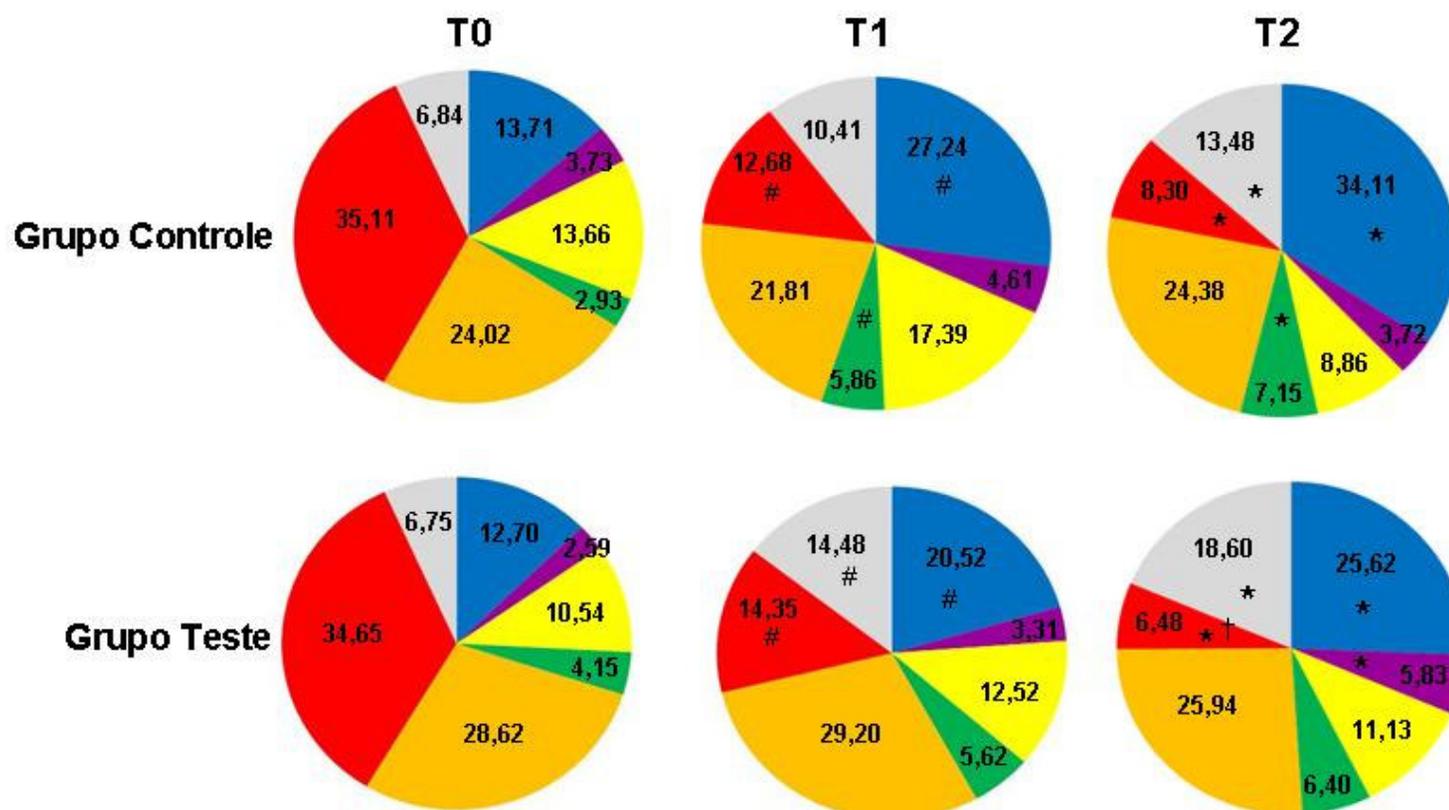


Figura 10. Proporções (%) dos complexos microbianos presentes nas amostras de biofilme subgingival nos tempos T0 (início), T1 (60 dias após a RAR) e T2 (60 dias após o momento cirúrgico) nos dois grupos terapêuticos. Teste de Wilcoxon (# $p < 0,05$, entre início e T1; * $p < 0,05$, entre início e T2; † $p < 0,05$, entre T1 e T2).

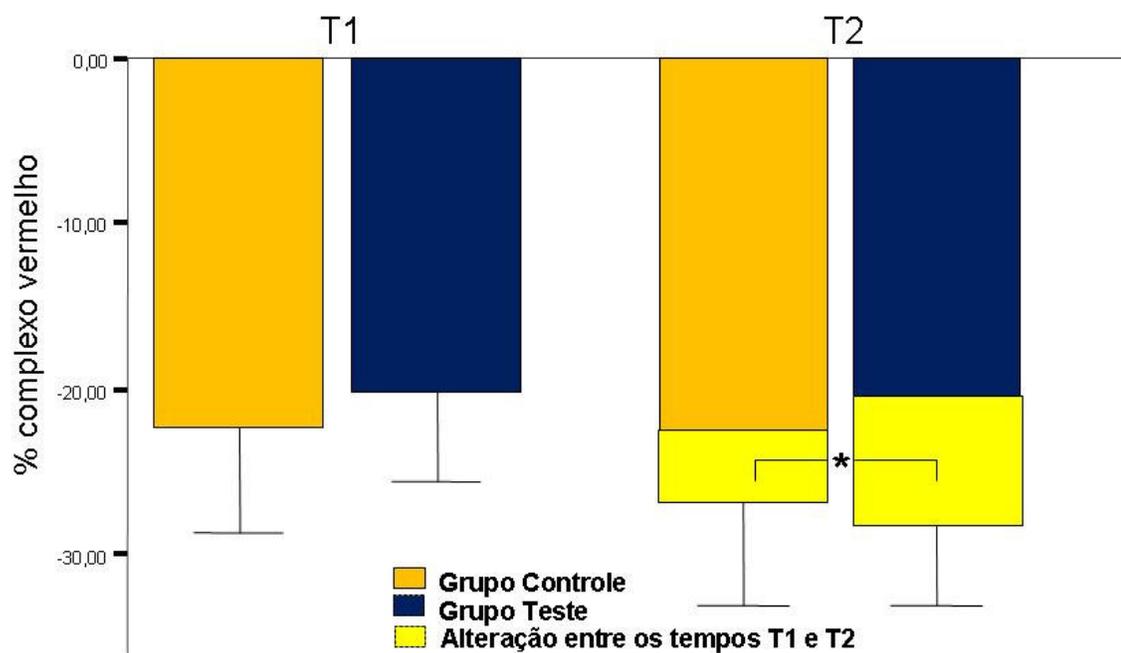


Figura 11. Alterações nas médias das proporções do complexo vermelho ocorridas nos tempos T1 (entre início e 60 dias após a RAR) e T2 (entre início e 60 dias após o momento cirúrgico) nos dois grupos terapêuticos.

Teste U de Mann-Whitney (* $p < 0,05$).

5 DISCUSSÃO

A doença periodontal crônica é reconhecida como a forma mais comum de periodontite e, portanto a busca em se definir uma terapia periodontal eficaz é uma questão constante. Dentre as terapias propostas, a RAR é considerada um tratamento periodontal convencional (AAP, 1996), entretanto seu efeito pode ser questionável para reduzir e/ou eliminar os microrganismos patogênicos presentes no biofilme (CAFFESSE et al., 1986; SHERMAN et al., 1990; ANDERSON et al., 1996). Alguns fatores podem dificultar a instrumentação, como por exemplo, a anatomia dentária como concavidades, limite esmalte-cimento, região de bi e tri-furcações, variações anatômicas, dificuldades de acesso e de visibilidade do campo operatório (RABBANI et al., 1981; BUCHANAN & ROBERTSON, 1987; BRAYER et al., 1989; FLEISCHER et al., 1989; COBB, 2002).

Diversas terapias adjuntas à RAR têm sido propostas com o objetivo de potencializar os efeitos benéficos dessa forma de tratamento. O uso de antimicrobianos sistêmicos oferece vantagens no tratamento das infecções periodontais (SLOTS & RAMS, 1991). Estes agentes entram em áreas subgingivais via fluido crevicular e podem alcançar patógenos em sítios profundos, além do potencial de suprimir patógenos em superfícies mucosas e outros sítios bucais (SLOTS & VAN WINKELHOFF, 1993). A cirurgia periodontal também figura entre as terapias que visam melhorar o resultado da RAR por promover acesso visual às regiões de difícil acesso e facilitar a manutenção periodontal por um período mais longo de tempo (GOLDMAN, 1951; OCHSENBEIN, 1986). Vários estudos têm mostrado que os procedimentos cirúrgicos periodontais apresentam melhores resultados clínicos para os parâmetros de PS e NCI em sítios profundos e médios, mas em sítios rasos mostram maior perda NCI em relação à RAR (LINDHE et al., 1982; WANG & GREENWELL, 2001; HEITZ-MAYFIELD et al., 2002).

Quanto à antibioticoterapia sistêmica empregada neste estudo, esta foi selecionada com base em estudos anteriores que sugeriram a efetividade clínica e microbiológica desses antibióticos sistêmicos no tratamento da periodontite crônica (FERES et al., 2001; WINKEL et al., 2001; ROONEY et al., 2002; CARVALHO et al., 2004 e 2005; HAFFAJEE et al., 2007; MOEINTEGHAVI et al., 2007; MATARAZZO et al., 2008; CIONCA et al., 2009).

Ainda não foram estabelecidos o tempo de administração e a dosagem ideal do metronidazol/amoxicilina para o tratamento da infecção periodontal. Este estudo seguiu a recomendação de Montvale (1992) no *Physicians Desk Reference (Medical Economics Staff)*, que recomenda até 1.500mg/dia de metronidazol para tratar infecções anaeróbias, e da ANVISA – DICIONÁRIO de ESPECIALIDADES FARMACÊUTICAS (2007), que recomenda até 1.500 mg/dia de amoxicilina. O presente estudo utilizou metronidazol e/ou amoxicilina durante 10 dias, iniciada junto com a terapia cirúrgica e está em concordância com outros autores que utilizaram por 14 dias junto com a terapia de RAR (HAFFAJEE et al., 2007 e 2008; MATARAZZO et al., 2008). A utilização da antibioticoterapia até por duas semanas está dentro dos limites biológicos aceitáveis e tem sido utilizada no tratamento de outras infecções, como no caso de úlceras gástricas causadas por *Helicobacter pylori* (UYGUN et al., 2007). A escolha deste protocolo terapêutico, 10 dias de antibioticoterapia, visou à disponibilidade da droga no ambiente subgingival pelo máximo de tempo possível durante a fase cirúrgica da terapia periodontal.

Em relação aos efeitos colaterais das drogas, os indivíduos participantes do estudo foram monitorados de 4 em 4 dias, pessoalmente ou via telefone. Poucos efeitos adversos foram relatados, sendo que apenas dois indivíduos se queixaram de gosto ruim na boca e um indivíduo sentiu náuseas. É importante salientar que, apesar de certos indivíduos terem relatado algumas reações colaterais ao uso da combinação metronidazol/amoxicilina, em nenhum caso as medicações foram interrompidas por esse motivo. Outro ponto importante é o fato de que apesar de alguns indivíduos terem relatado algum desconforto, todos alegaram que tomariam novamente a medicação.

Em relação aos dados clínicos analisados no tempo T1 (60 dias após a RAR) foi possível observar benefícios clínicos alcançados por esta forma de terapia convencional tanto para os resultados de boca toda (Tabela 3 e Figura 6) quanto para os sítios subdivididos (Figura 7) em rasos ($PS \leq 3\text{mm}$), intermediários ($PS 4-6\text{mm}$) ou profundos ($PS \geq 7\text{mm}$). A subdivisão dos sítios de acordo com a PS inicial deixou evidente que os sítios inicialmente intermediários e profundos apresentaram a melhor resposta clínica na redução de PS e NCI. Tais resultados corroboram com outros estudos que mostram o efeito clínico benéfico da RAR em curto prazo (MORRISON et al., 1980; BADERSTEN et al., 1987; PHILSTROM et al., 1981; LINDHE et al., 1983; CLAFFEY et al., 1988; KALDHAL et al., 1988; HAFFAJEE et al.,

1997; JEFFCOAT et al., 1998; CUGINI et al., 2000; CARVALHO et al., 2004; FAVERI et al., 2006; FERES et al., 2009). Complementarmente a essa discussão, sabe-se que a doença periodontal crônica pode ser tratada por meio de terapia mecânica não-cirúrgica ou cirúrgica, desde que um rígido controle de placa seja garantido durante a fase de manutenção do tratamento (LINDHE & NYMAN, 1975; NYMAN et al., 1977; AXELSSON & LINDHE, 1981).

A análise dos resultados no tempo T2 demonstrou que as duas terapias propostas (grupos teste ou controle) como complementação à RAR promoveram melhoras clínicas entre os tempos T1 e T2 evidentes na Tabela 3 e Figuras 6 e 7, porém, tais diferenças não foram estatisticamente significantes ($p > 0,05$). Além disso, não houve diferenças estatisticamente significantes entre as terapias. Neste contexto, alguns pontos podem ser discutidos. Embora diversos autores tenham encontrado marcantes reduções em PS quando a RAR foi associada aos procedimentos cirúrgicos em comparação com a RAR somente (HILL et al., 1981; LINDHE et al., 1984; PIHLSTROM et al., 1984; HARREL et al., 2001; WANG & GREENWELL, 2001; HEITZ-MAYFIELD et al., 2002), Isidor et al. (1985) apresentaram resultados opostos, ou seja, sem diferenças entre os grupos. É preciso considerar também a técnica cirúrgica empregada. Sem dúvida, as maiores reduções em PS são observadas quando técnicas de eliminação cirúrgica de bolsas são empregadas (BECKER et al., 1990; KALDAHL et al., 1990; MOMBELLI et al., 1995; LEVY et al., 2002). No presente estudo a técnica utilizada envolveu retalho total e reposicionamento do retalho no local de origem.

Outro ponto a ser discutido, podendo inclusive ser entendido como uma limitação do presente estudo é o curto período de acompanhamento dos indivíduos, pois alguns resultados clínicos poderiam ser mais evidentes se as avaliações fossem realizadas em longo prazo (van WINKELHOFF et al., 1989; PAVICIC et al., 1994; FLEMMING et al., 1998; HAFFAJEE et al., 2004). Entretanto, quando a redução do percentual de sítios com PS \geq 5mm foi avaliada notou-se a diminuição estatisticamente significativa em número e percentual de sítios após a RAR (T1) e, tais resultados melhoram ainda mais em T2, após a cirurgia. Esses achados estão de acordo com outros estudos que encontraram benefícios clínicos após a cirurgia periodontal em sítios intermediários e profundos, principalmente em dentes posteriores (LINDHE et al., 1982; WANG & GREENWELL, 2001; HEITZ-MAYFIELD et al., 2002; HELLSTROM et al., 2008).

Em relação aos dados microbiológicos, as duas terapias utilizadas no presente estudo levaram a uma melhora no perfil microbiológico subgengival. Os patógenos do complexo vermelho reduziram no tempo T1 (60 dias após a RAR) em comparação ao início do estudo (grupo teste = 14,35% e grupo controle = 12,68%; Figura 10). Os dados obtidos foram semelhantes aos outros estudos que também utilizaram o *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* para avaliação microbiológica (CARVALHO, 2002; FERES et al., 2009), indicando a efetividade da RAR.

Quando os resultados foram analisados no tempo T2 notou-se a melhora na redução da proporção de complexo vermelho nos dois grupos terapêuticos (grupo teste = 6,48% e grupo controle = 8,30%; Figura 10), sem diferença estatística entre eles; porém, de forma geral, a associação de antibióticos levou a efeitos benéficos superiores aos obtidos somente com a RAR combinada ao procedimento cirúrgico, evidenciando a maior redução em complexo vermelho (Figura 11). Comparando tais resultados com outros estudos do nosso grupo de pesquisa que testaram outras formas terapêuticas foi possível observar que apesar das proporções de complexo vermelho estarem reduzidas no tempo T2, ainda são superiores aos outros estudos. Por exemplo, o estudo de Soares (2009) analisou os efeitos da associação de várias terapias, sendo RAR + bochechos com clorexidina 0,12% + antibioticoterapia (metronidazol 400mg e amoxicilina 500mg) iniciados durante a fase ativa da terapia, junto com a RAR, e encontrou em torno de 1% de complexo vermelho aos 90 dias pós-terapia.

Um fato a ser considerado é o momento da administração da antibioticoterapia. Nos dias atuais sabe-se que os antibióticos, quando necessários, devem ser utilizados como parte integrante da terapia periodontal (SANZ et al., 2008). Porém, em que momento da terapia o agente deve ser administrado ainda não está totalmente definido. Alguns estudos iniciaram a administração dos antibióticos logo após a RAR (LOESCHE et al., 1992; CARVALHO et al., 2004 e 2005; CIONCA et al., 2009), numa tentativa de diminuir a carga microbiana antes da antibioticoterapia. Outros estudos o fizeram concomitantemente ao procedimento mecânico (HAFFAJEE et al 2007; MATARAZZO et al., 2008). Uma forte razão para a utilização concomitante das duas terapias é a redução drástica e rápida dos periodontopatógenos, que parece ser um ponto crucial para provocar uma transformação profunda na composição da microbiota subgengival, promovendo um

perfil mais compatível com saúde, e a conseqüente manutenção dos resultados clínicos benéficos por longos períodos. Os resultados obtidos até o momento podem sugerir que este conceito está voltado para a direção certa na busca por novas terapias mais efetivas, uma vez que, provavelmente a associação de terapias (cirúrgica e antibiótica) 60 dias após a RAR permitiu a recolonização dos sítios tratados por colonizadores primários benéficos dos complexos azul, roxo, amarelo e verde, mas também de membros dos complexos laranja e vermelho (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2005). Isso pode ter refletido diretamente nos percentuais de complexo vermelho encontrados no tempo T2.

Diversos autores testaram a associação de antimicrobianos à cirurgia periodontal (HAFFAJEE et al., 1988; MULLER et al., 1993; HAFFAJEE et al., 1995; PALMER et al., 1996; NEEDLEMAN et al., 2000; DASTOOR et al., 2007; HELLSTROM et al., 2008), porém a realização de uma comparação detalhada com os resultados obtidos neste estudo não se mostra adequada, uma vez que os delineamentos experimentais são muito diferentes. As principais diferenças entre os estudos são o momento da administração e o tipo (local ou sistêmico) dos antimicrobianos, e também os testes microbiológicos e microrganismos avaliados. Assim, Haffajee et al. (1988) analisou, clínica e microbiologicamente por meio de cultura, apenas um grupo submetido a RAR, cirurgia e uso de tetraciclina no mesmo momento. Needleman et al. (2000) e Hellstrom et al. (2008) utilizaram antimicrobianos locais, sendo gel de metronidazol e microesferas de minociclina, respectivamente, em estudos clínicos. O estudo clínico de Palmer et al. (1996) administrou tetraciclina (250 mg) por duas vezes, sendo uma durante o procedimento de RAR e a outra durante a cirurgia por retalho de Widman modificado. Esses autores relatam os melhores resultados da antibioticoterapia quando não associada aos procedimentos cirúrgicos. Muller et al. (1993) em estudo clínico e microbiológico que testaram apenas a detecção de *A. actinomycetemcomitans*, também administraram o antibiótico (minociclina – 200mg) por duas vezes, sendo uma durante o procedimento de RAR e a outra durante a cirurgia a retalho com reposicionamento no local de origem. Foi observado pouco efeito na eliminação do *A. actinomycetemcomitans*, porém os resultados clínicos foram satisfatórios, mas vale ressaltar que este estudo analisou apenas um grupo, ou seja, sem grupo controle. Haffajee et al. (1995) analisou o efeito clínico e microbiológico de quatro medicamentos associados ao procedimento cirúrgico

realizado 60 dias após a RAR. O antibiótico testado neste estudo em um grupo foi amoxicilina 250mg + ácido clavulônico 125mg e em outro grupo foi a tetraciclina 250mg. Os resultados demonstraram que o uso de antibióticos trouxe benefícios clínicos em relação ao ganho de inserção e microbiológicos em relação à redução de patógenos periodontais, porém seu acompanhamento foi de 10 meses. Por sua vez, Dastoor et al. (2007) realizou um estudo clínico e microbiológico (Teste BANA) em indivíduos fumantes, onde todos receberam RAR e após 90 dias foram distribuídos em dois grupos: cirurgia (retalho posicionado apicalmente) + azitromicina (500mg) e cirurgia + placebo. Os dados demonstraram que não houve diferenças entre os grupos na redução da PS e ganho de inserção, porém os resultados microbiológicos foram satisfatórios, em curto prazo, para o grupo que associou a azitromicina.

De maneira geral, no tempo T2 (60 dias após o procedimento cirúrgico), foi possível observar uma discreta vantagem para o grupo Teste (CIR + ANT), principalmente em relação à média do NCI e do percentual de complexo vermelho que se mostraram estatisticamente inferiores em comparação ao grupo Controle. Com base nos resultados obtidos, mas considerando também as limitações deste estudo em relação ao número de indivíduos por grupo e ao tempo de avaliação após a cirurgia, é possível concluir que o principal benefício adicional conseguido pela associação da antibioticoterapia ao procedimento cirúrgico foi microbiológico. O acompanhamento longitudinal dos indivíduos será muito importante para fornecer informações adicionais sobre a manutenção de tais resultados em longo prazo.

6 CONCLUSÃO

1 - As duas terapias propostas (RAR+CIR e RAR+CIR+ANT) promoveram melhoras clínicas e microbiológicas no tratamento da periodontite crônica.

2 - A associação de antibioticoterapia no momento cirúrgico não demonstrou benefícios clínicos relevantes.

3 - A associação de antibioticoterapia no momento cirúrgico demonstrou benefícios microbiológicos em relação à redução de complexo vermelho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abu-Fanas SH, Drucker DB, Hull PS. Amoxicillin with clavulanic acid and tetracycline in periodontal therapy. *J Dent.* 1991; 19:97-99.

Adriaens PA, Adriaens LM. Effects of nonsurgical periodontal therapy on hard and soft tissues. *Periodontol* 2000. 2004; 36:121-145.

American Academy of Periodontology. Concensus report non-surgical pocket therapy: mechanical, pharmacotherapeutics and dental occlusion. *Ann of Periodontol.* 1996 Nov;1:581-8.

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 Apr;67(4):367-73.

Araujo MBW, Hovey KM, Benedek JR, Grossi SG, Dorn J, Wactawski-Wende J, Genco RJ, Trevisan M. Reproducibility of probing depth measurements using a constant-force electronic probe: Analysis of inter-and intraexaminer variability. *J Periodontol.* 2003 Dec; 74(12):1736-1740.

Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann of Periodontol.* 1999; 4(1):1-6.

Axelsson P, Lindhe J. The significance of maintenance care in the treatment of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1981; 8: 281-294.

Badersten A, Niveus R, Egelberg J. 4-year observations of basic periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 1987; 14(8): 438-444.

Bragd L, Dahlén G, Wikström M, Slots J. The capacity of *Actinobacillus actinoyecetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* to indicate progressive periodontitis: a retrospective study. *J Clin Periodontol.* 1987; 14: 95-99.

Brayer WK, Mellonig JT, Dunlap RM, Marinak KW, Carson RE. Scaling and root planing effectiveness: the effect of root surface access and operator experience. *J Periodontol.* 1989 Jan;60(1):67-72.

Becker BE, Becker W, Caffesse RG, Kerry GJ, Ochsenein C. Morrison EC. Three modalities of periodontal therapy. II. 5 year final results. *J Dent Res.* 1990; 69: (spec issue): 219.

Buchanan SA, Robertson PB. Calculus removal by scaling/root planing with and without surgical access. *J Periodontol.* 1987 Mar;58(3):159-63.

Caffesse RG, Sweeney PL, Smith BA. Scaling and root planing with and without periodontal flap surgery. *J Clin Periodontol.* 1986 Mar;13(3):205-10.

Claffey N, Loos B, Gantes B, Martin M, Heins P, Egelberg J. The relative effects of therapy and periodontal disease on loss of probing attachment after root debridement. *J Clin Periodontol.* 1988; 15(3): 163-169.

Carvalho LH, D'Avila GB, Leão A, Goncalves C, Haffajee AD, Socransky SS *et al.* Scaling and root planing, systemic metronidazole and professional plaque removal in the treatment of chronic periodontitis in a Brazilian population II - microbiological results. *J Clin Periodontol.* 2005; 32: 406-11.

Carvalho LH, D'Avila GB, Leão A, Haffajee AD, Socransky SS, Feres M. Scaling and root planing, systemic metronidazole and professional plaque removal in the treatment of chronic periodontitis in a Brazilian population: I. Clinical results. *J Clin Periodontol.* 2004; 31:1017-1076.

Carvalho, LH. Efeitos clínicos e microbiológicos da terapia periodontal básica associada ao metronidazol de uso sistêmico e à profilaxia profissional periódica [dissertação]. Rio de Janeiro: Faculdade de Odontologia - UFRJ; 2002.

Chain E. Chemical properties and structure of the penicilins. *Endeavour.* 1948;7(supply27):83.

Ciancio SG, Slots J, Reynolds HS, Zambon JJ, McKenna JD. The effect of short-term administration of minocycline HCl on gingival inflammation and subgingival microflora. *J Periodontol.* 1982; 53:557-561.

Cionca N, Giannopoulou C, Ugolotti G, Mombelli A. Amoxicilin and Metronidazole as an adjunct to full-mouth scaling and root planing of chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2009; 80: 364-371.

Cobb CM. Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidencebased perspective of scaling and root planing. *J Clin Periodontol.* 2002 May;29 Suppl 2:6-16.

Clark DC, Shenker S, Stulginski P, Schwartz S. Effectiveness of routine periodontal treatment with and without adjunctive metronidazole therapy in a sample of mentally retarded adolescents. *J Periodontol.* 1983; 54:658-665.

Crout RJ, Lee HM, Schroeder K, Crout H, Ramamurthy NS, Wiener M, Golub LM. The "cyclic" regimen of low-dose doxycycline for adult periodontitis: a preliminary study. *J Periodontol.* 1996; 67:506-514.

Cugini MA, Haffajee AD, Smith C, Kent LR Jr., Socransky SS. The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal disease: 12-month results. *J Clin Periodontol.* 2000; 27:30-36

Dannewitz B, Pohl S, Eickholz P, Kim TS. Clinical and microbiological effects of a combined mechanic-antibiotic therapy in subjects with *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. *Am J Dent.* 2007; 20(3):153-6.

Danser MM, Timmerman MF, van Winkelhoff AJ, van der Velden U. The effect of periodontal treatment on periodontal bacteria on the oral mucous membranes. *J Periodontol.* 1996; 67:478-485.

Dastoor SF, Travan S, Neiva RF, Rayburn LA, Giannobile WV, Wang HL. Effects of adjunctive systemic azithromycin with periodontal surgery in the treatment of chronic periodontitis in smokers: a pilot study. *J Periodontol.* 2007; 78(10):1887-96.

Davies AH, McFadzen JA, Squires S. Treatment of Vincent's stomatitis with metronidazole. *Br Med.* 1964; 1:1149-1150.

DICIONÁRIO de especialidades farmacêuticas 2006/07. 35. ed. Rio de Janeiro: EPUC, 2007.

Elter, JR, Lawrence HP, Offenbacher S, Beck JD. Meta-analysis of the effect of systemic metronidazole as an adjunct to scaling and root planing for adult periodontitis. *J Periodontal Res.* 1997; 32: 487-496.

Faveri M, Gursky LC, Feres M, Shibli JA, Salvador SL, Figueiredo LC. Scaling and root planing and chlorhexidine mouthrinses in the treatment of chronic periodontitis: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2006(b);33(11):819-28.

Feinberg AP, Vogelstein B. A technique for radiolabeling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. *Analytical Bioch.* 1983; 132: 6-13.

Feres M, Gursky LC, Faveri M, Tzusuki CO, Figueiredo LC. Clinical and microbiological benefits of strict supragingival plaque control as part of the active phase of periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 2009.

Feres M, Haffajee AD, Allard K, Som S, Socransky SS. Change in subgingival microbial profiles in adult periodontitis subjects receiving either systemically-administered amoxicillin or metronidazole. *J Clin Periodontol.* 2001; 28:597-609.

Feres M, Haffajee AD, Allard K, Som S, Socransky SS. Effect of systemically administered metronidazole on subgingival plaque composition. *J Dent Res.* 1999a; 78:542.

Feres M, Haffajee AD, Gonçalves C, Allard K, Som S, Smith C, Goodson JM, Socransky SS. Systemic doxycycline administration in the treatment of periodontal infections (I). Effect on the subgingival microbiota. *J Clin Periodontol.* 1999b; 26:775-783.

Feres M, Haffajee AD, Gonçalves C, Allard K, Som S, Smith C, Goodson JM, Socransky SS. Systemic doxycycline administration in the treatment of periodontal infections (II). Effect on antibiotic resistance of subgingival species. *J Clin Periodontol.* 1999c; 26:784-792.

Fives-Taylor PM, Meyer DH, Mintz KP, Brissette C. Virulence factors of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Periodontol* 2000. 1999; 20: 36-67.

- Fleischer HC, Mellonig JT, Brayer WK, Gray JL, Barnett JD. Scaling and root planing efficacy in multirrooted teeth. *J Periodontol.* 1989 Jul;60(7):402-9.
- Fleming A. The bacterial power of human blood and some methods of altering it. *Proc R Soc Med.* 1928; 21(supply 5):859-868.
- Flemming TF, Milián E, Karch H, Klaiber B. Differential clinical treatment outcome after systemic metronidazole and amoxycillin in patients harboring *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and/or *Porphyromonas gingivalis*. *J Clin Periodontol.* 1998 May;25(5):380-7.
- Florey ME, McFarlan AM, Mann I. Report of forty-eight cases of marginal blepharitis treated with penicillin. *Br J Ophthalmol.* 1945; 29 (supply 9):333-338.
- Freeman E, Ellen RP, Thompson G, Weinberg SE, Song M, Lazarus RH. Gingival crevicular fluid concentration and side effects of minocycline: a comparison of two dose regimens. *J Periodontol.* 1992; 63:13-18.
- Glenwright HD, Sidaway DA. The use of metronidazole in treatment of acute ulcerative gingivitis. *Br Dent J.* 1966; 121:174-177.
- Goldman HM. Gingivectomy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1951; 4:1136-1157.
- Gomi K, Yashima A, Iino F, Kanazashi M, Nagano T, Shibukawa N, Ohshima T, Maeda N, Arai T. Drug concentration in inflamed periodontal tissues after systemically administered azithromycin. *J Periodontol.* 2007a; 78(5):918-23.
- Gomi K, Yashima A, Nagano T, Kanazashi M, Maeda N, Arai T. Effects of full-mouth scaling and root planing in conjunction with systemically administered azithromycin. *J Periodontol.* 2007b; 78(3):422-9.
- Goodson JM, Feres M. Antibiotics and control of plaque-related diseases. In: *Dental Plaque Revisited Oral, Oral Biofilms in health and Disease*, 1999, Londres.
- Gusberti FA, Syed SA, Lang NP. Combined antibiotic (metronidazole) and mechanical treatment effects on the subgingival bacterial flora of sites with recurrent periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1988; 15: 353-359.
- 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 Nov;31(11):996-1002.
- Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent RL Jr, Socransky, SS. The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *J Clin Periodontol.* 1997; 24:324-34.
- Haffajee AD, Dibart S, Kent RL, Socransky S. Clinical and microbiological changes associated with the use of 4 adjunctive systemically administered agents in the treatment of periodontal infections. *J Clin Periodontol.* 1995; 22: 618–627.

Haffajee AD, Dzink JL, and Socransky SS. Effect of modified Widman flap surgery and systemic tetracycline on the subgingival microbiota of periodontal lesions. *J Clin Periodontol* 1988; 15:255-262.

Haffajee AD, Patel M, Socransky SS. Microbiological changes associated with four different periodontal therapies for the treatment of chronic periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*. 2008; 23(2):148-57

Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol* 2000. 1994; 5:78-111.

Haffajee AD, Torresyap G, Socransky SS. Clinical changes following four different periodontal therapies for the treatment of chronic periodontitis: 1-year results. *J Clin Periodontol*. 2007; 34:243-253.

Haffajee AD, Socransky SS, Gunsolley JC. Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. *Ann Periodonto*. 2003; 81:115-181.

Hare R. New light on the Discovery of penicillin. *Med Leg J*. 1970; 38(2): 31-41.

Harrel SK, Nunn M. The effect of occlusal discrepancies on periodontitis. II. Relationship of occlusal treatment to the progression of periodontal disease. *J. Periodontol*. 2001; 72: 495-505.

Heltz-Mayfield LJA, Trombelli L, Heitz F, Needleman I, Moles D. A systematic review of the effect of surgical debridement vs. non-surgical debridement for the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2002; 29(supply 3):92-102.

Hellden LB, Listgarten MA, Lindhe J. The effect of tetracycline and/or scaling on human periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1979; 6:222-230.

Hellstrom MK, McClain PK, Schallhorn RG, Bellis L, Hanlon AL, Ramberg P. Local minocycline as an adjunctive to surgical therapy in moderate to severe, chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2008; 35:525-531.

Helovuo H, Hakkarainen k, Paunio K. Changes in the prevalence of subgingival enteric rods, staphylococci and yeasts after treatment with penicillin and erythromycin. *Oral Microbiology & Immunology*. 1993; 8:75-79.

Helovuo H, Paunio K. Effects of penicillin and erythromycin on the clinical parameters of the periodontium. *J Periodontol*. 1989; 60:467-472.

Herrera D, Alonso B, León R, Roldán S, Sanz M. Antimicrobial therapy in periodontitis: the use of systemic antimicrobials against the subgingival biofilm. *J Clin Periodontol*. 2008; 35:45-66.

Hill RW, Ramfjord SP, Morrison EC, Appleberry EA, Caffesse RG, Kerry GJ, Nissle RR. Four types of periodontal treatment compared over two years. *J Periodontol*. 1981; 52: 655-662.

Isidor F, Attstrom R, Karring T. Regeneration of alveolar bone following surgical and nonsurgical periodontal treatment. *J Clin Periodontol*. 1985; 12: 687-696.

Jeffcoat MK, Bray KS, Ciancio SG, Dentino AR, Fine DH, Gordon JM, Gunsolley JC, Killoy WJ, Lowenguth RA, Magnusson NI, Offenbacher S, Palcanis KG, Proskin HM, Finkelman RD, Flashner M. Adjunctive use of a subgingival controlled-release chlorhexidine chip reduces probing depth and improves attachment level compared with scaling and root planing alone. *J Clin Periodontol*. 1998; 69(9): 989-997.

Jenkins WMM, MacFarlane TW, Gilmour WH, Ramsay I; MacKenzie D. Systemic metronidazole in the treatment of periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1989; 16:443-450.

Joyston-Bechal S, Smales FC, Duckworth R. A Follow-up study 3 years after metronidazole therapy for chronic periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1986; 13:944-949.

Joyston-Bechal S, Smales FC, Duckworth R. Effect of metronidazole on chronic periodontal disease in subjects using a topically applied chlorhexidine gel. *J Clin Periodontol*. 1984; 11:53-62.

Kaldahl WB, Kalkwarf KL, Patil KD, Dyer JK, Bates RE Jr. Evaluation of four modalities of periodontal therapy. *J Periodontol*. 1988; 59:783-793.

Kaldahl WB, Kalkwarf KL, Patil KD, Molvar MP. Evaluation of gingival suppuration and supragingival plaque following 4 modalities of periodontal therapy. *J Clin Periodontol*. 1990; 17: 642-649.

Kaner D, Bernimoulin JP, Hopfenmüller W, Kleber BM, Friedmann A. Controlled-delivery chlorhexidine chip versus amoxicillin/metronidazole as adjunctive antimicrobial therapy for generalized aggressive periodontitis: a randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*; 2007a; 34(10):880-91.

Kaner D, Christan C, Dietrich T, Bernimoulin JP, Kleber BM, Friedmann A. Timing affects the clinical outcome of adjunctive systemic antibiotic therapy for generalized aggressive periodontitis. *J Periodontol*. 2007b; (7):1201-8.

Kirkland O. The suppurative periodontal pus pocket; its treatment by the modified flap operation. *J American Dent Assoc*. 1931; 18:1462-1470.

Kleinfelder JW, Mueller RF, Lange DE. Fluoroquinolones in the treatment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. *J periodontal*. 2000; 71:202-208.

Kulik EM, Lenkeit K, Chenux S, Meyer J. Antimicrobial susceptibility of periodontopathogenic bacteria. *J Antimicrob Chemother*. 2008; 61(5): 1087-91.

Lamont RJ, Jenkinson HF. Life below the gum line: pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1998; 62(4):1244-63.

Lamont RJ, Jenkinson HF. Subgingival colonization by *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol*. 2000; 15(6):341-9.

Lekovic V, Kenney EB, Carranza FAJ, Endres B. The effect of metronidazole on human periodontal disease. A clinical and bacteriological study. *J Periodontol*. 1983; 54:476-480.

Levy RM, Giannobile WV, Feres M, Haffajee A, Smith C, Sokransky S. The effect of apically repositioned flap surgery on clinical parameters and the composition of the subgingival microbiota: 12-month data. *Int. J. Periodontics Restorative Dent*. 2002; 22: 209-219.

Lindhe J, Liljenberg B, Adielson B, Borjesson I. Use of metronidazole as a probe in the study of human periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1983a; 10:100-112.

Lindhe J, Liljenberg B, Adielsson B. Effect of long-term tetracycline therapy on human periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1983b; 10:590-601.

Lindhe J, Nyman S. The effect of plaque control and surgical pocket elimination on the establishment and maintenance of periodontal health: a longitudinal study in cases of advanced disease. *J. Clin. Periodontol*. 1975; 2: 67-79.

Lindhe J, Westfelt E, Nyman S, Sokransky S, Haffajee A. Long term effect of surgical/non-surgical treatment of periodontal disease. *J. Clin. Periodontol*. 1984; 11: 448-458.

Lindhe J, Westfelt E, Nyman S, Sokransky SS, Heijl L, Bratthall G. Healing following surgical/non-surgical treatment of periodontal disease. A clinical study. *J Clin Periodontol*. 1982; 9:115-128.

Listgarten MA, Hellden L. Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans. *J clin Periodont*. 1978; 5(2): 115-132.

Löe H, Theilade E, Jensen, SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol*. 1965; 36:177-87.

Loesche WJ, Giordano JR, Hujoel P, Schwarcz J, Smith BA. Metronidazole in periodontitis: reduced need for surgery. *J Clin Periodontol*. 1992; 19:103-112.

Loesche WJ, Giordano JR, Soehren S, Hutchinson R, Rau CF, Walsh L, Schork MA. Nonsurgical treatment of patients with periodontal disease. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1996; 81:533-543.

Loesche WJ, Grossman N, Giordano J. Metronidazole in periodontitis (IV). The effect of patient compliance on treatment parameters. *J Clin Periodontol*. 1993; 20:96-104.

Loesche WJ, Schmidt E, Smith BA, Caffessee R, Stoll J. Metronidazole therapy for periodontitis. *J Periodontal Res*. 1987; 22:224-226.

Loesche WJ, Schmidt E, Smith BA, Morrison EC, Caffesse R, Hujoel PP. Effects of metronidazole on periodontal treatment needs. *J Periodontol.* 1991; 62:247-257.

Loesche WJ, Syed SA, Laughon BE, Stoll J. The bacteriology of acute necrotizing ulcerative gingivitis. *J Periodontol.* 1982; 53:223-230.

Loesche WJ, Syed SA, Morrison EC, Kerry GA, Higgins T, Stoll J. Metronidazole in periodontitis. I. Clinical and bacteriological results after 15 to 30 weeks. *J Periodontol.* 1984; 55:325-335.

Loesche WJ, Syed SA, Morrison EC, Laughon B, Grossman NS. Treatment of periodontal infections due to anaerobic bacteria with short-term treatment with metronidazole. 1981; 8:29-44.

Loesche WJ, Syed SA, Schmidt E, Morrison EC. Bacterial profiles of subgingival plaques in periodontitis. *J Periodontol.* 1985; 56(8):447-56.

López NJ, Gamonal JA. Effects of metronidazole plus amoxicillin in progressive untreated adult periodontitis: Results of a single 1-week course after 2 and 4 months. *J Periodontol.* 1998; 69:1291-1298.

López NJ, Gamonal JA, Martinez B. Repeated metronidazole and amoxicillin treatment of periodontitis. A follow-up study. *J Periodontol.* 2000; 71:79-89.

López NJ, Socransky SS, Da Silva I, Japlit MR, Haffajee AD. Effects of metronidazole plus amoxicillin as the only therapy on the microbiological and clinical parameters of untreated chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2006; 33:648-660.

Mager DL, Haffajee AD, Socransky SS. The effects of periodontitis and smoking on the microbiota of oral mucous membranes and saliva in systemically healthy subjects. *J Clin Periodontol.* 2003; 30:1031-1037.

Mandell RL, Ebersole JL, Socransky SS. Clinical, immunologic and microbiologic features of active disease sites in juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1987; 14:534-540.

Mandell RL, Socransky SS. A selective medium for *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and the incidence of the organism in juvenile periodontitis. *J Periodontol.* 1981; 52: 593-598.

Mascarenhas P, Gapski R, Al-Shammari K, Hill R, Sohren S, Fenno JC *et al.* Clinical response of azithromycin as an adjunct to non-surgical periodontal therapy in smokers. *J Periodontol.* 2005; 76:426-36.

Matarazzo F, Figueiredo LC, Cruz SE, Faveri M, Feres M. Clinical and microbiological benefits of systemic metronidazole and amoxicillin in the treatment of smokers with chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled study. *J Clin Periodontol.* 2008; 35: 885-896.

Moeintaghavi A, Talebi-ardakani MR, Haerian-ardakani A, Zandi H, Taghipour S, Fallahzadeh H, Pakzad A, Fahami N. Adjunctive effects of systemic amoxicillin and metronidazole with scaling and root planing: a randomized, placebo controlled clinical trial. *J Contemp Dent Pract.* 2007; 8(5):51-9.

Mombelli A, Nyman S, Bragger U, Wennström J, Lang NP. Clinical and microbiological changes associated with an altered subgingival environment induced by periodontal pocket reduction. *J Clin Periodontol.* 1995; 22:780-787.

Mombelli A, Schmid B, Rutar A, Lang NP. Persistence patterns of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* after mechanical therapy of periodontal disease. *J Periodontol.* 2000; 71:14-21.

Montgomery EH. Antibióticos Antibacterianos. In: Yagiela JA, Neidle EA, Dowd FJ. *Farmacologia e terapêutica para dentistas.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000. p. 468-502.

Morrison EC, Ramfjord SP, Hill RW. Short-term effects of initial, nonsurgical periodontal treatment (hygienic phase). *J. Clin. Periodontol.* 1980; 7(3): 199-211.

Muller HP, Lange DE, Muller RF. Concentrations of *A. actinomycetemcomitans* in subgingival plaque following short-term minocycline therapy. *German. Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift.* 1990; 45:462-465.

Müller HP, Lange DE, Muller RF. A 2-year study of adjunctive minocycline-HCl in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. *J Periodontol.* 1993; 64:509-519.

Muller HP, Lange DE, Muller RF. Failure of adjunctive minocycline HCl to eliminate oral *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J. Clin. Periodontol.* 1993b; 20: 498–504.

Needleman IG, Collins AM, Moles DR. Periodontal flap surgery with 25% metronidazole gel. Clinical outcomes. *J Clin Periodontol.* 2000; 27:187-192.

Neuman R. *Die Alveolar-Pyorrhoe und ihre Behandlung.* 3rd edn. Berlin: Herman Meusser. 1920.

Nyman S, Lindhe J, Rosling B. Periodontal surgery in plaque infected dentitions. *J. Clin. Periodontol.* 1977; 4: 240-249.

Ochsenbein C. A primer for osseous surgery. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1986;(supply 1)6:8-47.

Pahkla ER, Koppel T, Saag M, Pahkla R. Metronidazole concentrations in plasma, saliva and periodontal pockets in patients with periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2005; 32:163-166.

Palmer RM, Watts TLP, Wilson RF. A double-blind trial of tetracycline in the management of early onset periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1996; 23: 670–674.

Pavicic MJAMP, van Winkelhoff AJ, Douqué NH, Steures RWR, Graaff J. Microbiological and clinical effects of metronidazole and amoxicillin in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. A 2-year evaluation. *J Clin Periodontol.* 1994; 21:107-112.

Petersilka GJ, Ehmke B, Flemmig TF. Antimicrobial effects of mechanical debridement. *Periodontol 2000.* 2002; 28:56-71.

Physicians' Desk Reference. 46th ed. Montvale, NJ: Medical Economics Co; 1992. p. 2170-4.

Pihlstrom BL, Oliphant TH, McHugh RB. A randomized four year study of periodontal therapy. *J Periodontol.* 1981; 52: 227-242.

Pihlstrom BL, Oliphant TH, Mc Hugh RB. Molar and non-molar teeth compared over 6 and half years following two methods of periodontal therapy. *J. Periodontol.* 1984; 55: 499-504.

Poulet PP, Duffaut D, Barthet P, Brumpt I. Concentrations and *in vivo* antibacterial activity of spiramycin and metronidazole in patients with periodontitis treated with high-dose metronidazole and the spiramycin/metronidazole combination. *J Antimicrob Chemother.* 2005; 55:347-351.

Quirynen M, De Soete M, Dierickx K, van Steenberghe D. The intra-oral translocation of periodontopathogens jeopardises the outcomes of periodontal therapy. A review of the literature. *J Clin Periodontol.* 2001; 28:499-507.

Rabbani GM, Ash MM Jr, Caffesse RG. The effectiveness of subgingival scaling and root planing in calculus removal. *J Periodontol.* 1981 Mar;52(3):119-23.

Rams TE, Listgarten MA, Slots J. Utility of 5 major putative periodontal pathogens and selected clinical parameters to predict periodontal breakdown in patients on maintenance care. *J Clin Periodontol.* 1996; 23:346-354.

Robicsek S. Ueber das Wesen und Entstehen der Alveolar-Pyorrhoe und deren Behandlung. 1918. The 3rd Annual Report of the Austrian Association Dental Association. Reviewed in *J Clin Periodontol.* 1965; 36:265.

Rodenburg JP, van Winkelhoff AJ, Winkel EG, Goene RJ, Abbas F, de Graff J. Occurrence of *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in severe periodontitis in relation to age and treatment history. *J Clin Periodontol.* 1990; 17:392-399.

Rooney J, Wade WG, Sprague SV, Newcombe RG, Addy M. Adjunctive effects to non-surgical periodontal therapy of systemic metronidazole and amoxicillin alone and combined. A placebo controlled study. *J Clin Periodontol.* 2002 Apr;29(4):342-50.

Rosling B, Serino G, Hellstrom Mk, Socransky SS, Lindhe J. Longitudinal periodontal tissue alterations during supportive therapy. Findings from subjects with normal and high susceptibility to periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2001; 28:241-9.

Rudney JD, Chen R, Sedgewick GJ. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Tannerella forsythensis* are components of a polymicrobial intracellular flora within human buccal cells. *J Dent Res.* 2005; 84(1):59-63.

Sanz M, Teughels W, Group A of European Workshop on Periodontology. Innovations in non-surgical periodontal therapy: Consensus report of the sixth European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol.* 2008; 35(8): 3-7.

Scopp IW, Froum SJ, Sullivan M, Kaz&jian G, Wank D, Fine A. Tetracycline: a clinical study to determine its effectiveness as long-term adjuvant. *J Periodontol.* 1980; 51:328-330.

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 Jan;61(1):3-8.

Shiloah J, Patters MR, Dean JW III, Bland P, Toledo G. The prevalence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Bacteroides forsythus* in humans 1 year after 4 randomized treatment modalities. *J Periodontol.* 1998; 69:1364-1372.

Slots J, Mashimo P, Levine MJ, Genco RJ. Periodontal therapy in humans. I. Microbiological and clinical effects of a single course of periodontal scaling and root planing, and of adjunctive tetracycline therapy. *J Periodontol.* 1979; 50:495-509.

Slots J, Rams TE. Antibiotics in periodontal therapy: Advantages and disadvantages. *J Clin Periodontol.* 1990; 17: 479-493. translated to Spanish: *Periodoncia*, 1991, 1:46-67.

Slots J, Reynolds HS, Genco RJ. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: a cross-sectional microbiological investigation. *Infection and Immunity.* 1980; 29:1013-1020.

Slots J, van Winkelhoff AJ. Antimicrobial therapy in periodontics. *J Calif Dent Assoc.* 1993 Nov;21(11):51-6.

Smith GL, Socransky SS, Smith CM. Rapid method for the purification of DNA from subgingival microorganisms. *Oral Microbiol Immunol.* 1989; 4: 47-51.

Soares GM. Efeitos microbiológicos da terapia periodontal mecânica associada ao metronidazol e à amoxicilina sistêmicos e ao controle químico do biofilme supragengival [dissertação]. Guarulhos: Faculdade de Odontologia - UNG; 2009.

Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C., Kent Jr RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* 1998; 25:134-44.

Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: Difficult therapeutic targets. *Periodontol* 2000. 2002; 28:12-55.

Socransky SS, Haffajee AD. Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontology* 2000. 1994a; 5:7-25.

Socransky SS; Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontology* 2000. 2005; 38: 35-87.

Socransky SS. Relationship of bacteria to the etiology of periodontal disease. *J Dent Res*. 1970; 49(2):203-22.

Socransky SS, Smith C, Martin L, Paster BJ, Dewhirst FE, Levin AE. Checkerboard DNA-DNA hybridization. *Biotechniques*. 1994b; 17:788-92

Söder P, Frithiof L, Wikner S, Wouters F, Engström P, Rubin B, Nedlich U, Söder B. The Effect of systemic metronidazole after non-surgical treatment in moderate and advanced periodontitis in young adults. *J Periodontol*. 1990; 61:281-288.

Sterry KA, Langeroudi M, Dolby AE. Metronidazole as an adjunct to periodontal therapy with sub-gingival curettage. *British Dental Journal*. 1985; 158:176-178.

Tally FP, Sutter VL, Finegold SM. Treatment of anaerobic infections with metronidazole. *Antimicrob Agents Chemother*. 1975; 7:672-675.

Uygun A, Kadayifci A, Safali M, Ilgan S, Bagci S. The efficacy of bismuth containing quadruple therapy as a first-line treatment option for *Helicobacter pylori*. *J Dig Dis*. 2007 Nov;8(4):211-5.

van Winkelhoff AJ, Winkel EG, Barendregt D, Dellelijn-Kippuw N, Stijne A, van der Velden U. beta-Lactamase producing bacteria in adult periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1997; 24(8):538-43.

van Winkelhoff AJ, Rodenburg JP, Goené RJ, Abbas F, Winkel EG, De Graaff J. Metronidazole plus amoxicillin in the treatment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1989; 16:128-131.

van Winkelhoff AJ, Tjihof CJ, Graaff J. Microbiological and clinical results of metronidazole plus amoxicillin therapy in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-Associated Periodontitis. *J Periodontol*. 1992; 63:52-57.

Walsh MM, Buchanan SA, Hoover CI, Newbrun E, Taggart EJ, Armitage GC, Robertson PB. Clinical and microbiologic effects of single-dose metronidazole or scaling and root planing in treatment of adult periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1986; 13:151-157.

Walker CB, Pappas JD, Tyler KZ, Cohen S, Gordon JM. Antibiotic susceptibilities of periodontal bacteria. In vitro susceptibilities to eight antimicrobial agents. J Periodontol. 1985; 56(11 Suppl):67-74.

Wang HL, Greenwell H. Surgical periodontal therapy. Periodontol 2000. 2001; 25:89-99.

Watts T, Palmer R, Floyd P. Metronidazole: a double-blind trial in untreated human periodontal disease. J Clin Periodontol. 1986; 13:939-943.

Widman L. The operative treatment of pyorrhea alveolaris. A new surgical method. 1918 Reviewed in British Dent J Periodontol. 1920;1: 293.

Winkel EG, van Winkelhoff AJ, Timmerman MF, van der Velden U, van der Weijden GA: Amoxicillin plus metronidazole in the treatment of adult periodontitis patients. A double-blind placebo-controlled study. J Clin Periodontol. 2001; 28:296-305.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)