VANESSA TUBERO EUZEBIO ALVES

**Laser de diodo de alta potência como adjunto ao tratamento periodontal:
ensaio clínico randomizado**

São Paulo
2010

VANESSA TUBERO EUZEBIO ALVES

**Laser de diodo de alta potência como adjunto ao tratamento periodontal:
ensaio clínico randomizado**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas.

Área de Concentração: Periodontia

Orientador: Prof. Assoc. Giorgio De Micheli

São Paulo
2010

FOLHA DE APROVAÇÃO

Alves VTE. Laser de diodo de alta potência como adjunto ao tratamento periodontal: ensaio clínico randomizado. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas.

Aprovado em: /   /2010

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

*Aos meus amados pais **Sílvia** e **José Márcio**. Nada do que eu fizer um dia vai estar à altura de tudo o que fizeram e ainda fazem por mim.*

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À **Deus**, por me conceder o tempo e as virtudes necessárias para a elaboração deste estudo.

Ao meu querido orientador **Prof. Assoc. Giorgio De Micheli**, agradeço a oportunidade e a confiança para a realização de mais um sonho.

AGRADECIMENTOS

Aos Professores da disciplina de Periodontia da FOUSP: **Prof. Titular Francisco Emílio Pustiglioni, Prof. Assoc. Luiz Antonio Pugliesi Alves de Lima, Prof. Dr. Roberto Fraga Moreira Lotufo (*in memoriam*), Prof. Assoc. Cesário Antonio Duarte, Prof. Dr. Koto Nakae, Prof. Assoc. Giuseppe A. Romito, Prof. Dr. João Batista Cesar Neto, Profa. Dra. Luciana Saraiva e Profa. Dra. Marinella Holzhausen.**

À **Profa. Dra. Marina C. Conde**, com quem sempre achei quase todas as respostas, meu exemplo de profissionalismo e competência.

Ao **Prof. Dr. Cláudio Mendes Pannuti**, não só pelas análises e interpretações estatísticas, mas por ser uma pessoa especial e sempre disposto a ajudar.

Ao **Prof. Dr. Marco Antonio P. Georgetti**, pelas considerações na banca de qualificação, pelo interesse e incentivo diário.

Aos **pacientes**, que tornaram este estudo possível.

Aos inesquecíveis colegas de turma do mestrado: **Daniele Salami, André Micheletti Espanhol, Leandro Chambrone, Flávia Sukekava, Silvia L. Marcelino e Mariana Schutzer Ragghianti.**

Aos meus queridos amigos, **Verônica Franco de Carvalho, Cassia Tiemi Fukuda Nakashima, Priscila Corraini, Valéria Gondim e Ricardo Takiy Sekygushi**, continuo aprendendo com vocês.

Aos colegas da Especialização: **Paula Farini, Cristina Vilela Aun, Juliana Assef Ganhito, Cassio Volponi Carvalho e Julio Sato.**

À aluna de iniciação científica **Janaíta Maria Toaliar**, obrigada pela sua fidelidade e desprendimento nas etapas em que participou desta pesquisa.

Ao **Marcio Seto**, pela ajuda e coleguismo durante a execução da pesquisa.

À **Profa. Dra. Ana Karina Pinto de Andrade**, pela amizade e disponibilidade em todos os momentos da pesquisa, e a realização de toda a análise microbiológica.

À **Profa. Dra. Ilíria Salomão Feist**, por sua imprescindível contribuição no momento da banca de qualificação.

À **Profa. Dra. Denise Maria Zezell**, pelos valiosos ensinamentos sobre a física do Laser.

À **Profa. Dra. Silvana Cai**, que cedeu seu laboratório e orientou a toda a análise microbiológica.

Ao **Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo**, grande incentivador das pesquisas com o Laser.

À **Profa. Dra. Ana Cecília Aranha**, que esteve sempre pronta para ajudar e esclarecer dúvidas.

Às secretárias da Disciplina de Periodontia: **Márcia Aparecida dos Santos, Gilmara Luisa Hortêncio e Marília Carmago Gomes**, pela atenção e colaboração.

Aos Funcionários do **LELO**, **Lili, Joelma e Haroldo**, por todo auxílio prestado.

Às funcionárias da **FUNDECTO**, **Lucy e Salete**, pela ajuda na triagem dos pacientes, e aos meninos da esterilização e do almoxarifado.

Às funcionárias da biblioteca, **Maria Claudia Pestana e Glauci Elaine Damasio Fidelis**, pelas correções realizadas.

Às secretárias da Pós-Graduação **Cátia, Nair e Alessandra** pela atenção com que recebem todos os alunos.

À **FAPESP** pelo auxílio à pesquisa.

À **CAPES** pela bolsa de Mestrado no programa Demanda Social.

***"Fale, e eu esquecerei; ensina-me, e eu poderei lembrar; envolva-me, e eu
aprenderei."***

Benjamin Franklin

RESUMO

Alves VTE. Laser de diodo de alta potência como adjunto ao tratamento periodontal: ensaio clínico randomizado [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2010.

O laser de diodo de alta potência tem sido estudado em Periodontia para redução microbiana como coadjuvante ao tratamento não cirúrgico. O objetivo deste ensaio clínico aleatório de boca-dividida foi avaliar a redução bacteriana e as mudanças nos parâmetros clínicos periodontais promovidas pela raspagem, associada ao laser de diodo de alta potência. Foram selecionados trinta e seis (36) pacientes, de ambos os sexos e portadores de periodontite crônica. Cada paciente forneceu um par de dentes unirradiculares contralaterais com profundidade clínica de sondagem (PCS) $\geq 5\text{mm}$. Os pacientes passaram por tratamento periodontal prévio e em seguida os dentes experimentais foram divididos em dois grupos: teste e controle. Ambos receberam raspagem, alisamento e polimento coronário radicular (RAPCR), sendo que apenas o grupo teste recebeu a irradiação do laser de diodo (1,5W, contínuo, $1.193,7 \text{ W/cm}^2$, 20 segundos) em duas sessões, com intervalo de uma semana. Os parâmetros clínicos e microbiológicos foram coletados no início e 6 semanas após o tratamento. Houve redução significativa para todos os parâmetros clínicos estudados em ambos os grupos, entretanto os parâmetros PCS e Nível Clínico de Inserção (NCI) demonstraram melhora estatisticamente significativa no grupo controle quando comparado ao grupo teste. Em relação às Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) de bactérias totais (BT) e pigmentadas de preto (BPP) foi observada redução em ambos os grupos, porém sem diferença significativa entre eles. Não houve diferença significativa entre os grupos em relação à presença de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*) e *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*), entretanto a redução no número de pacientes que apresentaram *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) foi significativamente maior no grupo controle. Foi concluído que a irradiação do laser de diodo de alta potência, em bolsas de dentes unirradiculares, não proporcionou melhora clínica e microbiológica adicional ao procedimento convencional.

Palavras-chave: Doenças periodontais. Bactérias. Laser.

ABSTRACT

Alves VTE. High-intensity diode laser as adjunct to periodontal therapy: randomized clinical trial [dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2010.

The high intensity diode laser has been studied in periodontics for microbial reduction in non-surgical treatment as an adjunct to scaling procedures. The goal of this randomized clinical trial was to assess the bacterial reduction and changes in clinical periodontal parameters promoted by scaling, combined with high intensity diode laser. Thirty six (36) subjects, of both gender and with chronic periodontitis were selected. Each patient provided a pair of contra-lateral singles rooted teeth, with probing pocket depth (PPD) ≥ 5 mm. Patients underwent periodontal treatment prior and then the teeth were divided into two experimental groups: test and control. Both received scaling and root planing (SRP), and only the test group received irradiation of diode laser (1.5W, continuous, $1.193,7 \text{ W/cm}^2$, 20 seconds) in two sessions, with break of one week. Clinical and microbiological data were collected at baseline and 6 weeks after treatment. There was a significant decrease for all clinical parameters studied in both groups, but the parameters PPD and clinical attachment level (CAL) showed statistically significant improvement in the control group compared to the test group. Concerning Colony Forming Units (CFU) of total bacteria and black pigmented colonies, reduction was observed in both groups but no significant difference was observed between them. There was no significant difference between the groups regarding the presence of *P. intermedia* and *A. actinomycetemcomitans*, however the decrease in the number of patients who had *P. gingivalis* was significantly higher in the control group. It was concluded that irradiation with the high intensity diode laser, in periodontal pockets of single- rooted teeth, did not provide additional clinical and microbiological improvement.

Keywords: Periodontal diseases. Bacteria. Laser.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 4.1 - Guia de acrílico em posição para padronização da sondagem	29
Figura 4.2 - Laser de diodo de $808 \pm 5\text{nm}$ (ZAP Softlase, Pleasant Hill – USA)	29
Figura 4.3 - Irradiação do laser de diodo no interior da bolsa periodontal	29
Figura 4.4 - Cronograma esquemático	30
Figura 4.5 - Introdução do cone de papel no interior da bolsa periodontal	31
Figura 4.6 - Frascos contendo o meio de transporte VGMA III com cones de papel após a coleta do biofilme	31

LISTA DE TABELAS

- Tabela 5.1 - Média, desvio padrão e comparação dos grupos experimentais Teste (T) e Controle (C) e dos momentos com relação à Profundidade Clínica de Sondagem (PCS), Nível Clínico de Inserção (NCI), Junção Esmalte Cimento - Margem Gengival (JEC-MG), Índice de Placa (IP) e Sangramento à Sondagem (SS) 35
- Tabela 5.2- Média, desvio padrão e comparação dos grupos experimentais Teste (T) e Controle (C) e dos momentos com relação ao número de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) de bactérias totais (BT) e bactérias pigmentadas de preto (BPP).....36
- Tabela 5.3- Porcentagem de pacientes com *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis*) *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*) e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*) nos grupos experimentais no início e seis semanas após o tratamento 37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>A actinomycetemcomitans</i>	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
BPP	Bactérias pigmentadas de preto
BT	Bactérias totais
CAAM	Carbobenzoxi L-Arginina-7Amino-4-Metilcoumarina amido-HCL
CO ₂	Dióxido de carbono
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Desvio padrão
Er:YAG	Érbio/ Ítrio /Alumínio /Granada
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FOUSP	Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
FUNDECTO	Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico da Odontologia
GaAIAs	Arseneto de gálio e alumínio
ICB	Instituto de Ciências Biomédicas
IG	Índice gengival
IP	Índice de placa
ISP	Índice de sangramento papilar
JEC-MG	Junção esmalte cimento - margem gengival
LASER	<i>Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation</i> (luz amplificada por emissão estimulada de radiação)
LELO	Laboratório Especial de Laser em Odontologia
MUG	4-Metil-UmbiliferryI-β-D-Galactosidase

NCI	Nível clínico de inserção
Nd:YAG	Neodímio/ Ítrio /Alumínio /Granada
OHB	Orientação de higiene bucal
PCR	Reação da polimerase em cadeia
PCS	Profundidade clínica de sondagem
<i>P. gingivalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>P. intermedia</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
RAPCR	Raspagem, alisamento e polimento corono- radicular
SPSS	Statistical package for the social sciences
SS	Sangramento à sondagem
<i>T. denticola</i>	<i>Treponema denticola</i>
TSBV	Ágar soja tripticaseína acrescido de soro fetal bovino, bacitracina e vancomicina
UFCs	Unidades formadoras de colônias
VMGA III	Viable medium of Göteborg anaerobic III

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Grau Celsius
G	Grupo
Hz	Hertz
J/cm ²	Joule por centímetro cuadrado
mJ/pulso	Milijoule por pulso
ms	Milisegundo
mm	Milimetro
mL	Mililitro
min	Minuto
nm	Nanometro
L	Litro
W	Watt
W/cm ²	Watt por centímetro cuadrado
μL	Microlitro
μg	Micrograma
μm	Micrometro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 Tratamento das doenças periodontais	18
2.2 Laser	19
2.3 Laser de diodo de alta potência e Periodontia	20
3 PROPOSIÇÃO	25
4 MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1 Seleção dos pacientes	26
4.2 Delineamento do estudo e casuística.....	27
4.3 Preparo dos pacientes.....	28
4.4 Tratamento dos dentes experimentais	28
4.5 Irradiação do laser.....	29
4.6 Avaliação clínica.....	30
4.7 Avaliação microbiológica	31
4.8 Análise estatística	33
5 RESULTADOS.....	34
5.1 Parâmetros clínicos	34
5.2 Parâmetros microbiológicos	36
6 DISCUSSÃO	39
7 CONCLUSÕES	44
REFERÊNCIAS.....	45
APÊNDICES	55
ANEXOS	59

1 INTRODUÇÃO

O tratamento não cirúrgico das doenças periodontais destrutivas consiste na redução dos depósitos bacterianos aderidos às superfícies dentárias, por meio de raspagem e alisamento radicular. Esse método, associado ao controle mecânico do biofilme dental pelo paciente, continua sendo o mais eficaz para a melhora e estabilidade dos parâmetros clínicos periodontais (Cugini et al., 2000).

Entretanto, em alguns casos, tratamentos convencionais podem não ser suficientes no controle dessas doenças, pela dificuldade da raspagem (Adriaens; Adriaens, 2004), pela interferência de periodontopatógenos resistentes (Mombelli, et al., 2000) ou mesmo condições sistêmicas que comprometam a resposta do indivíduo ao tratamento (Sekiguchi et al., 2007; Trombelli et al., 2010) ou impeçam a complementação cirúrgica caso esta esteja indicada. Em algumas circunstâncias, antimicrobianos sistêmicos também podem ser usados promovendo maior redução bacteriana e benefícios clínicos adicionais à raspagem e alisamento (Berglundh et al., 1998). Contudo, a antibioticoterapia pode ocasionar reações adversas (Hersh; Moore, 2008) e promover o desenvolvimento de resistência bacteriana (Walker, 1996; Quyrinen et al., 2003).

Nas últimas décadas, estudos demonstraram que o uso adjunto do laser de alta potência associado à terapia periodontal proporcionou benefícios adicionais aos parâmetros avaliados (Andrade et al., 2008; Gutknecht et al., 2002; Schwarz et al., 2003a), sendo o laser de Nd:YAG (neodímio) um dos mais estudados na redução microbiana.

Por possuir características semelhantes ao Nd:YAG, além de vantagens como custo e praticidade, o laser de diodo passou a ser comparado a outros lasers (Schwarz et al., 2003b) e testado em vários estudos em relação a sua biocompatibilidade (Theodoro et al., 2003) e principalmente a sua capacidade de reduzir agentes patológicos (Moritz et al., 1998). Autores como Caruso et al. (2008) e De Micheli et al. (2010) não encontraram benefícios adicionais ao acrescentarem o laser de diodo ao tratamento periodontal. Entretanto, o mesmo laser proporcionou resultados clínicos e microbiológicos satisfatórios em outros estudos (Moritz et al., 1998; Borrajo et al., 2004). A divergência entre os resultados pode estar relacionada à variada metodologia e diferentes parâmetros utilizados.

Sendo assim, este estudo preocupou-se com a utilização de parâmetros seguros e que pudessem demonstrar resultados efetivos para a redução microbiana, com o objetivo aprimorar e justificar o uso do laser de diodo de alta potência como coadjuvante ao tratamento periodontal.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Tratamento das doenças periodontais

No passado, o papel do biofilme dental foi estabelecido por meio de trabalhos reconhecidamente importantes (Loë et al., 1965; Theilade et al., 1966), tornando possível o entendimento sobre a etiologia das doenças periodontais. Atrelados a novos estudos, conceitos e classificações, ainda hoje se entende que o biofilme dental é o fator determinante para o início e progressão dessas doenças.

Várias são as formas de tratamento propostas na literatura, sendo o tratamento periodontal não cirúrgico o “padrão-ouro” para a maioria das doenças periodontais. Esse tratamento consiste no controle mecânico do biofilme e cálculo dental, aderidos às superfícies radiculares e áreas subgengivais, sem a intervenção cirúrgica (Adriaens; Adriaens, 2004) e tem como objetivo restituir a compatibilidade dessas superfícies doentes para subsequente reparação dos tecidos periodontais (Aoki et al., 2004).

Muitos trabalhos inseridos na literatura demonstram que a raspagem e alisamento radicular são eficientes para reduzir grandes quantidades de bactérias e cálculo (Claffey et al., 1988). Entretanto, alguns estudos indicam que nenhuma técnica de instrumentação é totalmente eficaz na eliminação completa desses agentes aderidos à superfície subgengival do dente. As razões para tanto estão relacionadas a fatores como o aumento da profundidade clínica de sondagem (Caffesse et al., 1986), a anatomia radicular (Gher; Vernino, 1980) e também à experiência do operador (Brayer et al., 1989; Fleischer et al., 1989).

A dificuldade no tratamento das doenças periodontais não reside somente nessas limitações. Alguns estudos demonstram que a causa de tratamentos falhos, traduzidos por sítios persistentes, indicam a alta prevalência de espécies bacterianas do complexo vermelho e laranja (Socransky et al., 2002). Associado ao estímulo bacteriano, conta-se ainda com a influência da resposta imuno-inflamatória do hospedeiro (Kinane, 1999) além dos fatores de risco (Grossi, 2001; Wan et al., 2009) e comportamentais que irão somar e alterar de alguma forma o resultado final do tratamento (Axtelius et al., 1997; Axtelius et al., 1998).

Há muito tempo os esforços relacionados ao tratamento da doença periodontal estão concentrados não só na eliminação dos fatores etiológicos, mas também na preservação dos resultados ao longo do tempo. A manutenção da saúde após o tratamento é difícil. A cicatrização da bolsa periodontal é lenta e permite muitas vezes, nesse intervalo, a recolonização de bactérias (Sbordone et al., 1990), mesmo que a higiene diária seja eficiente.

Intervenções no tratamento periodontal convencional, por meio de vários tipos de terapias com o uso produtos químicos, são testadas continuamente na busca de melhores resultados (Rosling et al., 2001; Cosyn; Wyn, 2006). A desinfecção associada ao uso de antibióticos ocasionalmente é indicada, entretanto, além de reações adversas (Seymour; Rudralingham, 2008) ainda há o risco do desencadeamento de resistência desses microrganismos (Walker et al., 2004).

Nos últimos anos, o uso da radiação laser tem sido investigado como uma alternativa ou uma ferramenta adicional ao tratamento da doença periodontal. Características benéficas, como efeito hemostático, ablação seletiva de cálculo e efeito bactericida contra patógenos periodontais, permitiram a melhora na resposta ao tratamento e validaram o seu uso (Schwarz et al., 2008).

2.2 Laser

A luz laser é uma fonte de radiação eletromagnética que se difere de outras fontes de luz como a lâmpada ou a luz solar, por possuir propriedades específicas como a monocromaticidade, coerência e direcionalidade.

A luz produzida pelo aparelho de laser é gerada basicamente pela energização de um elemento ativo, por meio de uma fonte de energia em uma câmara ressonante. Os elementos ativos podem ser sólidos, líquidos, gasosos, semicondutores ou excímeros e são normalmente quem dão nome aos sistemas de laser, como por exemplo, CO₂, Nd:YAG, Er:YAG (érbio), GaAlAs (diodo), argônio, entre outros. Além disso, esses elementos definem propriedades importantes como, por exemplo, o comprimento de onda, que determina a extensão da absorção de energia junto às propriedades ópticas do tecido alvo. Neste, a luz laser pode ser refletida, espalhada, absorvida ou transmitida através dos tecidos.

Outra consideração importante é relacionada ao modo de atuação do laser, que o permite atuar em alta ou em baixa intensidade. Os primeiros são destinados à ablação, incisão, excisão e coagulação de tecidos (Ishikawa et al., 2009), enquanto que os efeitos do laser em baixa intensidade resultam em analgesia, biomodulação da inflamação e aceleração da reparação tecidual (Eduardo, 2010). Ambos podem atuar com o objetivo de redução microbiana.

O termo LASER é o acrônimo em inglês de Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation, ou seja, Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação. Baseado nessa teoria, proposta por Albert Einstein em 1917, Theodore Maiman (1960) desenvolveu o primeiro protótipo de laser, usando como elemento ativo um cristal de rubi.

As primeiras aplicações do laser no tecido dental foram reportadas por Goldman et al. (1964) e desde então os efeitos biológicos do laser têm sido estudados em todas as áreas da Odontologia.

2.3 Laser de diodo de alta potência e Periodontia

Com o desenvolvimento de uma fibra óptica flexível tornou-se possível a irradiação da luz no interior da bolsa periodontal a fim de causar, além do efeito bactericida, o debridamento dos tecidos moles em seu interior (Romanos et al., 2004). Os primeiros estudos clínicos que avaliaram a utilização do laser junto ao tratamento periodontal não cirúrgico tiveram início na década de 1990 com o laser de Nd:YAG (Cobb et al., 1992; Neill; Mellonig 1997). A partir daí foi vislumbrada, com o laser de alta potência, uma nova modalidade de tratamento periodontal tendo como prerrogativa o seu efeito bactericida entre outras vantagens como ação indolor, hemostasia e efeito antiinflamatório (Aoki et al., 2004).

Outros lasers (Lopes et al., 2010; Mullins et al., 2007) também foram testados no tratamento da doença periodontal sendo aplicáveis de acordo com as suas propriedades físicas e consequente interação com o tecido a ser irradiado. Paralelamente muitos estudos *in vitro* (Morlock et al., 1992; Crespi et al., 2006) foram realizados em busca de parâmetros seguros, como potência e tempo de irradiação, para evitar sua ineficácia ou mesmo malefício quando do seu uso *in vivo*.

Em virtude de suas semelhanças com o laser de Nd:YAG, o laser de diodo em alta intensidade passou a ser testado como adjunto ao tratamento da doença periodontal. Ambos possuem comprimento de onda na faixa do infravermelho próximo com alto coeficiente de absorção por tecidos pigmentados, tendo boa afinidade por tecidos moles.

O laser de diodo apresenta como meio ativo um sólido semiconductor formado tipicamente por uma associação de gálio, arseneto e outros elementos como o alumínio e o índio. Seu comprimento de onda varia entre 655 a 980nm, podendo ser emitido no modo pulsado ou contínuo, na forma de contato ou não dependendo de sua indicação clínica (Aoki et al., 2004).

Por ser pouco absorvido pela água e hidroxiapatita, o diodo não é um laser indicado para a remoção de cálculo e tratamento da superfície radicular. Essa característica do diodo foi testada no estudo Schwarz et al. (2003b), onde os autores avaliaram os efeitos do laser de diodo em alta intensidade e do Er:YAG comparados à raspagem e alisamento radicular. Foram utilizados 24 dentes unirradiculares, com PCS $\geq$ 8mm, indicados para extração. Os dentes foram divididos em 3 grupos (G): o G I foi tratado com laser Er:YAG 160mJ/pulso, 10 pulsos por segundo, ponta biselada 0,5 x 1,65mm em ângulo de 15 a 20° no sentido corono-apical em contato com a superfície radicular sob irrigação contínua. O G II foi tratado com o laser de diodo de 810nm, 1,8W, no modo pulsado, 10Hz, por meio de uma fibra óptica de 600 μ m, também em contato com a superfície radicular e o G III recebeu instrumentação mecânica subgengival. Esse estudo demonstrou que o laser de diodo é inadequado para a remoção de cálculo da superfície radicular.

A exemplo do estudo acima descrito, as comparações entre lasers no tratamento são importantes, pois nos fornecem subsídios e nos permitem a escolha do melhor laser para o efeito desejado. Interessantemente, quando acompanhamos os efeitos do laser por meio de revisão da literatura (Cobb, 2006) e revisão sistemática (Schawrz et al., 2008) percebemos que uma comparação significativa entre vários estudos clínicos ou entre laser e terapia convencional é difícil ou provavelmente impossível devido a grande variação de parâmetros que vão desde o comprimento de onda do laser até diferenças no modelo experimental. Estudos que comparam o mesmo laser ou diferentes tipos de laser num mesmo trabalho podem ser interessantes nesse aspecto, uma vez que é possível padronizar ao menos os parâmetros relacionados ao ensaio clínico.

O primeiro trabalho clínico que utilizou o laser de diodo de alta potência como coadjuvante ao tratamento periodontal foi um piloto realizado por Moritz et al. (1997). O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito imediato causado pelo laser de diodo na redução bacteriana em bolsas periodontais. A amostra foi constituída por 50 pacientes com doença periodontal e os pacientes foram divididos em 2 grupos: G I, teste (raspagem + laser) com 37 pacientes e G II, controle (raspagem) com 13 pacientes. Os parâmetros utilizados foram: 2,5W, no modo pulsado (50Hz e 10ms) e o laser, com comprimento de onda de 805nm, foi irradiado paralelo ao longo eixo radicular, com movimentos de varredura de apical para coronário. As amostras foram coletadas imediatamente antes e uma semana após a irradiação. Os resultados microbiológicos do grupo teste demonstraram uma redução de 57,7% de *A. actinomycetemcomitans*, 55,9% de *P. intermedia*, 62,2% de *P. gingivalis* e 71% na concentração total de bactérias presentes nas amostras e os levaram a concluir que a raspagem associada ao laser de diodo foi mais efetiva na redução de espécies bacterianas quando comparada ao tratamento convencional.

A continuação desse estudo foi realizada no ano seguinte (Moritz et al., 1998). Os parâmetros do laser foram mantidos, sendo incluídos os parâmetros clínicos: PCS e ISP (índice de sangramento papilar). O protocolo de tratamento consistiu em três irradiações com o laser de diodo: uma semana, dois e quatro meses após os procedimentos de raspagem. Os resultados demonstraram uma significativa redução no número de bactérias no grupo teste, bem como uma melhora de 96,9% no sangramento à sondagem no grupo teste em relação a 66,7% no grupo controle.

Os trabalhos que se sucederam usando o laser de diodo em alta intensidade como coadjuvante ao tratamento periodontal trouxeram resultados semelhantes, como redução no número de bactérias e melhoras significativas nos parâmetros clínicos. Borrajo et al. (2004) em um estudo também paralelo, procurou estabelecer uma metodologia mais simples da usada por Moritz et al. (1998) visando um protocolo para uso na clínica diária. O laser de diodo de 980nm foi irradiado duas vezes com 2W, 10 segundos por face, no modo pulsado (100ms). A diferença encontrada nos resultados após seis semanas foi em relação ao sangramento à sondagem que demonstrou melhora significativa no grupo onde o laser foi utilizado.

Assim como o estudo de Borrajo et al. 2004, o trabalho de Kreisler et al. (2005) avaliou a eficácia clínica do laser de diodo, junto ao tratamento periodontal convencional, sem a coleta de dados microbiológicos. Uma diferença importante

relacionada aos outros estudos foi o modelo de boca-dividida e a utilização do laser no modo contínuo. A amostra consistiu de 22 pacientes e subsequente à raspagem o laser, com comprimento de onda de 809nm, foi irradiado em dois quadrantes aleatoriamente escolhidos, com a potência de 1W, durante o tempo necessário para a irradiação de todas as faces de todas as bolsas dos dentes envolvidos. Doze semanas após os parâmetros clínicos periodontais iniciais e finais foram comparados e a diferença encontrada no nível de inserção clínica foi significativamente melhor no grupo laser comparada ao grupo controle.

O ensaio clínico de boca dividida de Caruso et al. (2008) utilizou uma amostra de 13 pacientes com periodontite crônica que foram tratados com raspagem e raspagem + laser. Um dos dentes experimentais foi irradiado com o laser de diodo (980nm) foi utilizado com 2,5W, no modo pulsado (30Hz e 30ms). Cada bolsa periodontal foi irradiada após a raspagem, duas vezes por 30 segundos, com 60 segundos de intervalo. Os parâmetros clínicos periodontais e microbiológicos foram avaliados após seis meses. O exame microbiológico por meio da reação de cadeia da polimerase (PCR) multiplex demonstrou que não houve diferença significativa na redução dos periodontopatógenos: *A. actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia*, *Eikenella corrodens*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* e *Treponema denticola*. Em relação aos parâmetros clínicos periodontais PCS, NCI, IP e IG, após seis meses de estudo, demonstraram sensível melhora tanto no grupo teste quanto no grupo controle.

Apesar de Kamma et al. (2006, 2009) terem trabalhado em pacientes com doença periodontal agressiva, torna-se interessante o conhecimento desses estudos pelo fato de terem a mesma abordagem metodológica utilizada nos outros ensaios que utilizaram o laser de diodo de alta potência. Ambos os estudos, duplo-cego e boca dividida, contaram com 30 pacientes. Cada quadrante recebeu aleatoriamente um tipo de tratamento: raspagem, laser, raspagem + laser. O laser foi usado uma vez com os seguintes parâmetros: 2W, no modo contínuo, em todo o dente, aproximadamente 30 segundos por bolsa. Esses estudos demonstraram que a raspagem associada ao laser foi a modalidade de tratamento mais efetiva, mantendo os níveis de *P. gingivalis* e *T. denticola*, e a quantidade de bactérias totais significativamente reduzidos após seis meses do tratamento. Em relação aos parâmetros clínicos a raspagem associada ao laser também demonstrou significativa

redução na profundidade clínica de sondagem e no nível clínico de inserção quando comparado aos sítios que receberam somente raspagem ou laser.

A literatura, apesar de resultados satisfatórios na maioria dos estudos, não definiu um protocolo para o uso do laser de diodo de alta potência como adjunto ao tratamento da doença periodontal.

3 PROPOSIÇÃO

Avaliar, por meio de parâmetros clínicos e microbiológicos, a eficácia do laser de diodo de alta potência como coadjuvante ao tratamento periodontal não cirúrgico.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Seleção dos pacientes

Este projeto foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da FOUSP de acordo com o parecer nº116/05 (Anexo A) e teve auxílio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP- 05/5695-8 (Anexo B).

Todos os participantes deste estudo foram recrutados nas clínicas de graduação e pós-graduação da disciplina de Periodontia, e na clínica de especialização em Periodontia da Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico da Odontologia (FUNDECTO) na Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP).

O tratamento dos pacientes, bem como a coleta de dados, foi realizado tanto na FUNDECTO quanto no Laboratório Especial de Laser em Odontologia (LELO), enquanto que a análise das amostras do exame microbiológico foi feita no Instituto de Ciências Biomédicas (ICB).

Foram considerados elegíveis para o estudo pacientes que estivessem de acordo com os seguintes critérios de inclusão e exclusão:

Critérios de inclusão:

- Pacientes portadores de Periodontite Crônica Severa (Tonetti; Claffey, 2005).
- Dentes unirradiculares íntegros e vitais
- Dentes unirradiculares contra-laterais do mesmo arco
- Profundidade clínica de sondagem $\geq 5\text{mm}$
- Apresentação de no mínimo 10 dentes na cavidade bucal.

Crterios de excluso:

- Pacientes tabagistas
- Pacientes que receberam tratamento periodontal prvio nos ltimos seis meses.
- Pacientes submetidos antibioticoterapia nos seis meses prvios ao estudo.
- Pacientes portadores de doenas ou condies sistmicas que pudessem atuar como fatores modificadores da doena periodontal presente.
- Pacientes dependentes de lcool ou drogas.
- Mulheres grvidas ou lactantes.

4.2 Delineamento do estudo e casustica

Este estudo foi um ensaio clnico aleatrio, duplo-cego e com modelo de boca-dividida. Os exames foram realizados por nico examinador treinado e calibrado por meio do coeficiente de correlao intra-classe (ICC), JEC-MG 0,997 ($p < 0,001$) e PCS 0,998 ($p < 0,001$) e repetidos com um intervalo de uma semana.

Para o clculo do tamanho da amostra foi usado um poder estatstico de 0,8 para detectar diferena significativa de 1,0mm no NCI ($\alpha = 0,05$, desvio padro (DP) = 1,6mm). O DP foi baseado em estudo prvio na mesma populao (De Micheli et al., 2010). Trinta e um (31) indivduos seriam necessrios. Considerando-se uma perda de 15% no seguimento, foram recrutados 36 pacientes.

4.3 Preparo dos pacientes

Após assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice A) os pacientes passaram por anamnese (Apêndice B) e exame periodontal completo (Apêndice C). Receberam orientação de higiene bucal (OHB), foram moldados e encaminhados para a realização de exame radiográfico periapical completo.

Todos os pacientes receberam tratamento periodontal prévio em até quatro sessões de raspagem com o aparelho de ultra-som MiniPiezon®, EMS, Suíça (Electro Medical System, Le Sentier, Switzerland) com exceção dos dentes selecionados para o estudo, que foram tratados durante a fase experimental.

4.4 Tratamento dos dentes experimentais

Cada paciente forneceu um par de dentes unirradiculares contralaterais, sendo um teste e o outro controle, com PCS $\geq$ 5mm, medidos com a sonda milimetrada North Caroline PCPUNC 15 (Hu-Friedy® Co. Chicagio, IL, USA). Para a mensuração da PCS e JEC-MG foi utilizado um guia de acrílico que tornou possível a padronização da sondagem (Badersten et al., 1984) (Figura 4.1).

A região foi anestesiada com solução injetável de lidocaína a 2% e os dentes experimentais receberam RAPCR, realizada pelo examinador 1, com curetas Gracey n° 5/6 e 7/8 (Hu-Friedy® Co. Chicagio, IL, USA) e logo em seguida foram polidos com pedra pomes e taça de borracha. A randomização do estudo foi realizada pelo examinador 2, pelo método aleatório de lançamento de moeda.

Tanto os parâmetros clínicos quanto a coleta para o exame microbiológico foram obtidos imediatamente antes do tratamento desses dentes. A coleta seguinte, para a obtenção dos resultados, foi realizada seis semanas após o fim do tratamento (Mousquès et al., 1980), ou seja, seis semanas após a segunda irradiação do laser, de acordo com o cronograma (Figura 4.4).

Figura 4.1 - Guia de acrílico em posição para padronização da sondagem

4.5 Irradiação do laser

O equipamento utilizado foi o laser de diodo da ZAP (Softlase, Pleasant Hill – USA), com comprimento de onda de $808 \pm 5\text{nm}$ e fibra óptica com diâmetro de $400\mu\text{m}$ (Figura 4.2). O laser foi utilizado no modo contínuo, com potência de $1,5\text{W}$ e densidade de potência de $1.193,7 \text{ W/cm}^2$.

Antes de cada irradiação, um medidor de energia e potência (Fieldmaster, Coherent, Alburn-USA) foi utilizado e permitiu o ajuste e a padronização da quantidade de energia irradiada.

Figura 4.2 - Laser de diodo (ZAP Softlase, Pleasant Hill – USA)

Figura 4.3 - Irradiação do laser de diodo no interior da bolsa periodontal

Após o polimento em ambos os dentes, a fibra óptica foi introduzida na bolsa periodontal, paralela ao longo eixo do dente, um milímetro aquém da profundidade clínica de sondagem (Ben Hatit et al., 1996). Durante os 20 segundos de irradiação foram realizados movimentos de varredura de apical para cervical (Figura 4.3).

O laser de diodo irradiou a bolsa periodontal do dente teste duas vezes, um dia e uma semana após a raspagem. No lado controle a mesma manobra foi realizada, de modo simulado, sem a ativação do laser, para assegurar o cegamento do sujeito da pesquisa.

Figura 4.4 - Cronograma esquemático

4.6 Avaliação clínica

O desfecho primário neste estudo foi o NCI (Glavind; Loe, 1967). Os demais desfechos utilizados foram:

- Profundidade clínica de sondagem (PCS) (Glavind; Loe, 1967)
- Sangramento à sondagem (SS) (Greenstein et al., 1981)
- Retração gengival (JEC-MG)
- Índice de placa (Silness; Loe 1964).

4.7 Avaliação microbiológica

Para a coleta da placa subgengival, os dentes foram isolados com roletes de algodão. O biofilme supra-gengival foi removido anteriormente e a amostra de placa subgengival foi obtida introduzindo-se dois cones de papel nº 40 estéreis no interior da bolsa durante 30 segundos (Renvert et al., 1990) (Figura 4.5). A amostra coletada foi depositada em um frasco contendo 3mL do meio de transporte (VMGA III) (Figura 4.6). Essas amostras foram processadas em até 24 horas após as coletas.

Os frascos contendo os cones no VMGA III (Möller, 1966) foram incubados a 37°C por 30 minutos a fim de liquefazer a gelatina, que em seguida foi homogeneizada em agitador de tubos (Fisher Vortex Genie 2, USA), durante 1 minuto, em velocidade máxima, para promover a dispersão bacteriana.

Figura 4.5 - Introdução do cone de papel no interior da bolsa periodontal

Figura 4.6 - Frascos contendo o meio de transporte VGMA III, com cones de papel após a coleta do biofilme.

Alíquotas de 100µL de cada amostra não diluída e diluídas a 1/10 e 1/100 em água peptonada, foram semeadas em placas de Petri contendo meio de cultura seletivo TSBV (ágar soja tripticaseína acrescido de soro de cavalo, bacitracina e vancomicina) (Slots; Reynolds, 1982). Após três dias de incubação, a 37°C, em atmosfera contendo 5 a 10% de CO₂, foi realizada a contagem e identificação presuntiva das colônias de *A. actinomycetemcomitans*. Esta identificação foi baseada no aspecto da morfologia da colônia, através de observação do

microscópio estereoscópico, características morfológicas dos microrganismos sob microscópio óptico e coloração de Gram e prova da catalase.

Alíquotas de 100µL de cada amostra, diluídas a 1/100, 1/1000 e 1/10000, em água peptonada, foram semeadas em placas de Petri contendo meio Ágar Brucella acrescido de sangue desfibrinado de carneiro a 5%, hemina (10µg/mL, Sigma H-2250) e menadione (1µg/mL, Sigma M-5625) (LeGoff et al., 1997). As diluições foram realizadas em triplicata.

Após sete dias de incubação a 37°C, em atmosfera de anaerobiose (Jarra de anaerobiose 2,5L Oxoid – USA), as placas foram analisadas em microscópio estereoscópico para a caracterização morfológica e contagem do número de UFCs de BT e UFCs de BPP.

Inicialmente, a identificação presuntiva das colônias de BPP baseou-se em esfregaços corados pelo método de Gram. As colônias constituídas por bacilos Gram negativos e coloração negra foram repicadas em Brucella-ágar sangue. Após sete dias foi observado crescimento homogêneo das colônias para aplicação dos testes bioquímicos.

O teste de fermentação da lactose (Alcoforado et al., 1987) foi realizado utilizando-se o substrato 4-metil-umbiliferryl-β-D-galactosidase (MUG) (M1633, Sigma, USA) diluído em 1% de dimetil sulfoxido (D8779, Sigma, USA). Alíquotas de 20µL da solução foram depositadas sobre a superfície da colônia bacteriana. A leitura foi realizada após dois minutos, em temperatura ambiente, com auxílio de luz ultravioleta com comprimento de onda longo (365nm, Minerallight Lamp, modelo UVG L-58, USA)

A prova da atividade de tripsina (Slots, 1987) foi realizada empregando-se o composto sintético fluorogênico carbobenzoxi L-arginina-7-amino-4-metilcoumarina amido-HCL (CAAM), seguindo os mesmos procedimentos do teste MUG.

As colônias BPP com autofluorescência positiva e teste de MUG e CAAM negativos foram identificadas como *P. intermedia*, ou *Prevotella nigrescens*, e as que apresentavam autofluorescência negativa, teste de MUG negativo e CAAM positivo foram identificadas como *P. gingivalis*.

4.8 Análise estatística

Em primeiro lugar, foi calculada a média e o desvio padrão das variáveis PCS, NCI, JEC-MG, IP, SS, número de UFCs de BT e BPP, utilizando-se o paciente como unidade estatística. Cada sujeito de pesquisa apresentou dois sítios tratados no estudo: um do grupo teste e um do grupo controle. Assim, cada paciente foi o seu próprio controle.

Foi utilizado o teste t para amostras pareadas, para verificar se houve diferença entre as médias dos grupos em cada período experimental. O teste t para amostras pareadas também foi usado para verificar se, dentro de cada grupo, houve alteração das médias comparando-se o início do estudo e seis semanas.

Para verificar se existia associação entre grupo experimental e presença das bactérias *P. gingivalis*, *P. intermedia* e *A. actinomycetemcomitans* foi usado o teste Qui-quadrado. Quando o teste não podia ser usado, foi usado o teste de Fisher.

O teste de McNemar, para variáveis dicotômicas relacionadas, foi utilizado para verificar se havia diferença na presença de *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *A. actinomycetemcomitans*, em cada grupo, antes e após a irradiação de laser.

Os dados coletados foram registrados em um banco de dados elaborado em programa Excel (versão 7.0). A análise estatística foi realizada em programa STATISTICA versão 5.1 e programa SPSS para Windows (versão 5.2).

Foi utilizado um nível de significância α de 5% em todos os testes estatísticos.

5 RESULTADOS

Foram triados oitenta e oito pacientes e selecionados trinta sete com idade variando entre 37 a 64 anos os quais preencheram os critérios de inclusão do estudo. Um paciente foi excluído por não ter comparecido à consulta de retorno. Dessa forma, o estudo foi realizado com 36 pacientes.

A análise das variáveis demográficas idade e gênero apresentou-se dividida em 23 (63,8%) pacientes do sexo feminino e 13 (36,1%) pacientes do sexo masculino, sendo a média de idade $46,8 \pm 8,11$.

5.1 Parâmetros Clínicos

Os valores referentes aos parâmetros clínicos encontram-se na tabela 5.1.

Com relação ao parâmetro PCS, no início do estudo não havia diferença significativa entre os grupos ($p=0,06$). Após seis semanas, foi observada redução significativa de 2,08mm no grupo teste ($p<0,001$) e de 2,41mm no grupo controle ($p<0,001$). O grupo controle apresentou maior redução de PCS que o grupo teste. Foi observada menor média de PCS após 6 semanas no grupo controle em comparação ao grupo teste, sendo que essa diferença entre os grupos foi significativa ($p=0,002$).

Quanto ao NCI, no início do estudo, não havia diferença significativa entre os grupos. Após 6 semanas, foi observada redução significativa de 1,20mm no grupo teste ($p<0,001$) e de 1,89mm no grupo controle ($p<0,001$). O grupo controle apresentou maior redução no NCI do que o grupo teste, e após 6 semanas a diferença entre os grupos foi significativa ($p=0,013$).

Tabela 5.1- Média, desvio padrão e comparação dos grupos experimentais Teste (T) e Controle (C) e dos momentos com relação à Profundidade Clínica de Sondagem (PCS), Nível Clínico de Inserção (NCI), Junção Esmalte Cimento - Margem Gengival (JEC-MG), Índice de Placa (IP) e Sangramento à Sondagem (SS)

	Início (0)	6 semanas (1)	<i>p</i> valor ^a
PCS			
Teste	6,14 ± 1,35	4,06 ± 1,49	<0,001 [*]
Controle	5,69 ± 0,95	3,28 ± 1,30	<0,001 [*]
<i>p</i> valor ^b	0,06	0,002 [*]	
NCI			
Teste	6,92 ± 1,94	5,72 ± 2,51	<0,001 [*]
Controle	6,50 ± 1,74	4,61 ± 1,88	<0,001 [*]
<i>p</i> valor ^b	0,25	0,013 [*]	
JEC-MG			
Teste	0,81 ± 1,39	1,56 ± 1,88	0,002 [*]
Controle	0,81 ± 1,50	1,28 ± 1,32	0,004 [*]
<i>p</i> valor ^b	1,00	0,40	
IP			
Teste	1,25 ± 0,99	0,17 ± 0,37	<0,001 [*]
Controle	1,47 ± 0,90	0,11 ± 0,31	<0,001 [*]
<i>p</i> valor ^b	0,30	0,32	
SS			
Teste	97,2 ± 16,6	44,4 ± 50,4	<0,001 [*]
Controle	94,4 ± 23,2	36,1 ± 48,7	<0,001 [*]
<i>p</i> valor ^b	0,32	0,47	

* diferença significativa a 5%

p valor *a* (teste *t*) diferença entre os tempos em cada grupo

p valor *b* (teste *t*) diferença entre grupo Teste e Controle

No início, os dois grupos apresentavam médias iguais de JEC-MG ($p=1,00$). Nos dois grupos foi observado aumento da retração após 6 semanas. O grupo teste apresentou aumento significativo de 0,75mm na média de JEC-MG ($p=0,002$), enquanto que o grupo controle apresentou aumento de 0,47mm ($p=0,004$). A diferença entre os grupos não foi significativa após 6 semanas ($p=0,40$).

Não foi observada diferença entre os grupos com relação à média de IP, tanto no início ($p=0,30$) quanto ao final do estudo ($p=0,32$). No grupo teste foi verificada redução significativa de 1,08 em IP ($p<0,001$), e no grupo controle houve redução significativa de 1,36 ($p<0,001$).

Não foi observada diferença entre os grupos com relação à média de SS, tanto no início ($p=0,32$) quanto ao final do estudo ($p=0,47$). Foi observada redução significativa em ambos os grupos ($p<0,001$).

5.2 Parâmetros Microbiológicos

Não foi observada diferença entre os grupos com relação às UFCs no início do estudo. Seis semanas após o tratamento foi observada redução significativa de UFCs nos grupos teste ($p<0,001$) e controle ($p=0,014$), mas sem diferença entre os grupos (Tabela 5.2).

Tabela 5.2 – Média, desvio padrão e comparação dos grupos experimentais Teste (T) e Controle (C) e dos momentos com relação ao número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de bactérias totais (BT) e bactérias pigmentadas de preto (BPP)

UFCs de BT ($\times 10^4$)	Início (0)	6 semanas (1)	p valor^a
Teste	22,73 $\pm$ 23,76	3,68 $\pm$ 6,81	<0,001*
Controle	38,88 $\pm$ 77,46	5,73 $\pm$ 12,52	0,014*
p valor ^b	0,17	0,31	
UFCs de BPP ($\times 10^3$)	Início (0)	6 semanas (1)	p valor^a
Teste	11,24 $\pm$ 25,51	1,21 $\pm$ 4,45	0,022*
Controle	49,62 $\pm$ 123,70	4,01 $\pm$ 13,81	0,031*
p valor ^b	0,07	0,26	

* diferença significativa a 5%

p valor a (teste t) diferença entre os tempos em cada grupo

p valor b (teste t) diferença entre grupo Teste e Controle

Com relação ao número de UFCs de bactérias pigmentadas de preto não foi detectada diferença entre os grupos no início do estudo. Seis semanas após o tratamento foi observada redução significativa dessas colônias tanto no grupo teste ($p < 0,022$) quanto no grupo controle ($p = 0,031$), também sem diferença entre os grupos (Tabela 5.2).

Tabela 5.3 – Porcentagem de pacientes com *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*) e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*) e grupo experimental no início e seis semanas após o tratamento.

	Início (0)	6 semanas (1)	p valor ^b
<i>P. gingivalis</i>			
Teste	27,8% (10)	16,7 % (06)	0,21
Controle	47,2% (17)	16,7 % (06)	0,001*
p valor ^a	0,08	1,00	
<i>P. intermedia</i>			
Teste	22,2% (08)	8,3% (03)	0,125
Controle	22,2% (08)	8,3% (03)	0,125
p valor ^a	1,00	1,00	
<i>A. actinomycetemcomitans</i>			
Teste	8,3% (03)	8,3% (03)	1,00
Controle	5,6% (02)	2,8% (01)	1,00
p valor ^a	1,00	0,60	

* diferença significativa a 5%

p valor^a teste exato de Fisher

p valor^b teste de McNemar

Não houve associação entre grupo e a presença das bactérias analisadas *P. gingivalis*, *P. intermedia* e *A. actinomycetemcomitans* em nenhum momento do estudo, ou seja, em nenhum momento do estudo a presença dessas bactérias foi significativamente maior em algum dos grupos experimentais (Tabela 5.3).

Em relação à *P. gingivalis*, no grupo teste, sua eliminação ocorreu em 5 dos 10 sítios que apresentavam a bactéria no início do estudo. Um sítio que não apresentava a bactéria no início passou a apresentar após o tratamento. De acordo com o teste de McNemar, essa mudança não foi significativa.

No grupo controle, dos 17 sítios que apresentavam *P. gingivalis* no início, apenas seis continuaram apresentando a bactéria após 6 semanas. De acordo com o teste de McNemar, essa mudança foi significativa ($p = 0,001$).

Tanto no grupo teste como no grupo controle, houve eliminação de *P. intermedia* em 6 dos 8 sítios que apresentavam a bactéria no início do estudo. Nos dois grupos, um sítio que não apresentava a bactéria no início passou a apresentar após seis semanas. De acordo com o teste de McNemar, essa mudança não foi significativa.

No grupo teste, houve eliminação de *A. actinomycetemcomitans* em apenas um dos três sítios que apresentavam a bactéria antes do tratamento. Um sítio negativo para *A. actinomycetemcomitans* tornou-se positivo após seis semanas. De acordo com o teste de McNemar essas mudanças não foram significativas.

No grupo controle, houve eliminação de *A. actinomycetemcomitans* nos dois sítios que apresentavam a bactéria no início do estudo. Um sítio negativo passou a apresentar a bactéria após seis semanas. Essas alterações não foram significativas.

6 DISCUSSÃO

Este trabalho avaliou, por meio de parâmetros clínicos e microbiológicos, o desempenho do laser de diodo de alta potência como adjunto ao tratamento da periodontite crônica.

A redução microbiana no interior da bolsa periodontal foi o fator determinante para a escolha dos parâmetros do laser, entretanto, não foi observada na literatura uma padronização quanto à energia e o tempo de irradiação. As potências utilizadas e testadas, de acordo com os trabalhos aqui descritos, variaram desde 1W a 2,5W no modo contínuo ou pulsado, enquanto o tempo variou, na maioria das vezes de acordo com a profundidade clínica de sondagem. Os parâmetros utilizados no presente estudo (1,5W, contínuo, 20 segundos) foram determinados com base no estudo *in vitro* de Kreisler et al. (2001), Theodoro et al. (2003) e Haypek et al. (2006), que avaliaram o efeito do laser de diodo de alta potência sobre fibroblastos gengivais e em relação a sua interação e biocompatibilidade junto à superfície radicular.

Um fator importante inerente à irradiação do laser está relacionado à variação de energia liberada pela ponta da fibra óptica e que deve ser corrigida com o auxílio do Power Meter. Neste estudo a perda de energia foi de aproximadamente 20%. Não foi observada em outros estudos, que utilizaram laser de diodo de alta potência, a descrição da perda de energia ou mesmo a utilização do Power Meter para a sua correção.

Lamentavelmente a maioria dos estudos não descreve a fluência ou a densidade de potência utilizada, dificultando as comparações e inviabilizando, por exemplo, a realização de uma revisão sistemática a respeito desse laser (Cobb, 2006). Apenas o estudo de Kamma et al. (2009) dentre os estudos que usaram o laser de diodo, relatou a densidade de potência usada que foi de $2.830\text{W}/\text{cm}^2$. Neste estudo esse parâmetro foi de $1.193,7\text{ W}/\text{cm}^2$. Outra observação importante está relacionada à limitação do desenho experimental, o trabalho de Moritz et. (1998), por exemplo, apesar de mensurar PCS e ISP não mensura o NCI, considerado o parâmetro clínico padrão-ouro para investigar a história pregressa da doença periodontal destrutiva (Armitage, 2004).

A amostra homogênea de pacientes com periodontite crônica, bem como a equivalência de dentes, faces e similaridade na PCS dos sítios experimentais permitiu que esse estudo fosse realizado por meio de comparações entre o mesmo sujeito, ou seja, boca-dividida (Hujoel; Loesche, 1990). Esse tipo de ensaio é considerado ótimo em termos de comparações entre tratamentos periodontais permitindo aos testes estatísticos aumentar a validade dos resultados (Hujoel; DeRouen, 1992). A condição duplo-cega do ensaio clínico foi determinada pelo sujeito que não foi informado sobre qual sítio receberia a irradiação com o laser, e também pelo fato da intervenção e a coleta de dados serem realizadas por operadores diferentes. A aleatoriedade foi realizada por meio de sorteio entre os dentes experimentais. O tempo de avaliação, seis semanas após o término do tratamento, foi definido de acordo com o trabalho de Mousquès et al. (1980).

Os resultados do presente estudo demonstraram que tanto a RAPCR quanto a RAPCR + laser promoveram melhoras significativas em relação a todos os parâmetros clínicos estudados ao longo de seis semanas. Entretanto, a melhora observada no NCI e PCS, assim como no trabalho de De Micheli et al. (2010), foi estatisticamente melhor no grupo que recebeu somente RAPCR. Tanto a primeira irradiação do laser, executada um dia após, quanto à segunda irradiação, realizada uma semana após o tratamento poderia, mecanicamente por meio do deslocamento da fibra óptica no interior da bolsa periodontal, alterar o processo de cicatrização (Polimeni et al., 2006). Entretanto, esse procedimento foi realizado em ambos os sítios, o que não explicaria essa diferença. Apesar do uso de parâmetros adequados do laser de acordo com a literatura (Kreisler et al., 2002) e na ausência de evidência histológica poderíamos, hipoteticamente, atribuir essa discrepância a algum efeito indesejado do laser. O estudo de Kreisler et al. (2001), que avaliou o efeito do laser de diodo (810nm) sobre cultura de fibroblastos gengivais humanos, infere que danos colaterais aos tecidos periodontais podem ocorrer durante a descontaminação da bolsa periodontal se configurações relacionadas à potência e ao tempo não forem adequadas.

Não foi encontrado na literatura evidência de que o laser pudesse, de alguma forma, inibir a formação do biofilme dental após a sua irradiação. O parâmetro clínico IP, assim como em outros estudos que realizaram OHB no início do estudo (Kreisler et al., 2005), foi reduzido significativamente em ambos os grupos experimentais.

O parâmetro SS está diretamente associado à inflamação gengival (Greenstein et al., 1981) e relacionada ao aumento do risco para progressão da periodontite (Lang et al., 1986). Neste estudo observamos uma redução superior a 50% nos grupos experimentais, e não significativa entre ambos, onde, de acordo com os resultados, ficou clara a correlação entre a diminuição do sangramento e a redução bacteriana. O estudo de Borrajo et al. (2004) encontrou diferença significativa para esse parâmetro sendo esta satisfatória para o grupo que recebeu raspagem + laser. Entretanto, a ausência da análise dos parâmetros microbiológicos, assim como ocorreu no estudo de Kreisler et al. (2005), não permitiu uma análise equivalente desses resultados.

O teste microbiológico, principalmente quando realizado em ensaios clínicos, complementa o diagnóstico e reforça os resultados da pesquisa, uma vez que a presença de determinados patógenos possuem grau de correlação com os parâmetros clínicos periodontais (Socransky et al., 2002, 2005).

A cultura foi o teste microbiológico eleito para este estudo por ser considerado um teste tradicional para identificação e contagem das bactérias. Além de permitir somente a identificação de microrganismos viáveis, também apresenta custo reduzido quando comparado as outras técnicas, como por exemplo, sondas de DNA e PCR em tempo real (Atieh, 2008).

Os exames de cultura foram realizados em meio seletivo para três bactérias periodontopatogênicas: a *P. gingivalis* e a *P. intermedia*, fortemente correlacionadas com a periodontite crônica (Darveau et al., 1997; López, 2000), e também a *A. actinomycetemcomitans*, um dos agentes etiológicos das doenças periodontais (Offenbacher, 1996).

Em relação ao comportamento das UFCs de bactérias totais e bactérias pigmentadas de preto foi observado, assim como no estudo anterior (De Micheli et al., 2010), que tanto o grupo controle quanto o grupo teste apresentaram redução significativa após seis semanas do término do tratamento, porém sem diferença estatística entre os grupos. O estudo de Moritz et al. (1998), apesar das diferenças quanto aos parâmetros do laser e contando com uma irradiação a mais, demonstrou uma diferença significativamente menor no número de bactérias totais no grupo laser, ao fim de seis meses de estudo. Entretanto, a potência utilizada nesse estudo (2,5W) foi considerada alta e não segura, pela probabilidade de gerar danos, como

fusão, carbonização e necrose, e o aquecimento da superfície radicular (Kreisl et al., 2002).

De acordo com os resultados deste estudo a presença da *P. gingivalis*, *P. intermedia* e *A. actinomycetemcomitans* não foi significativamente maior em qualquer grupo experimental em nenhum momento do estudo.

A escolha do laser de diodo de alta potência foi baseada em estudos que demonstraram que o seu comprimento de onda apresenta poder de penetração e afinidade por pigmentos presentes em algumas bactérias que serviriam como cromóforos absorvedores, intensificando a sua ação e permitindo dessa maneira alcançar e atingir bactérias anaeróbias, de pigmentação negra, como é o caso da *P. gingivalis* (Colluzzi, 2000).

Apesar do grupo teste e controle terem recebido a raspagem, quando observamos o comportamento da *P. gingivalis*, sua redução foi significativa no grupo controle e a irradiação do laser não teve nenhum benefício adicional. De acordo com o estudo *in vitro* de Harris e Yessik (2004), existe uma “janela terapêutica” que varia numa faixa de comprimento de onda na região do infravermelho, onde a absorção nos tecidos é mínima e a transmissão é máxima podendo caracterizar a efetividade do laser em relação à ablação da bactéria. Nesse caso o comprimento de onda do laser de diodo, que favorece a alta absorção pela hemoglobina, poderia ser um dos motivos responsáveis por este laser demonstrar baixa seletividade à ablação da *P. gingivalis* quando comparado ao laser de Nd:YAG. Outro fator é atribuído à característica temporal do pulso, ou seja, a longa duração do pulso do laser de diodo.

O comportamento da *P. intermedia* foi semelhante tanto para o grupo que recebeu a RAPCR, quanto para o grupo que recebeu RAPCR + laser. Entretanto, nenhum dos tratamentos foi eficaz para a redução significativa dessa bactéria.

Tanto a *P. gingivalis* quanto a *P. intermedia* são também chamadas bactérias pigmentadas de preto por produzirem pigmentos de coloração negra em Brucella-água. Quando *in vivo* não é possível afirmar que essas bactérias sejam pigmentadas. De acordo com o estudo de Okamoto et al. (1998) essas bactérias necessitam da heme (ferro protoporfirina IX) como fonte de ferro para seu crescimento, sendo este o pigmento predominante em *P. gingivalis* (Smalley et al., 1998) e *P. intermedia* (Smalley et al., 2003). A quantidade de ferro livre acumulada na superfície da célula bacteriana é fotossensível para alguns comprimentos de onda (Meló, 1987) o que

resultaria na ablação dessas bactérias pela luz de acordo com o estudo de Soukos et al. (2005).

Neste ensaio não houve diferença significativa na redução do *A. actinomycetemcomitans* seis semanas após o tratamento para ambos os grupos. Apesar dessa bactéria estar correlacionada às formas agressivas de periodontites, torna-se alvo de interesse uma vez que, na dependência de seus sorotipos, também está associada à periodontite crônica (Asikainen et al., 1995) e sua presença junto a outras bactérias como *P. gingivalis* e *Tannerella Forsythia* funciona como um indicador de atividade de doença (Roman-Torres et al., 2010). Dentre os estudos que observaram o efeito do laser de diodo junto ao tratamento periodontal na redução do *A. actinomycetemcomitans* os trabalhos de Caruso et al. (2008) e Kamma et al. (2006, 2009) obtiveram resultados semelhantes a este estudo.

A explicação para a estabilidade nos níveis do *A. actinomycetemcomitans*, e mesmo da *P. gingivalis* após o tratamento, de acordo com alguns estudos, estaria relacionada à capacidade dessas bactérias de invadir o tecido conjuntivo adjacente à bolsa periodontal (Johnson et al., 2008) dificultando, dessa maneira, sua supressão por meio da raspagem. Não foi encontrado na literatura estudos que demonstrassem seletividade do laser de diodo para essa bactéria, lembrando que o *A. actinomycetemcomitans*, mesmo em cultivo, não possui nenhum componente fotossensível. Apesar do efeito da ablação ser usualmente descrito para explicar a lise bacteriana por meio do laser de alta potência, esse mecanismo, de acordo com Akiyama et al. (2010), não é completamente esclarecido.

Os resultados obtidos neste ensaio clínico demonstraram que a utilização do laser de diodo de alta potência como adjunto ao tratamento não-cirúrgico da periodontite crônica não promoveu benefícios adicionais quando comparado aos procedimentos de raspagem.

Ensaio clínico devidamente delineados são de extrema importância para possíveis comparações entre estudos e a obtenção de resultados conclusivos, que possam nortear o tratamento da doença periodontal na prática clínica diária.

7 CONCLUSÕES

Tanto o tratamento convencional quanto o tratamento associado ao laser de diodo de alta potência promoveram melhoras significativas após seis semanas do tratamento.

O uso do laser de diodo de alta potência como adjunto ao tratamento periodontal convencional não demonstrou benefícios adicionais quando comparado ao tratamento periodontal convencional.

REFERÊNCIAS¹

Adriaens PA, Adriaens LM. Effects of nonsurgical periodontal therapy on hard and soft tissues. *Periodontol 2000*. 2004;36:121-45.

Akiyama F, Aoki A, Miura-Uchiyama M, et al. *In vitro* studies of the ablation mechanism of periodontopathic bacteria and decontamination effect on periodontally diseased root surfaces by erbium:yttrium-aluminum-garnet laser. *Lasers Med Sci*. 2010 Mar 23. [Epub ahead of print].

Alcoforado GAP, McKay TL, Slots J. Rapid method for detection of lactose fermentation oral microorganisms. *Oral Microbiol Immunol*. 1987;59:35-8.

Andrade AKP, Feist IS, Pannuti CM, Cai S, Zezell DM, De Micheli G. Nd:YAG laser clinical assisted in class II furcation treatment. *Lasers Med Sci*. 2008;23:341-7.

Aoki A, Sasaki KM, Watanabe H, Ishikawa I. Lasers in nonsurgical periodontal therapy. *Periodontol 2000*. 2004;36:59-97.

Armitage GC. The complete periodontal examination. *Periodontol 2000*. 2004;34:22-33.

Asikainen S, Chen C, Slots J. *Actinobacillus-actinomycetemcomitans* genotypes in relation to serotypes and periodontal status. *Oral Microbiol Immunol*. 1995;10(2):65-8.

Atieh MA. Accuracy of real-time polymerase chain reaction versus anaerobic culture in detection of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*: a meta-analysis. *J Periodontol*. 2008;79:1620-9.

Axtelius B, Soderfeldt B, Edwardsson S, Attstrom R. Therapy-resistant periodontitis (II). Compliance and general and dental health experiences. *J Clin Periodontol*. 1997;24(9):646-53.

Axtelius B, Soderfeldt B, Nilsson A, Edwardsson S, Attstrom R. Therapy-resistant periodontitis. Psychosocial characteristics. *J Clin Periodontol*. 1998;25(6):482-91.

¹ De acordo com Estilo Vancouver.

Badersten A, Nilveus R, Egelberg J. Reproducibility of probing attachment level measurements. *J Clin Periodontol*. 1984 Aug;11(7):475-85.

Ben Hatit Y, Blum R, Severin C, Maquin M, Jabro MH. The effects of a pulsed Nd:YAG laser on subgingival bacterial flora and on cementum: an *in vivo* study. *J Clin Laser Med Surg*. 1996 Jun;14(3):137-43.

Berglundh T, Krok L, Liljenberg B, Westfelt E, Serino G, Lindhe J. The use of metronidazole and amoxicillin in the treatment of advanced periodontal disease - a prospective, controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 1998;25(5):354-62.

Borrajio JLL, Varela LG, Castro GL, Rodriguez-Nunez I, Torreira MG. Diode laser (980 nm) as adjunct to scaling and root planing. *Photomed Laser Surg*. 2004;22(6):509-12.

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;60(1):67-72.

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

Caruso U, Nastri L, Piccolomini R, d'Ercole S, Mazza C, Guida L. Use of diode laser 980 nm as adjunctive therapy in the treatment of chronic periodontitis. A randomized controlled clinical trial. *New Microbiol*. 2008;31(4):513-8.

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 Mar;15(3):163-9.

Cobb CM. Lasers in periodontics: a review of the literature. *J Periodontol*. 2006;77(4):545-64.

Cobb CM, McCawley TK, Killoy WJ. A preliminary-study on the effects of the Nd:YAG laser on root surfaces and subgingival microflora *in vivo*. *J Periodontol*. 1992;63(8):701-7.

Coluzzi DJ. An overview of laser wavelengths used in dentistry. *Dent Clin North Am*. 2000 Oct;44(4):753-65.

Cosyn J, Wyn I. A systematic review on the effects of the chlorhexidine chip when used as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2006;77(2):257-64.

Crespi R, Barone A, Covani U. Er : YAG laser scaling of diseased root surfaces: a histologic study. *J Periodontol.* 2006;77(2):218-22.

Cugini MA, Haffajee AD, Smith C, Kent RL, Jr., Socransky SS. The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases: 12-month results. *J Clin Periodontol.* 2000 Jan;27(1):30-6.

Darveau RP, Tanner A, Page RC. The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol 2000.* 1997;14:12-32.

De Micheli G, Andrade AKP, Alves VT, Seto M, Pannuti CM, Cai S. Efficacy of a high intensity diode laser as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a randomized controlled trial. *Laser Med Sci.* 2010 Feb 4 [Epub ahead of print].

Eduardo CP. *Lasers em Odontologia.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 232 p.

Fleischer HC, Mellonig JT, Brayer WK, Gray JL, Barnett JD. Scaling and root planing efficacy in multirooted teeth. *J Periodontol.* 1989;60(7):402-9.

Gher ME, Vernino AR. Root morphology-clinical significance in pathogenesis and treatment of periodontal disease. *J Am Dent Assoc.* 1980 Oct;101(4):627-33.

Glavind L, Loe H. Errors in the clinical assessment of periodontal destruction. *J Periodontal Res.* 1967;2(3):180-4.

Goldman L, Goldman B, Hornby P, Meyer R. Impact of laser on dental caries. *Nature.* 1964;203(494):417.

Greenstein G, Caton J, Polson AM. Histologic characteristics associated with bleeding after probing and visual signs of inflammation. *J Periodontol.* 1981;52(8):420-5.

Grossi SG. Treated of periodontal disease and control of diabetes: an assessment of the evidence and need for future research. *J Periodontol.* 2001;6:138-45.

Gutknecht N, Raoufi P, Franzen R, Lamper F. Reduction of specif microorganisms in periodontal pockets with the aid af an Nd:YAG laser: an *in vivo* study. J Oral Laser Appl. 2002;3:175-80.

Harris DM, Yessik M. Therapeutic ratio quantifies laser antisepsis: ablation of *Porphyromonas gingivalis* with dental lasers. Laser Surg Med. 2004;35(3):206-13.

Haypek P, Zezell DM, Bachmann L, Marques MM. Interaction between high-power diode laser and dental root surface. Thermal, morphological and biocompatibility analysis. J Oral Laser Appl. 2006;6:1-9.

Hersh EV, Moore PA. Adverse drug interactions in dentistry. Periodontol 2000. 2008;46:109-42.

Hujoel PP, Derouen TA. Validity issues in split-mouth trials. J Clin Periodontol. 1992;19(9):625-7.

Hujoel PP, Loesche WJ. Efficiency of split-mouth designs. J Clin Periodontol. 1990;17(10):722-8.

Ishikawa I, Aoki A, Takasaki AA, Mizutani K, Sasaki KM, Izumi Y. Applications of lasers in periodontics: true innovation or myth? Periodontol 2000. 2009;50:90-126.

Johnson JD, Chen RQ, Lenton PA, Zhang GZ, Hinrichs JE, Rudney JD. Persistence of extracrevicular bacterial reservoirs after treatment of aggressive periodontitis. J Periodontol. 2008;79(12):2305-12.

Kamma JJ, Vasdekis VGS, Romanos GE. The effect of diode laser (980 nm) treatment on aggressive periodontitis: evaluation of microbial and clinical parameters. Photomed Laser Surg. 2009;27(1):11-9.

Kamma JJ, Vasdekis VGS, Romanos GE. The short-term effect of diode laser (980 nm) Treatment on aggressive periodontitis: evaluation of clinical and microbiological parameters. J Oral Laser Appl. 2006;6:111-21.

Kinane DF. Periodontitis modified by systemic factors. Ann Periodontol. 1999;4:54-63.

Kreisler M, Al Haj H, d'Hoedt B. Clinical efficacy of semiconductor laser application as an adjunct to conventional scaling and root planing. Laser Surg Med. 2005;37(5):350-5.

Kreisler M, Al Haj H, Daublander M, Gotz H, Duschner H, Willershausen B, et al. Effect of diode laser irradiation on root surfaces *in vitro*. J Clin Laser Med Surg. 2002;20(2):63-9.

Kreisler M, Daublander M, Willershausen-Zonnchen B, d'Hoedt B. Effect of diode laser irradiation on the survival rate of gingival fibroblast cell cultures. Laser Surg Med. 2001;28(5):445-50.

Lang NP, Joss A, Orsanic T, Gusberti FA, Siegrist BE. Bleeding on probing - a predictor for the progression of periodontal-disease. J Clin Periodontol. 1986;13(6):590-6.

LeGoff A, Bunetel L, Mouton C, BonnaureMallet M. Evaluation of root canal bacteria and their antimicrobial susceptibility in teeth with necrotic pulp. Oral Microbiol Immunol. 1997;12(5):318-22.

Löe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. J Periodontol. 1965;36(3):177-87.

Lopes BM, Theodoro LH, Melo RF, Thompson GM, Marcantonio RA. Clinical and microbiologic follow-up evaluations after non-surgical periodontal treatment with erbium:YAG laser and scaling and root planing. J Periodontol. 2010 May;81(5):682-91.

López NJ. Occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Prevotella intermedia* in progressive adult periodontitis. J Periodontol. 2000;71(6):948-54.

Maiman TH. Stimulated optical radiation in ruby. Nature. 1960;187(4736):493-4.

Meló TB. Uptake of protoporphyrin and violet light photodestruction of *Propionibacterium acnes*. Z Naturforsch C. 1987 Jan-Feb;42(1-2):123-8.

Möller AJ. Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. Methodological studies. Odontol Tidskr. 1966 Dec 20;74(5):Suppl:1-380.

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.

Moritz A, Gutknecht N, Doertbudak O, et al. Bacterial reduction in periodontal pockets through irradiation with a diode laser: a pilot study. *J Clin Laser Med Surg*. 1997 Feb;15(1):33-7.

Moritz A, Schoop U, Goharkhay K, et al. Treatment of periodontal pockets with a diode laser. *Laser Surg Med*. 1998;22(5):302-11.

Morlock BJ, Pippin DJ, Cobb CM, Killoy WJ, Rapley JW. The effect of Nd:YAG laser exposure on root surfaces when used as an adjunct to root planing - an *in vitro* study. *J Periodontol*. 1992;63(7):637-41.

Mousquès T, Listgarten MA, Phillips RW. Effect of scaling and root planing on the composition of the human subgingival microbial flora. *J Periodontal Res*. 1980;15:144-51.

Mullins SL, MacNeill SR, Rapley JW, Williams KB, Eick JD, Cobb CM. Subgingival microbiologic effects of one-time irradiation by CO2 laser: a pilot study. *J Periodontol*. 2007;78(12):2331-7.

Neill ME, Mellonig JT. Clinical efficacy of the Nd:YAG laser for combination periodontitis therapy. *Pract Periodontics Aesthet Dent*. 1997 Aug;9(6 Suppl):1-5.

Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol*. 1996 Nov;1(1):821-78.

Okamoto K, Nakayama K, Kadowaki T, Abe N, Ratnayake DB, Yamamoto K. Involvement of a lysine-specific cysteine proteinase in hemoglobin adsorption and heme accumulation by *Porphyromonas gingivalis*. *J Biol Chem*. 1998 Aug 14;273(33):21225-31.

Polimeni G, Xiropaidis AV, Wikesjoe UME. Biology and principles of periodontal wound healing/regeneration. *Periodontol 2000*. 2006;41:30-47.

Quirynen M, Teughels W, van Steenberghe D. Microbial shifts after subgingival debridement and formation of bacterial resistance when combined with local or systemic antimicrobials. *Oral Dis*. 2003;9 Suppl 1:30-7.

Renvert S, Wikstrom M, Dahlen G, Slots J, Egelberg J. Effect of root debridement on the elimination of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides gingivalis* from periodontal pockets. *J Clin Periodontol*. 1990 Jul;17(6):345-50.

Roman-Torres CVG, Aquino DR, Cortelli SC, et al. Prevalence and distribution of serotype-specific genotypes of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in chronic periodontitis Brazilian subjects. Arch Oral Biol. 2010;55(3):242-8.

Romanos GE, Henze M, Banihashemi S, Parsanejad HR, Winckler J, Nentwig GH. Removal of epithelium in periodontal pockets following diode (980nm) laser application in the animal model: an *in vitro* study. Photomed Laser Surg. 2004;22(3):177-83.

Rosling B, Hellstrom MK, Ramberg R, Socransky SS, Lindhe J. The use of PVP-iodine as an adjunct to non-surgical treatment of chronic periodontitis. J Clin Periodontol. 2001;28(11):1023-31.

Sbordone L, Ramaglia L, Gulletta E, Iacono V. Recolonization of the subgingival microflora after scaling and root planing in human periodontitis. J Periodontol. 1990;61(9):579-84.

Schwarz F, Aoki A, Becker J, Sculean A. Laser application in non-surgical periodontal therapy: a systematic review. J Clin Periodontol. 2008;35:29-44.

Schwarz F, Becker J, Sculean A, Berakdar M, Szathmari L, Georg T. *In vivo* and *in vitro* effects of an Er:YAG laser, a GaAlAs diode laser, and scaling and root planing on periodontally diseased root surfaces: a comparative histologic study. Laser Surg Med. 2003b;32(5):359-66.

Schwarz F, Sculean A, Berakdar M, Georg T, Reich E, Becker J. Periodontal treatment with an Er:YAG laser or scaling and root planing. A 2-year follow-up split-mouth study. J Periodontol. 2003a May;74(5):590-6.

Sekiguchi RT, Paixão CG, Saraiva L, Romito GA, Pannuti CM, Lotufo RFM. Incidence of tacrolimus-induced gingival overgrowth in the absence of calcium channel blockers: a short-term study. J Clin Periodontol. 2007 Jul;34(7):545-50.

Seymour RA, Rudralingham M. Oral and dental adverse drug reactions. Periodontol 2000. 2008;46:9-26.

Silness J, Loe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. Acta Odontol Scand. 1964 Feb;22:121-35.

Slots J. Detection of colonies of *Bacteroides gingivalis* by a rapid fluorescence assay for trypsin-like activity. *Oral Microbiol Immunol*. 1987 Sep;2(3):139-41.

Slots J, Reynolds HS. Long-wave UV light fluorescence for identification of black-pigmented *Bacteroides* spp. *J Clin Microbiol*. 1982 Dec;16(6):1148-51.

Smalley JW, Silver J, Birss AJ, Withnall R, Titler PJ. The haem pigment of the oral anaerobes *Prevotella nigrescens* and *Prevotella intermedia* is composed of iron(III) protoporphyrin IX in the monomeric form. *Microbiology*. 2003 Jul;149(Pt 7):1711-8.

Smalley JW, Silver J, Marsh PJ, Birss AJ. The periodontopathogen *Porphyromonas gingivalis* binds iron protoporphyrin IX in the mu-oxo dimeric form: an oxidative buffer and possible pathogenic mechanism. *Biochem J*. 1998;331:681-5.

Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontology* 2000. 2005;38:135-87.

Socransky SS, Smith C, Haffajee AD. Subgingival microbial profiles in refractory periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2002;29(3):260-8.

Soukos NS, Som S, Abernethy AD, et al. Phototargeting oral black-pigmented bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(4):1391-6.

Theilade E, Wright WH, Jensen SB, Loe H. Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *J Periodontal Res*. 1966;1:1-13.

Theodoro LH, Haypek P, Bachmann L, et al. Effect of Er:YAG and diode laser irradiation on the root surface: morphological and thermal analysis. *J Periodontol*. 2003;74(6):838-43.

Tonetti MS, Claffey N. Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research. Group C consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2005; 32 (Suppl. 6):210-3.

Trombelli L, Rizzi A, Simonelli A, Scapoli C, Carrieri A, Farina R. Age-related treatment response following non-surgical periodontal therapy. *J Clin Periodontol*. 2010;37:346-52.

Walker CB. The acquisition of antibiotic resistance in the periodontal microflora. *Periodontol 2000*. 1996 Feb;10:79-88.

Walker CB, Karpinia K, Baehni P. Chemotherapeutics: antibiotics and other antimicrobials. *Periodontol 2000*. 2004;36:146-65.

Wan CP, Leung WK, Wong MC, et al. Effects of smoking on healing response to non-surgical periodontal therapy: a multilevel modelling analysis. *J Clin Periodontol*. 2009 Mar;36(3):229-39.

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DE PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA

Desde que foi inventado, por Einstein em 1917, o laser tem sido utilizado há mais de uma década, nas diversas áreas da medicina e mais recentemente da odontologia. O laser de Diodo de alta potência foi aprovado nos Estados Unidos, em 1997, pela Food and Drug Administration (FDA) em periodontia para os procedimentos de “Laser Curettage”.

O Laser de Diodo de alta potência será utilizado como auxiliar aos procedimentos básicos (tratamento periodontal), pois este laser “*in vitro*” e em humanos demonstra uma eficácia na diminuição do número de bactérias da bolsa periodontal, como alguns trabalhos que estão sendo desenvolvidos e publicados evidenciam.

Os pacientes que participarão do nosso estudo responderão a um questionário de saúde, e passarão pelo seguinte protocolo:

- ✓ Termo de consentimento livre e esclarecido
- ✓ Exame clínico – serão colhidos alguns dados sobre o estado clínico periodontal dos dentes, através da sondagem que será feita com uma sonda periodontal, instrumento utilizado para medir a profundidade da bolsa periodontal. Dependendo do grau de inflamação dos tecidos gengivais poderá ocorrer uma mínima sensibilidade na região sondada que desaparecerá após a remoção da sonda.
- ✓ Exame radiográfico – serão feitas 14 radiografias periapicais, que geralmente não causam desconforto ao paciente. Em poucos casos, alguns pacientes relatam náuseas, enquanto o filme está em contato com algumas regiões da cavidade bucal. Entretanto, logo após a remoção do filme, que permanece menos de 20 segundos na região, esse desconforto desaparece.
- ✓ Diagnóstico – feito sem a presença do paciente, através dos dados obtidos com os exames realizados.
- ✓ Seleção dos dentes a serem usados no estudo - feito sem a presença do paciente através dos dados obtidos com os exames realizados. Os demais dentes não selecionados também receberão tratamento periodontal.
- ✓ Procedimentos básicos - que incluem **raspagem alisamento e polimento corono-radicular** (RAPCR) que será feito sob anestesia local, com uso de aparelho de ultrassom e curetas manuais, e instrução de **higiene bucal**.
- ✓ Exames complementares microbiológicos (cultura) – serão colhidas amostras de placa bacteriana subgengival por meio de cones de papel absorvente que serão introduzidos no sulco gengival. O exame é praticamente indolor, poucos pacientes relatam sensação de leve pressão na região.
- ✓ Aplicação do laser de diodo de alta potência – não necessita de anestesia pois a grande maioria os pacientes não relatam dor, alguns apresentam apenas uma leve sensação de ardência durante a aplicação do laser, que durará em torno de 20 segundos em cada aplicação, totalizando 2 sessões em todo o estudo.

- ✓ Controles Periódicos no decorrer do estudo – através de polimento e raspagem supra gengival com o aparelho de ultrassom (quando necessário), procedimento de rotina sem maiores desconfortos.
- ✓ Entrada no programa de Controle e Manutenção da Clínica de Pós-Graduação em Periodontia da Universidade de São Paulo

Os riscos ao paciente decorrente da aplicação do laser são mínimos e até menores que o tratamento periodontal convencional, e qualquer intercorrência que venha a acontecer, como dor, sensibilidade ou desconfortos gerados pelo tratamento, o paciente terá todo o amparo necessário entrando em contato com o Prof. Dr. Giorgio De Micheli, pelo telefone 3091-7904 – Clínica de Periodontia ou no 3722-1319/3721-0898 em seu consultório particular.

A identificação do paciente será preservada de forma que seu nome não constará nas publicações subsequentes à pesquisa, nem será citado em cursos, palestras ou aulas expositivas. O paciente não efetuará nenhum pagamento pela sua participação na pesquisa e receberá o benefício de um tratamento periodontal completo.

Também fica claro que o paciente terá o direito de desistir de participar da pesquisa a qualquer momento de forma a imperar o seu livre arbítrio.

Nome: _____

Data de nascimento.: _____

R.G.: _____ Data de expedição: _____

Endereço: _____

Cidade: _____

CEP: _____

Telefones: _____

Declaro estar de pleno acordo com os termos acima, e opto pela participação voluntária na pesquisa supracitada.

São Paulo,   de   de 200

ASSINATURA DO PACIENTE

APÊNDICE B - Anamnese

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
 Departamento de Estomatologia
 Disciplina de Periodontia

PACIENTE:.....R.G.....
 SEXO.....DATA DE NASCIMENTO...../...../.....ESTADO CIVIL.....
 NACIONALIDADE.....NATURALIDADE.....
 ENDEREÇO:Res.....CEP.....TEL.....
 Com.....CEP.....TEL.....
 PROFISSÃO:.....EXAMINADO POR:.....:

DECLARAÇÃO

Eu,.....R.G.....
 declaro para todos os fins legais, que prestarei esclarecimentos corretos sobre o meu estado de
 saúde, nada omitindo no questionário que se segue:

São Paulo, de de

CUIDADOS ESPECIAIS:

.....
 .....
 .....
 .....
 .....

SAÚDE GERAL

1. Está em tratamento médico? sim ( ) não ( )
2. Foi submetido a alguma cirurgia? sim ( ) não ( )
3. Teve alguma destas doenças:
  - Hepatites sim ( ) não ( )
  - Tuberculose sim ( ) não ( )
  - Ataque Cardíaco sim ( ) não ( )
  - Diabetes sim ( ) não ( )
  - Febre Reumática sim ( ) não ( )
4. Toma anticoagulante (AAS)? sim ( ) não ( )
5. É fumante? Sim ( ) não ( ) Quantos?.....
6. Pressão alta? sim ( ) não ( )
7. Sofre dos rins ou bexiga? sim ( ) não ( )
8. Tem com frequência algum tipo de hemorragia sim ( ) não ( )
9. Aparecem manchas roxas no corpo com frequência sim ( ) não ( )
10. Anemia? sim ( ) não ( )
11. Tem alguma alergia? sim ( ) não ( )
12. Alergia a quê? sim ( ) não ( )
13. Já recebeu transfusão de sangue? sim ( ) não ( )
14. Tem doença sexualmente transmissível (AIDS) sim ( ) não ( )
15. Tem tonturas? sim ( ) não ( )
16. Tem convulsões? sim ( ) não ( )
17. Menstruação normal? sim ( ) não ( )
18. Está grávida? sim ( ) não ( )
19. Toma anticoncepcional? sim ( ) não ( )
20. Está na menopausa? sim ( ) não ( )
21. Medicamento em uso: .....

PARTE ODONTOLÓGICA

1. Queixa do Paciente: .....
2. Já teve feridas nos lábios ou língua que demoraram para sarar? sim ( ) não ( )
3. Come muito doce? sim ( ) não ( ) Refrigerantes: sim ( ) não ( )
4. Tem hábito de ranger ou apertar os dentes? sim ( ) não ( )
5. Tem sangramento gengival? sim ( ) não ( )
6. Tem dor nas gengivas? sim ( ) não ( )
7. Tem dentes abalados? sim ( ) não ( )
8. Quantas vezes por dia escova os dentes? sim ( ) não ( )
9. Usa escova: dura ( ) média ( ) mole ( ) Pasta: .....
10. Utiliza fio ou fita dental? sim ( ) não ( )
11. Quantas vezes por dia? .....
12. Usa outros métodos de limpeza? sim ( ) não ( )
13. Quais? .....
14. Bochechos? Sim ( ) não ( ) Qual? .....
15. Já fez aplicação tópica de flúor? sim ( ) não ( )

APÊNDICE C - Periograma

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO – FACULDADE DE ODONTOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGIA
DISCIPLINAS DE PERIODONTIA

PACIENTE: _____ Nº: _____

IDADE: _____ SEXO: _____ RAÇA: _____ DATA DO EXAME: ____/____/____

FICHA INICIAL ( ) REAVALIAÇÃO ( ) FINAL ( )

UEC – MG
PCS – SS
NCI

VESTIBULAR

PALATINA

UEC – MG
PCS – SS
NCI

UEC – MG
PCS – SS
NCI

LINGUAL

VESTIBULAR

UEC – MG
PCS – SS
NCI

Índice de
Sangramento: ____%

PSR

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIAPARECER DE APROVAÇÃO
Protocolo 116/05

Com base em parecer de relator, o Comitê de Ética em Pesquisa, APROVOU o protocolo de pesquisa *"Avaliação dos parâmetros clínicos e microbiológicos após raspagem associada ou não ao uso do laser de diodo de alta intensidade (808nm $\pm$ 5nm) em bolsas periodontais de dentes unirradiculares"*, de responsabilidade da Pesquisadora **Vanessa Túbero Euzébio Alves**, sob orientação do Professor Doutor **Giorgio de Micheli**.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 03 de agosto de 2005

Prof. Dr. **Rogério Nogueira de Oliveira**
Coordenador do CEP-FOUSP

ANEXO B – Auxílio à Pesquisa FAPESP

FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO	
TERMO DE OUTORGA E ACEITACAO DE AUXÍLIO PROCESSO Nº 2005/56965-8	
O Conselho Técnico-Administrativo da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, doravante denominada OUTORGANTE, usando das atribuições que lhe confere o Artigo 14, letra "b", da lei Estadual no 5.918, de 18 de outubro de 1960, e de acordo com as especificações, cláusulas e condições descritas a seguir e nos Anexos, que são parte integrante deste Termo, concede:	
OUTORGADO GIORGIO DE MICHELI CPF: 635.218.228-34	
INSTITUIÇÃO 01 001 032 - FAC ODONTOLOGIA/USP	
LINHA DE FOMENTO AUXILIO PESQUISA - REGULAR	
PROJETO AVALIACAO DOS PARAMETROS CLINICOS E MICROBIOLOGICOS APOS RASPAGEM ASSOCIADA OU NAO AO USO DO LASER DE DIODO DE ALTA INTENSIDADE (808NM+/-5NM) EM BOLSAS PERIODONTAIS DE DENTES UNIRRADICULARES.	
ÁREA 04020000 - ODONTOLOGIA	PERÍODO 01/02/2006 a 31/01/2008
RELATÓRIOS CIENTÍFICOS ATÉ: 30/01/2007, 30/01/2008	PRESTAÇÃO DE CONTAS ATÉ: 30/01/2007, 30/01/2008
OBSERVAÇÕES - Qualquer alteracao na destinacao dos recursos concedidos, inclusive a utilizacao de saldos resultantes de diferenca entre os precos previstos no projeto e os precos efetivamente pagos, deve ser previamente autorizada pela Outorgante. - Material de consumo (se houver): Caso sejam adquiridos materiais que nao sejam manifestamente necessarios a realizacao deste projeto, a Outorgante podera impugnar as despesas correspondentes na prestacao de contas. - Imediatamente apos a apresentacao do relatorio cientifico estabelecido pela FAPESP como relatorio final, o saldo acaso existente sera automaticamente cancelado. - O Outorgado reconhece que o auxilio concedido, nos termos aqui descritos, viabilizam plenamente a execucao do projeto, salvo circunstancias imprevisiveis no ato da assinatura. Solicitacoes de qualquer alteracao de orcamento, exceto em casos emergenciais, poderao ser apresentadas por ocasio da apresentacao do(s) relatorio(s) cientifico(s). - Em se tratando de projetos da area de arqueologia, o Outorgado devera adequar-se ao que determina a Constituicao Federal e a Lei numero 3924/61, devendo contactar o IPHAN (www.iphan.gov.br). - A aquisicao de material radioativo, nacional ou importado, fica condicionada a entrega a FAPESP do comprovante de registro do Outorgado e da Instituicao na CNEN.	