UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

MÔNICA DANIELLE RIBEIRO BASTOS

**MONITORAMENTO DO PH E DOS NÍVEIS DE INSERÇÃO ÓSSEA ANTES E
APÓS TRATAMENTO COM SISTEMAS BIOADESIVOS POLIMÉRICOS PARA A
LIBERAÇÃO MODIFICADA DE METRONIDAZOL INTRABOLSA PERIODONTAL**

Ribeirão Preto

2015

MÔNICA DANIELLE RIBEIRO BASTOS

**MONITORAMENTO DO PH E DOS NÍVEIS DE INSERÇÃO ÓSSEA ANTES E APÓS
TRATAMENTO COM SISTEMAS BIOADESIVOS POLIMÉRICOS PARA A LIBERAÇÃO
MODIFICADA DE METRONIDAZOL INTRABOLSA PERIODONTAL**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração: Reabilitação Oral.

Versão corrigida

Orientador: Prof. Dr. Vinícius Pedrazzi

**Ribeirão Preto
2015**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO DO TEOR TOTAL OU PARCIAL
DESTE TRABALHO POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO,
PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca Central do Campus USP Ribeirão Preto

Bastos, Mônica Danielle Ribeiro

Monitoramento do pH e dos níveis de inserção óssea antes e após tratamento com sistemas bioadesivos poliméricos para a liberação modificada de metronidazol intrabolsa periodontal. Ribeirão Preto, 2015.

121p.: il.; 30cm + 1 CD-ROM

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP. Área de Concentração: Reabilitação Oral.

Versão corrigida da Dissertação. A versão original se encontra disponível na Unidade que aloja o Programa.

Orientador: Pedrazzi, Vinícius.

1. Periodontite Crônica.
2. Metronidazol.
3. pH.
4. Sistema de liberação de fármacos.
5. Nível clínico de inserção.

FOLHA DE APROVAÇÃO

MÔNICA DANIELLE RIBEIRO BASTOS. **MONITORAMENTO DO PH E DOS NÍVEIS DE INSERÇÃO ÓSSEA ANTES E APÓS TRATAMENTO COM SISTEMAS BIOADESIVOS POLIMÉRICOS PARA A LIBERAÇÃO MODIFICADA DE METRONIDAZOL INTRABOLSA PERIODONTAL.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Reabilitação Oral

Aprovada em: ____/____/____

Banca Examinadora:

1) Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

2) Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

3) Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

4) Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

Aos meus pais, que acreditaram na minha capacidade, me apoiaram, me incentivaram e sempre me conduziram pelo caminho da honestidade e respeito. Dedico esse trabalho como uma forma de agradecimento.

Muito obrigada, eu amo vocês.

Aos voluntários desta pesquisa, pessoas incríveis que se prontificaram para contribuir com a pesquisa em saúde. Pela confiança em meu trabalho e pela colaboração em benefício do bem comum.

Agradecimentos especiais

Meus sinceros agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Dr. Vinícius Pedrazzi, agradeço pela amizade, oportunidade, pela paciência e confiança. Espero que continue sendo um exemplo de professor, pessoa e amigo, que me ensinou a sempre ter fé. Aquele que por onde passa espalha sorrisos e consegue mostrar para o mundo como nossa profissão é linda.

Que Deus te ilumine.

Ao Prof. Dr. Osvaldo de Freitas, que com toda sua paciência, experiência de vida e acadêmica, soube nos conduzir e auxiliar de maneira tão prestativa, e especial nesses dois anos de convívio, sendo imprescindível para a concretização desta dissertação.

Aos meus irmãos e maiores amores da vida, Victor e Gabriela, por tantos momentos juntos, cheios de alegria e companheirismo.

Um agradecimento especial ao meu namorado, Augusto. Amigo, confiante, companheiro que esteve ao meu lado durante esses dois anos de pesquisa e soube me guiar e me aconselhar da melhor maneira possível, me transmitindo segurança e confiança, além de não medir esforços para me ajudar quando foi preciso. Amo você.

Muito Agradecida

Agradecimentos

À Deus, por ter me dado forças para superar mais um desafio ao longo dessa caminhada.

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, que me deu a oportunidade de realizar esse sonho. Esta que considero minha segunda casa e da qual tenho um imenso orgulho, por todo conhecimento adquirido durante todos estes anos, onde obtive minha formação como Cirurgiã-Dentista e pela oportunidade da realização do curso de Mestrado nas pessoas do Diretor, Prof. Dr. Valdemar Mallet da Rocha Barros e da Vice-Diretora, Profa. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva

Aos docentes do Departamento de Materiais Dentários e Prótese da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, nas pessoas da chefe de Departamento, Profa. Dra. Cláudia Helena Lovato da Silva e da Vice chefe, Profa. Dra. Valéria Oliveira Pagnano de Souza, pelo afável convívio e pela contribuição indispensável para minha formação como Mestre.

À Coordenadora do Programa de Pós-Graduação na área de Reabilitação Oral, Profa. Dra. Rossana Pereira de Almeida Antunes, pelo excelente trabalho realizado no curso, pelo apoio e incentivos constantes.

Às funcionárias do Departamento de Materiais Dentários e Prótese, Regiane de Cássia Tirado Damasceno e Fernanda Talita de Freitas e em especial a minha amiga e conselheira Ana Paula Xavier, pelos esclarecimentos constantes, pela paciência em me ajudar sempre que precisei.

A todos os funcionários do Departamento de Materiais Dentários e Prótese, e da FORP-USP, pela alegre convivência e pela boa vontade com que me ajudaram sempre que foi preciso.

À Izabel Cristina Galino Sola e à Mary Possani Carmessano secretárias da pós-graduação, eficientes e responsáveis durante a jornada de trabalho e pela disponibilidade em me atender sempre que necessário.

Ao professor Cássio do Nascimento, pela gentileza, paciência, disponibilidade e ajuda durante toda realização da pesquisa.

Ao professor Ricardo Faria Ribeiro, por me acolher durante a iniciação científica, sendo fundamental pelo início da minha vontade em seguir a carreira acadêmica.

À Ana Paula Macedo, pela disponibilidade e ajuda na elaboração dos resultados deste trabalho, com a análise estatística que possibilitou a interpretação dos resultados.

Às companheiras de Pós-Graduação Maria Paula Peixoto e Máira Peres Ferreira, do Departamento de Ciências Farmacêuticas a Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, pela gentileza com que me receberam, pelo companheirismo e pela dedicação conjunta que foram muito valiosas para a realização do trabalho.

Um agradecimento especial aos amigos Ana Carolina Roque, Bruna Tonin, Carolina Noronha, Glenda Lara, Jardel Mazzi, Maurício Badaró, Maurício Provinciatti e Raony Molin pelo companheirismo, amizade, generosidade, e, sobretudo, pelo exemplo de competência e de caráter, que os fazem tão admiráveis

Ao doutorando Paulo Linares Calefi e aluna de iniciação científica Lara Costa, por toda ajudam para a realização desta pesquisa.

À Profa. Dra. Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio e os alunos de pós-graduação Kahena Soldati e Gustavo Da Col, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, pela gentileza e disponibilidade.

À Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, do Ministério da Educação – MEC), pela bolsa de estudo fornecida, que me auxiliou em muito neste momento tão importante de minha vida.

Aos funcionários das recepções das clínicas Karina Dadalt Quaglio e Fernando Henrique Torrieri por toda ajudam com agendamentos dos pacientes e para o uso das clínicas.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram com a realização deste trabalho.

Muito Agradecida.

*“Se temos que esperar,
que seja para colher a semente boa
que lançamos hoje no solo da
vida.*

*Se for para semear,
então que seja para produzir
milhões de sorrisos...”*

*Cora
Coralina.*

Bastos, M.D.R. **Monitoramento do pH E dos Níveis de Inserção Óssea antes e após Tratamento com Sistemas Bioadesivos Poliméricos para a Liberação Modificada De Metronidazol Intrabolsa Periodontal**. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar clinicamente em humanos sistemas semissólidos (géis) e filmes contendo sal de metronidazol e conjugado de benzoato de metronidazol associados à raspagem e alisamento radicular (RAR), para o tratamento de periodontite. Foram avaliados o pH do fluido crevicular, os níveis clínicos de inserção óssea de suporte aos dentes envolvidos no tratamento periodontal, antes e após os tratamentos, além do perfil de liberação dos fármacos por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Participaram do estudo 45 pacientes da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP, de ambos os gêneros, os quais possuíam ao menos 2 dentes com periodontite crônica, compondo um total para o estudo de 96 dentes, divididos aleatoriamente em 3 grupos: grupo 1 – raspagem e alisamento radicular (RAR) – controle ativo; grupo 2 – RAR + filme com metronidazol; grupo 3 – RAR + gel de metronidazol. As concentrações de metronidazol e o tempo de liberação do fármaco no fluido crevicular gengival foram monitorados, avaliando-se ainda os efeitos dessas formulações com relação a parâmetros clínicos da periodontite. Os efeitos dos tratamentos foram avaliados pelo acompanhamento longitudinal de parâmetros clínicos (profundidade de sondagem, nível clínico de inserção e sangramento à sondagem). Os resultados da análise das concentrações de metronidazol e benzoato de metronidazol na bolsa periodontal dos pacientes foram considerados em avaliação paralela intragrupos e demonstraram que os fármacos do filme e do gel foram detectados em concentração efetiva até 48 horas após a aplicação *in situ*, porém não foi observada diferença significativa entre os grupos avaliados. Quanto aos valores de pH após o tratamento, eles variaram entre 6 e 8. No nível clínico de inserção houve diferença estatística significativa entre os três grupos avaliados, sendo que o grupo que recebeu apenas tratamento periodontal convencional apresentou os melhores valores. Houve redução progressiva do sangramento à sondagem nos tempos T15 e T30 nos três grupos considerados. No que se refere aos parâmetros clínicos, ambas as terapias (gel e filme) foram eficazes em promover a redução na profundidade à sondagem, ganho no nível clínico de inserção e apresentaram melhora na saúde periodontal considerando-se o menor sangramento após a sondagem que o grupo controle (RAR somente).

Palavras chave: Periodontite crônica, Metronidazol, pH, Sistema de liberação de fármacos, Nível clínico de inserção

Bastos, M.D.R. **Monitoring the pH and the attachment bone levels before and after treatment with bioadhesive polymeric systems with periodontal intrapocket modified release of metronidazol.** Dissertation (Master's Degree) – University of São Paulo, School of Dentistry of Ribeirão Preto, 2015.

ABSTRACT

The objective of this study was to clinically evaluate in humans semisolid (gels) and films systems containing metronidazole and metronidazole benzoate conjugate salts associated with scaling and root planing (SRP) for the treatment of chronic periodontitis. It was evaluated the pH of crevicular fluid and clinical bone attachment levels of the teeth involved in periodontal disease, before and after treatment, in addition to the release profile of drugs by high-performance liquid chromatography (HPLC). The study included 45 patients (both genders), from School of Dentistry of Ribeirão Preto, University of São Paulo, which had at least two teeth with chronic periodontitis, making a total for the study of 96 teeth which were randomly divided into 3 groups: Group 1 - scaling and root planing (SRP) - active control; Group 2 - RAR + film with metronidazole; Group 3 - SRP + gel with metronidazole. The metronidazole concentration and the drug release profile time in gingival crevicular fluid were monitored by evaluating the effects of such formulations, further with respect to clinical parameters of periodontitis. The effects of the treatments were evaluated for longitudinal monitoring of clinical parameters (probing depth, clinical attachment level and bleeding on probing). The results of the analysis of metronidazole and metronidazole benzoate concentrations in periodontal pockets of the patients were considered in an intragroup parallel evaluation and showed that the drug of the film and the gel were detected in effective concentration till 48 hours after in situ application, but there was no difference significant between the groups. As for pH values after treatment, they ranged from 6 to 8. In clinical attachment level it was no statistically significant difference among the three groups, and the group that received only conventional periodontal treatment showed the best values. There was a progressive reduction in bleeding on probing in T15 and T30 times in all the three groups considered. With regard to clinical parameters, both therapies have been effective in promoting reduction in probing depth and gain in clinical attachment level as the control group, and both therapies showed improvement in periodontal health considering minor bleeding after probing that the (SRP alone) control group.

Keywords: Chronic periodontitis, Metronidazole, pH, drug delivery system, Clinical attachment level

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

RAR - Raspagem e Alisamento Radicular

SRP - Scale and Root Planing

CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

HPLC - High performance liquid chromatography

PDT - Terapia fotodinâmica antimicrobiana

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

UV – Luz Ultravioleta

pH – Potencial Hidrogeniônico

PLA – Poliéster Poli DL-Lactídeo

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

FDA – “Food and Drug Administration”

PEG 400 – Polietilenoglicol 400

LPDF – Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento Farmacocinético

PS – Profundidade de Sondagem

NCI – Nível Clínico de Inserção

SS – Sangramento à Sondagem

USP – Universidade de São Paulo

FCFRP – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto

CAAE – Certificado de Apresentação para Apreciação Ética

TE – Tampão Tri-Acetato-EDTA

EDTA – Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético

µg – Micrograma **mL** – Mililitro

p – Nível de Significância

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Composição da dispersão para preparo do filme.....	60
Tabela 2.	Composição da formulação para preparo do sistema semissólido.....	61
Tabela 3.	Estatística descritiva dos dados de concentração de fármacos no fluido gengival, 48 horas após a aplicação da formulação.....	71
Tabela 4.	Resultados da Análise de Variância para o parâmetro clínico de pH.....	72
Tabela 5.	Variação do pH intrabolsa periodontal para cada tipo de tratamento.....	72
Tabela 6.	Resultados da Análise de Variância para o parâmetro clínico de profundidade de sondagem.....	74
Tabela 7.	Médias amostrais calculadas para o fator de variação: Tempo no parâmetro clínico de profundidade de sondagem.....	74
Tabela 8.	Resultados da avaliação quanto a presença de sangramento após sondagem periodontal.....	76
Tabela 9.	Resultados da Análise de Variância para o parâmetro clínico de nível clínico de inserção.....	79
Tabela 10.	Médias amostrais calculadas para o fator de variação: Grupo no parâmetro clínico de nível clínico de inserção.....	79
Tabela 11.	Resultados da avaliação dos parâmetros clínicos em relação aos tempos no grupo que recebeu apenas tratamento periodontal convencional (RAR).....	83
Tabela 12.	Resultados da avaliação dos parâmetros clínicos em relação aos tempos no grupo que recebeu tratamento periodontal convencional associado ao filme (RAR + Filme).....	83
Tabela 13.	Resultados da avaliação dos parâmetros clínicos em relação aos tempos no grupo que recebeu tratamento periodontal convencional associado ao gel (RAR + Gel).....	84
Tabela 14.	Resultados da Análise de Variância para o parâmetro clínico de profundidade de sondagem.....	84
Tabela 15.	Parâmetros clínicos de Profundidade de sondagem e n ível clínico de inserção no paciente 22.....	94

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	25
2. REVISTA DE LITERATURA.....	31
3. PROPOSIÇÃO.....	53
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	57
5. RESULTADOS.....	69
6. DISCUSSÃO.....	85
7. CONCLUSÃO.....	95
REFERÊNCIAS.....	99
APÊNDICES.....	109
ANEXOS.....	117

1. Introdução

1. INTRODUÇÃO

As doenças periodontais são reações inflamatórias localizadas, que afetam as estruturas de suporte dos dentes. Nos estágios iniciais da doença, há um acúmulo do biofilme placa dentária na região supragengival, estimulando a inflamação dos tecidos gengivais, conhecida como gengivite. À medida que a inflamação progride mais profundamente nos tecidos periodontais de suporte, um espaço, conhecido como bolsa periodontal, é formado entre as raízes dos dentes afetados e os tecidos moles. Nesse nicho protegido, um biofilme subgengival se organiza e a condição inflamatória passa então a se chamar periodontite, a qual pode culminar com a perda do elemento dental¹.

O tratamento convencional das periodontites consiste na remoção mecânica pelo Cirurgião-dentista, do biofilme e cálculo supra e subgengival por meio do procedimento de raspagem e alisamento radicular (RAR) com o objetivo depromover uma desinfecção local².

Em bolsas mais profundas, entretanto, existe uma maior dificuldade em se realizar a raspagem de maneira completa e eficiente³. Nesses casos, pode-se lançar mão de técnicas cirúrgicas para o tratamento dessas bolsas periodontais remanescentes, ou ainda de antimicrobianos, especialmente para debelar infecções periodontais mais severas.

Estudos microbiológicos demonstraram que a maioria das formas de periodontite é representada por infecções causadas pelo crescimento excessivo de um número determinado de bactérias anaeróbias Gram-negativas^{4, 5}.

Dessa forma, condutas terapêuticas que visem à erradicação ou pelo menos redução de patógenos específicos têm sido propostas como uma forma de se combater essas infecções. Essa terapêutica pode ser baseada na administração sistêmica ou local de agentes antimicrobianos.

O uso sistêmico de antibióticos traz consigo algumas preocupações. A administração prolongada aumenta o risco de problemas como desenvolvimento de resistência a antibióticos e surgimento de efeitos adversos, como náuseas, diarreia ou outros problemas gastrintestinais. Por esses motivos, o desenvolvimento de sistemas para a liberação local de fármacos em bolsas periodontais é uma área de pesquisa atraente, pois permite atingir concentrações mais altas do fármaco somente nos locais onde ele é mais necessário, minimizando os potenciais efeitos colaterais.

Um sistema de liberação local consiste em um reservatório contendo o fármaco e um elemento limitador que controla a taxa de liberação do antimicrobiano. Fibras, filmes, micropartículas ou formulações semi-sólidas (géis) preparados com polímeros biodegradáveis ou não têm sido os dispositivos propostos para a administração de agentes antimicrobianos nas terapias periodontais.

Dentre os agentes antimicrobianos propostos para o tratamento das periodontites, o metronidazol tem se mostrado particularmente adequado por causa do seu espectro de ação, restrito aos micro-organismos anaeróbios estritos, os quais estão entre os implicados nessas infecções periodontais, além de ter limitados efeitos colaterais quando comparados com as tetraciclínas, por exemplo, como seleção de bactérias multirresistentes ou perturbação da microbiota normal do organismo.

Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar in vivo (antes, durante e após o tratamento periodontal) a eficácia de sistemas semi-sólidos (géis) e filmes contendo metronidazol e benzoato de metronidazol como auxiliar no tratamento mecânico convencional (RAR) em pacientes com periodontite crônica por meio de parâmetros clínicos como: pH do fluido crevicular gengival, nível clínico de inserção, profundidade de sondagem e sangramento à sondagem.

2. Revista da Literatura

2. REVISTA DA LITERATURA

2.1. A Doença Periodontal: da etiologia ao tratamento convencional

A cárie e a doença periodontal são duas das doenças de maior incidência e prevalência em todo o mundo, sendo entendidas como “doenças universais”, consumindo bilhões de dólares anualmente com técnicas restauradoras e reabilitadoras orais. Entretanto, o que se observa cada vez mais é que todo tratamento curativo quando destituído de técnicas preventivas tem sido fadado ao insucesso e/ou sucesso apenas parcial⁶.

Os primórdios da existência humana já nos revelam que algum tipo de terapia sempre foi empregada para o alívio e/ou sanificação de doenças, decorrentes, mormente da quebra da homeostase, e a rota mais conveniente e empregada de administração desde que surgiram os primeiros fármacos até aqueles dos presentes dias tem sido a via oral⁷.

É sabido que uma grande quantidade de afecções que acometem o ser humano tem lugar na cavidade oral, ou pelo menos se inicia no sistema estomatognático. Este é complexo e engloba, dentre outras estruturas, os ossos, dentes, gengivas, glândulas, articulações, mucosas, vasos sanguíneos e linfáticos, músculos, etc⁷.

A infecção bacteriana pode ser considerada a causa primária da doença periodontal, a qual apresenta etiologia multifatorial. O acúmulo do biofilme bacteriano no sulco gengival estimula a liberação de várias toxinas, e na tentativa de impedir que os micro-organismos se disseminem e invadam os tecidos, o hospedeiro responde a esta infecção por meio de processos inflamatórios e

imunológicos, os quais podem levar à destruição tecidual, gerando perda de inserção gengival, com consequente mobilidade dental e em maior gravidade, a perda do elemento dental⁸. A doença periodontal pode ser classificada de acordo com o grau de inflamação envolvido, em gengivite e periodontite. A gengivite é a fase inicial da doença, decorrente das más condições de higiene oral, e que após o acúmulo de biofilme bacteriano, apresenta os sinais clínicos da inflamação como hiperemia, edema e sangramento gengival. Entretanto, apresenta quadro reversível frente ao tratamento que consiste na correta higienização bucal associada às terapias convencionais de tratamento periodontal^{9, 10}.

No entanto, quando não tratada, a inflamação pode ser exacerbada e atingir os periodontos de sustentação e de suporte, levando à reabsorção tecidual e óssea, desenvolvendo as chamadas bolsas periodontais. Nesses casos, a terapia periodontal torna-se mais complexa, e há a necessidade da associação de adjuvantes terapêuticos ao tratamento periodontal convencional^{9, 10}.

2.2. O uso de adjuvantes terapêuticos no tratamento das periodontites

O principal objetivo da terapia periodontal é a biocompatibilização da superfície radicular permitindo o restabelecimento da saúde do periodonto, por meio da eliminação do biofilme dental, tendo em vista que este constitui a principal causa da doença. Quando a terapia utilizada é eficaz em reduzir espécies bacterianas periodontopatogênicas, ocorre a redução da inflamação, a redução da profundidade de sondagem e a adesão epitelial, mantendo níveis de inserção clínica estáveis ao longo do tempo^{11, 12}.

O tratamento clássico das periodontites, considerado o padrão ouro, é a raspagem e alisamento radicular (RAR). É um mecanismo eficiente, e consiste na remoção mecânica do biofilme e cálculo subgengival, por meio de instrumentos manuais ou ultrassônicos, com consequentes benefícios em relação à composição da microbiota local e nos parâmetros clínicos periodontais¹³⁻¹⁵.

Entretanto, em alguns casos a RAR parece não ser capaz de devolver ou manter a saúde periodontal, devido à permanência de certos microrganismos patogênicos como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tanerella forsythensis* e *Prevotella intermedia*.

Sítios periodontais severamente comprometidos, com bolsas muito profundas e de difícil acesso à instrumentação manual, podem não apresentar uma resposta positiva ao tratamento convencional¹⁹.

A capacidade de alguns patógenos penetrarem nos tecidos periodontais e orais, podendo transformar estas áreas em reservatórios de micro-organismos, com consequente re-infecção do local tratado, foi relatada por alguns autores²⁰⁻²². Fatores sistêmicos modificadores da resposta do hospedeiro também podem estar relacionados ao insucesso do tratamento mecânico.

Sbordone (1990)²³ relatou que a recolonização de bolsas periodontais por determinadas bactérias periodontopatogênicas pode ocorrer 60 dias após a terapia mecânica. Desta forma, os benefícios obtidos com a raspagem e alisamento radicular podem ser instáveis a longo prazo²⁴.

Visando a saúde do periodonto, o debridamento periodontal repetido é requerido como forma de manutenção e suporte da terapia periodontal, reduzindo a quantidade de micro-organismos patogênicos nos sítios subgengivais. Entretanto, em sítios com menor profundidade de sondagem, a técnica de raspagem e

alisamento radicular pode traumatizar o periodonto e causar perda de inserção¹⁸. Diante destes fatos, a instituição de uma terapia coadjuvante no tratamento da doença periodontal pode ser necessária ou fundamental⁵.

A administração de agentes antimicrobianos tem sido empregada como um importante complemento do debridamento mecânico, uma vez que o uso sistêmico ou local de antibióticos pode eliminar ou diminuir patógenos periodontais específicos²⁵.

Estudos têm demonstrado que a terapia antibiótica isolada ou associada ao tratamento periodontal convencional promove melhora nos parâmetros clínicos, imunológicos e microbiológicos de diversas enfermidades periodontais^{15, 26}.

O uso sistêmico de antibióticos como coadjuvante da terapia convencional pode atingir concentrações na saliva e no fluido gengival de maneira a atingir patógenos periodontais nos sítios extracreviculares e também em áreas subgengivais não alcançadas pela instrumentação mecânica²⁷.

Entretanto, Johnson et al. (2008) observaram a presença de certas espécies periodontopatógenas junto às células epiteliais após a antibioticoterapia sistêmica com amoxicilina e metronidazol, confirmando a hipótese de recolonização de sítios periodontais por reservatórios bacterianos extracreviculares.

Mombelli & Samaranayake (2004)²⁶ relataram em um artigo de revisão que o uso dos antibióticos sistêmicos pode melhorar parâmetros clínicos e reduzir consideravelmente os micro-organismos de bolsas periodontais desde que estes fármacos sejam selecionados de acordo com a microbiota local.

Na tentativa de estabelecer uma terapêutica periodontal eficaz, muitos antibióticos foram testados. A tetraciclina foi o antimicrobiano mais avaliado dentro da literatura, seguido por seus derivados, a doxiciclina e a minociclina, e outros

fármacos como a amoxicilina, a azitromicina, o metronidazol e a associação deste com amoxicilina^{21, 28, 29}.

Nas últimas décadas, estudos que avaliam o uso do metronidazol como auxiliar da terapia periodontal básica têm sido intensificados em decorrência de seus efeitos benéficos^{11, 25, 28, 30, 31}.

De acordo com Löfmark, Edlund e Nord (2010)³², o metronidazol é a droga de escolha para infecções anaeróbias, especialmente por sua eficiência contra estes patógenos, baixas taxas de resistência microbiana e favoráveis farmacodinâmica e farmacocinética, além de apresentar poucos efeitos adversos e baixo custo. Por outro lado, quando utilizado em infecções onde não há evidência de microrganismos anaeróbios, sua ação é insignificante³³.

Quanto ao mecanismo de ação, o metronidazol é um quimioterápico que causa morte celular por interferir na síntese de DNA bacteriano. É bem absorvido quando utilizado por via oral, apresentando potencial para atravessar barreiras teciduais, e dessa forma atingir concentrações semelhantes no plasma, saliva e fluido gengival^{27, 34}. Sua metabolização ocorre principalmente no fígado, havendo formação de metabólitos como o ácido metabólico e o hidroximetabólito, sendo este último o mais importante clinicamente por sua atividade antimicrobiana.

Segundo LOECHE et al. (1991; 1993)^{28, 30} o uso do metronidazol sistêmico pode reduzir a necessidade de intervenção cirúrgica em alguns tipos de periodontite.

Em 2001, Feres et al.¹¹, comparando o efeito de antibióticos sistêmicos, observaram melhores resultados clínicos e microbiológicos com o uso do metronidazol em relação à amoxicilina. De acordo com os autores, o metronidazol foi capaz de reduzir as bactérias dos complexos vermelho e laranja. Por outro lado, espécies

consideradas benéficas como *Actinomyces*, *Streptococcus* e *Capnocytophaga* foram pouco afetadas por este composto.

Ao instituir uma antibioticoterapia por via sistêmica a um paciente com periodontite, podem ocorrer alguns efeitos adversos, tais como náuseas, vômitos, diarreias, dores abdominais, vertigem, dores de cabeça, gosto metálico ou mesmo manchamento dos dentes³⁵.

Além disso, o uso sistêmico requer, muitas vezes, a utilização de altas doses do agente antimicrobiano por um longo período de tempo para atingir concentrações adequadas no fluido gengival, possibilitando uma alteração da flora bacteriana e desenvolvimento de microrganismos resistentes. Segundo Tenenbaum et al., (1997)³⁶ alguns antibióticos necessitam de repetidas administrações para produzirem efeitos satisfatórios sobre determinadas bactérias, o que aumenta as chances de desenvolvimento de resistência bacteriana.

Em contraste com a terapia sistêmica de antibióticos, a administração de agentes antimicrobianos diretamente na bolsa periodontal, pode minimizar alguns efeitos colaterais indesejáveis. Quando associados a um sistema de liberação lenta, os antibióticos locais permitem a manutenção de concentrações efetivas de um agente terapêutico somente no local de aplicação por longos períodos. Como vantagem, os riscos dos efeitos adversos e o desenvolvimento de resistência bacteriana são reduzidos²⁶.

Nesse sentido, Kurtzman & Hughes (2015)³⁷ avaliaram a eficácia da liberação local de Arestin® (minociclina, OraPharma, Inc) e da instalação do Periochip® (gluconato de clorexidina, Dexcel Pharma Technologies) associadas à terapia periodontal convencional e ao uso de ultrassom e laser diodo. Concluíram que as terapias periodontais alternativas como o uso de ultrassom e laser diodo

foram eficazes tanto no tratamento como no prognóstico dos casos avaliados, com ganho no nível clínico de inserção bem como diminuição da profundidade de sondagem. Destaca-se ainda, o papel fundamental dos fármacos utilizados no tratamento, que foram capazes de diminuir o contingente microbiano.

Uma alternativa ao tratamento convencional periodontal que vem sendo amplamente estudada é o uso da terapia fotodinâmica antimicrobiana (PDT). A terapia fotodinâmica antimicrobiana (PDT) leva à destruição de patógenos por meio da ativação de um fotossensibilizador por uma fonte de luz visível^{38, 39}.

A terapia fotodinâmica antimicrobiana desencadeia uma série de processos fotoquímicos e biológicos que liberam produtos tóxicos danosos à célula-alvo, tornando-se assim um método complementar à terapia periodontal. Foi possível observar que a PDT é capaz de inativar o principal micro-organismo presente na doença periodontal (*Porphyromonas gingivalis*), e também quando associada ao tratamento periodontal convencional diminuiu drasticamente os níveis inflamatórios bem como a perda óssea, garantindo ganhos significativos no nível clínico de inserção³⁹⁻⁴¹.

Outro aspecto desejável diz respeito à capacidade de adesão desses sistemas de liberação lenta, característica que permite uma manutenção por maior tempo do dispositivo no sítio de ação. Foi demonstrado que alguns polímeros adesivos, tais como o Carbopol 934® e a hidroxipropil metilcelulose, são adequados para o uso em preparações destinadas à cavidade bucal⁷, devido à sua habilidade em aderir aos tecidos mucosos, nas condições locais, e liberar o princípio ativo.

A American Academy of Periodontology (2000)¹⁰ classifica os sistemas de liberação de fármaco intrabolsa periodontal de acordo com a duração da liberação do fármaco. São divididos em duas classes: dispositivos de liberação sustentada,

que promovem liberação por menos do que 24 horas e os sistemas de liberação controlada, que devem ter uma duração que exceda um dia.

2.3. Sistemas bioadesivos para liberação modificada de fármacos intrabolsa periodontal

O primeiro sistema de liberação de fármacos para o tratamento da periodontite foi proposto por Goodson et al., em 1979⁴². Tubos de diálise de acetato de celulose, com 250 µm de diâmetro, contendo tetraciclina, foram cortados em um comprimento apropriado e inseridos no interior das bolsas periodontais. Observou-se e que a liberação do fármaco ocorreu de forma rápida, cerca de 95% do total após 2 horas decorridas da aplicação. Apesar desse modelo não ter sido eficiente em manter a concentração terapêutica por um longo período de tempo, ele serviu de base para o desenvolvimento de outros sistemas de liberação⁴³.

Goodson et al., (1983)⁴⁴ avaliaram fibras compostas por outros polímeros (polietileno, polipropileno, policaprolactona, poliuretano, acetato-propionato de celulose e etileno vinil acetato) contendo tetraciclina, e concluíram que o sistema composto com as fibras de etileno vinil acetato proporcionou liberação prolongada por nove dias, sendo comercializada com o nome de Actisite® (Alza Corporation, Palo Alto, USA).

As desvantagens do uso das fibras é o tempo relativamente longo de inserção da fibra (7-10 minutos/dente), já que ela é acondicionada gentilmente e dobrada sobre si à medida que é inserida na bolsa até o completo preenchimento da cavidade⁴⁵. Nesse caso, há a necessidade de se utilizar adesivo de cianoacrilato para reter o sistema no interior da bolsa e, devido às fibras não serem

biodegradáveis, é necessária sua remoção ao término da terapia⁴⁶, o que compromete a adesão do paciente ao tratamento.

Outras duas formas de apresentação dos sistemas de liberação local que têm sido bastante utilizadas no tratamento da doença periodontal são os filmes e os sistemas semi-sólidos ou injetáveis. Os filmes têm como vantagens a possibilidade de controle da dimensão e forma, adequando-os à bolsa a ser tratada, além de serem rapidamente inseridos, com mínimo de desconforto ao paciente. Dependendo da espessura e da adesividade do material, os filmes podem permanecer submersos entre a gengiva e o dente, sem qualquer interferência nos hábitos alimentares e higiênicos do paciente⁴⁶.

Um dos primeiros estudos utilizando filme como sistema para liberação intra-bolsa foi descrito por Addy et al. (1982)⁴⁷, no qual foi utilizado como material filmógeno o metilmetacrilato, tendo como fármacos a tetraciclina, metronidazol e clorexidina. A partir de então, passaram a ser estudados vários polímeros de origem sintética e natural, biodegradáveis ou não. Vale ressaltar que os não biodegradáveis apresentam como inconveniente a necessidade de remoção após a liberação do fármaco.

Golomb et al., (1984)⁴⁵ desenvolveram um filme, de etilcelulose adicionado ou não de polietilenoglicol, contendo metronidazol a 10%, para inserção em bolsas periodontais e examinaram o perfil de liberação in vitro e in vivo. A liberação do fármaco foi avaliada por meio de um espectrofotômetro de luz ultravioleta (UV) e a atividade microbiológica foi baseada em um microrganismo indicador (*Bacteroides fragilis*). O estudo demonstrou que o filme de etilcelulose contendo metronidazol promoveu liberação prolongada do fármaco na bolsa periodontal por três dias.

Outro sistema de liberação filmógeno disponível no comércio é o Periochip[®] (Perio Products Ltda., Jerusalém, Israel), o qual apresenta como composição básica a gelatina hidrolisada e glicerina. Esse filme biodegradável possui um efeito *burst*, sendo observadas concentrações de 2007 µg/mL de clorexidina no fluido crevicular nas 2 primeiras horas após sua aplicação e concentrações de 1300 a 1900 µg/mL nas próximas 96 horas, seguido de liberação mais lenta nos outros dias⁴⁸. Esse sistema é capaz de proporcionar concentrações terapêuticas do fármaco na bolsa periodontal por uma semana quando considerado a CIM da clorexidina igual a 125 µg/mL⁴⁹.

Mais recentemente, o acetato de celulose sem qualquer associação a outro fármaco, mostrou maior eficiência em controlar a liberação de gluconato de clorexidina quando comparado ao Periochip[®]. Filmes contendo os anti-inflamatórios indometacina e meloxicam liberaram apenas 40% do fármaco em 5 dias, enquanto que o Periochip[®] liberou 96% em seis horas, nas mesmas condições experimentais⁵⁰.

A administração dos sistemas de liberação semi-sólidos no interior da bolsa periodontal é simples e com o mínimo de desconforto para o paciente no ato da inserção da forma farmacêutica. A natureza fluida da formulação possibilita seu espalhamento por todo o interior da bolsa. No entanto, para que fique retida dentro da bolsa e não seja lavada pelo fluido crevicular, a formulação deve possuir uma boa adesividade e/ou passar por mudança de fase, tornando-se mais rígida ou sólida no interior da bolsa.

Os sistemas semi-sólidos podem ser constituídos de géis simples ou emulsionados, contendo ou não microesferas. Algumas formulações na forma de gel foram disponibilizadas comercialmente, como: a) Periocline® (Sunstar Co. Ltd., Osaka, Japan), gel composto de hidroxietilcelulose, copolímero aminoalquilmetacrilato, triacetina, cloreto de magnésio e glicerina, contendo o fármaco minociclina a 2%. Sua utilização, combinada à raspagem e alisamento radicular, proporcionou resultados clínicos significativamente melhores quando comparados ao grupo controle⁵¹.

Gel similar comercializado com o nome de Dentomycin® (Lederle Laboratories, UK) apresentou vantagens como adjunto do tratamento não-cirúrgico em termos de melhora no nível de inserção gengival e sangramento à sondagem⁵², quando comparado ao Periocline®.

Needleman e Watts (1989)⁵³ testaram o uso de um gel de metronidazol a 1% em áreas de furca, após a terapia periodontal de manutenção. Dez pacientes com envolvimento de furca classe II ou III foram selecionados para o estudo. Mediu-se o sangramento à sondagem e o volume do fluido crevicular gengival. Além disso, avaliou-se o biofilme subgengival por meio de microscopia de campo escuro. Após a terapia de manutenção desses sítios, uma seringa foi usada para aplicar o gel de metronidazol (grupo experimental) ou um gel placebo (grupo controle) nas regiões de furca. Após os tempos de 1 e 3 meses, os sítios foram reexaminados, e concluiu-se que o grupo experimental não diferiu de maneira significativa do controle ($p < 0,05$).

Em 1992, foi desenvolvido um gel biodegradável à base de monooleato de glicerol e óleo de sésamo, contendo 25% de metronidazol e comercializado com o nome de Elyzol® (Dumex-Alpha, Copenhagen, Denmark). Entretanto, sua

eficácia é questionável, com autores advogando a favor⁵⁴ e outros demonstrando-o tão efetivo quanto a raspagem no tratamento da periodontite⁵⁴⁻⁵⁶.

Apesar disso, há autores que acreditam que o Elyzol[®] não traz nenhum benefício quando comparado à raspagem e aplainamento radicular⁵⁷, provavelmente por ser rapidamente lavado da bolsa periodontal.

YEWEY et al., (1997)⁵⁸ estudaram um outro sistema semi-sólido disponível no mercado, comercialmente chamado de AtridoxTM (Atrix Laboratories, Fort Collins, CO, USA). Trata-se de um gel à base de poliéster biodegradável (poli DL-lactídeo) (PLA), contendo 10% de hclato de doxiciclina. Tais pesquisadores observaram que quando administrado no interior da bolsa periodontal, o gel se solidificava, liberando o fármaco por um período de aproximadamente 7 dias. Além disso, POLSON et al., (1997)⁵⁹ relataram que o uso do Atridox[®] resultou na diminuição significativa da profundidade de sondagem, do nível de inserção e do sangramento à sondagem, podendo sua eficácia ser comparado às terapias mecânicas.

Awartani e Zulqarnain (1998)⁶⁰ compararam os efeitos da aplicação do gel de metronidazol a 25 % (Elyzol[®]) com a raspagem subgingival. Foram selecionados 13 pacientes, sendo que cada um recebeu simultaneamente, em quadrantes selecionados aleatoriamente, todos os tipos de tratamento: 1) aplicação do gel de metronidazol, 2) raspagem subgingival, 3) associação do tratamento mecânico com o gel e 4) nenhum tratamento nenhum (controle). Os resultados obtidos demonstraram que, para o tratamento da periodontite de grau moderada a severa em adultos, a raspagem subgingival isolada foi tão eficiente quanto a combinação da raspagem com a terapia antibiótica.

Kinane e Radvar (1999)⁶⁰ avaliaram a eficácia de três sistemas de liberação de antimicrobianos disponíveis para o tratamento da periodontite. Foram

selecionados 79 pacientes, divididos em quatro grupos: somente raspagem e alisamento radicular (20 pacientes); associados à aplicação de fibras de tetraciclina a 25 % (19 pacientes); a um gel de minociclina a 2 % (21 pacientes) ou a um gel de metronidazol a 25 % (19 pacientes). Medidas clínicas foram realizadas no início do trabalho, após 6 semanas, 3 e 6 meses da aplicação dos sistemas. Apesar dos três sistemas terem demonstrado algum benefício sobre a raspagem e alisamento radicular isoladamente, a colocação de fibras de tetraciclina simultaneamente ao tratamento mecânico mostrou a maior redução na profundidade de sondagem, após 6 meses de tratamento.

Griffiths et al., (2000)⁶¹ relataram os resultados de um trabalho realizado em dois centros de estudo, onde foram comparados os efeitos clínicos da raspagem subgengival à raspagem subgengival associada à aplicação do gel de metronidazol a 25% (Elyzol[®]), em pacientes com periodontite crônica. Foram selecionados 88 pacientes no total, nos quais todos os quadrantes receberam raspagem subgengival e alisamento radicular, sendo em cada paciente dois quadrantes selecionados aleatoriamente para receber a aplicação do gel. Os parâmetros clínicos avaliados foram a profundidade e sangramento à sondagem e o nível de inserção gengival, registrados ao início do tratamento e após 1, 3, 6 e 9 meses da terapia. Concluíram que a associação da raspagem subgengival ao gel de metronidazol foi superior ao tratamento convencional isolado, sendo essa superioridade mantida por 9 meses.

Salvi et al., (2002)⁶² compararam os efeitos clínicos e microbiológicos de três sistemas biodegradáveis de liberação sustentada para uso em bolsas periodontais, o Atridox[®] (polímero reabsorvível contendo doxiciclina), Elyzol[®] (gel de metronidazol) e PerioChip[®] (gluconato de clorexidina). Todos os sistemas avaliados demonstraram uma redução significativa na profundidade de sondagem, entretanto, o Atridox[®]

promoveu um ganho significativo no nível de inserção gengival quando comparado ao Elyzol®.

Jansson, Bratthall e Soderholm (2003)⁶³ avaliaram os resultados do tratamento de pacientes com periodontite recorrente quando tratados com um gel de metronidazol a 25%. Foram escolhidos 20 indivíduos de um programa de manutenção de periodontite, mas com doença periodontal recorrente. Após 3 meses de raspagem e alisamento radicular, 40 sítios foram selecionados, 2 em cada paciente, sendo um deles tratado com o gel de metronidazol (teste) e o outro com um gel placebo (controle). As medidas clínicas iniciais e nos retornos incluíram o índice de placa, índice gengival e de sangramento, profundidade de sondagem e nível de inserção gengival. O estudo demonstrou que o tratamento com o gel de metronidazol não influenciou na resposta cicatricial de pacientes com doença periodontal recorrente.

Paquette et al., (2003)⁶⁴ ao avaliarem um sistema de liberação intra-bolsa - Arestin® (OraPharma Inc., Warminster, PA, USA), composto por microesferas contendo minociclina, observaram que este fármaco quando associado à raspagem e alisamento radicular, demonstrou eficácia no tratamento dos casos de periodontite e peri-implantite⁶⁵.

Jansson et al., (2004)⁶⁶ reportaram um estudo onde 20 pacientes recebiam dois tipos de tratamento, ao mesmo tempo: enquanto uma bolsa periodontal recebia um gel de metronidazol a 25%, outro sítio selecionado aleatoriamente recebia um gel placebo. Foram comparados os efeitos do gel contendo metronidazol sobre a microbiota subgengival, através da identificação de três micro-organismos representativos nas periodontites: a *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella nigrescens* e *Actinomyces actinomycetemcomitans*. A técnica de identificação microbiológica foi

pela reação em cadeia da polimerase (PCR). Os resultados demonstraram que o gel contendo metronidazol não reduziu a ocorrência desses microrganismos específicos.

Perinetti et al. em 2004⁶⁷, compararam os efeitos clínicos e microbiológicos da administração subgengival de dois géis (gel de clorexidina a 1% e gel de metronidazol a 1%) em bolsas periodontais, após o tratamento mecânico (raspagem e alisamento radicular). Os indivíduos selecionados após receberem instruções de higiene oral foram submetidos ao tratamento mecânico. Decorridos 3 meses, foram divididos em três grupos de acordo com o fármaco administrado: GI - Gel de metronidazol a 1%; GII - Gel de clorexidina a 1% e GIII - Gel placebo. Os géis foram aplicados quatro vezes, com intervalos de 7 dias entre as aplicações. Os resultados demonstraram a eficácia no tratamento para ambos os géis, ao produzir benefícios tanto nos parâmetros clínicos quanto microbiológicos. Entretanto, vale ressaltar, que não se obteve a erradicação por completo dos patógenos periodontais.

Pavia et al., 2004³⁸ ao avaliarem o efeito local do metronidazol na profundidade e nível de inserção nos períodos de 4, 8, 12, 24 e 36 semanas observaram a eficácia do uso do metronidazol como coadjuvante do tratamento periodontal mecânico (raspagem e alisamento radicular) em adultos. Entretanto, os efeitos clínicos observados, bem como a difusão do antibiótico, permitem o uso do metronidazol como alternativa à terapia periodontal convencional.

Leiknes et al., (2007)⁶⁸ selecionaram 21 pacientes com periodontite crônica recorrente com presença de bolsa periodontal de 5 mm e sangramento à sondagem e avaliaram pelo menos duas superfícies dentárias contralaterais anatomicamente correspondentes em cada paciente. As superfícies dentárias a serem avaliadas foram divididas em dois grupos de acordo com o tratamento recebido - apenas raspagem e alisamento radicular e raspagem e alisamento radicular associado ao

uso de gel de metronidazol a 25%. Os resultados observados mostraram que o uso do gel de metronidazol a 25% como auxiliar na terapia periodontal convencional não apresentou efeitos clínicos significantes quando comparado à terapia periodontal convencional.

Kaner et al., (2007)⁶⁹ compararam a eficácia clínica de duas terapias periodontais - raspagem e alisamento radicular associado a um chip de clorexidina e raspagem e alisamento radicular associado à administração sistêmica de amoxicilina e metronidazol, em pacientes com periodontite agressiva generalizada. Os autores avaliaram o nível clínico de inserção, profundidade de sondagem, sangramento à sondagem e grau de supuração antes do tratamento, 3 e 6 meses após a terapia. Os resultados mostraram que o uso dos chips de clorexidina promoveu melhorias clínicas, entretanto não foram mantidas ao longo de todo período avaliado. Por outro lado, a terapia periodontal convencional associada ao uso sistêmico de amoxicilina e metronidazol mostrou-se mais eficaz na redução da periodontite, além de contribuir para o ganho de inserção clínica bem como na redução das taxas de indicação de cirurgia periodontal.

Barat et al., (2007)⁷⁰ avaliaram in vitro as propriedades físicas e as características de liberação de fármacos de pastilhas de quitosana biodegradáveis contendo metronidazol no tratamento local da doença periodontal a longo prazo. As pastilhas exibiram características físicas satisfatórias e permitiram uma liberação brusca do fármaco nas primeiras 24 horas, seguida de liberação prolongada por 6 dias. Dessa forma, os resultados obtidos são encorajadores e precisam de uma avaliação mais criteriosa do uso destas pastilhas em pacientes com periodontite.

Singh, Roy, Chumber (2009)⁷¹ compararam dois sistemas de administração local de drogas (tetraciclina e metronidazol) associada à terapia periodontal

mecânica (raspagem e alisamento radicular) na avaliação de parâmetros clínicos como profundidade de sondagem, nível clínico de inserção, índices gengival, de placa e de sangramento antes da administração, 1 e 3 meses após o tratamento. De acordo com este estudo, ambas as terapias antibióticas locais resultaram na melhoria dos parâmetros clínicos avaliados bem como na redução dos aspectos microbiológicos quando comparados à terapia periodontal mecânica isolada.

Kumari, Pathak, (2012)⁷² avaliaram a capacidade termorreversível do sol periodontal bem como sua geleificação in situ e parâmetros farmacotécnicos como pH, espalhabilidade, viscosidade, liberação in vitro, estabilidade e palatabilidade, após a administração injetável de benzoato de metronidazol e serratiopeptidase. O Sol desenvolvido apresentou condições farmacotécnicas satisfatórias em relação aos parâmetros avaliados. Além disso, a incorporação da serratiopeptidase como agente anti-inflamatório, permitiu o desenvolvimento de um sistema terapêutico eficaz no tratamento de infecções periodontais anaeróbias.

Goodson et al., (2012)⁷³ compararam o efeito de três terapias periodontais associadas à raspagem e alisamento radicular (administração sistêmica de amoxicilina e metronidazol, administração local de tetraciclina e cirurgia periodontal) no nível clínico de inserção e na profundidade de sondagem. Observou-se que pacientes que receberam essas terapias auxiliares exibiram melhoria no ganho de nível clínico de inserção e redução na profundidade de sondagem quando comparado com os efeitos da raspagem e alisamento radicular isolada. Além disso, foi possível observar que o tabagismo reduziu significativamente o ganho de nível clínico de inserção bem como o aumento da profundidade de sondagem.

Matesanz et al., (2013)⁷⁴ realizaram uma revisão sistemática sobre os efeitos de antimicrobianos locais como coadjuvantes no desbridamento subgingival

no tratamento de periodontite crônica. O efeito da aplicação subgengival dos agentes antimicrobianos promoveu mudanças positivas e significativas na profundidade de sondagem e no nível clínico de inserção. A evidência científica comprova a eficácia da associação de agentes antimicrobianos locais ao debridamento em sítios periodontais profundos ou recorrentes, principalmente quando se utiliza veículos que permitem a manutenção da liberação do antimicrobiano.

Da Silva et al., (2015)⁷⁵ avaliaram a capacidade de liberação e absorção de metronidazol através de membranas de poli (3-hidroxibutirato). Os resultados revelaram que o metronidazol foi absorvido e liberado com sucesso pelas membranas. A quantidade de metronidazol liberada foi capaz de manter a concentração inibitória mínima de *Porphyromonas gingivalis* inibindo a sua proliferação. Os resultados apresentados sugerem que este sistema possa ser usado no tratamento a longo prazo da doença periodontal.

Paul et al., (2015)⁷⁶ avaliaram a eficácia de um dispositivo de colágeno contendo gel de metronidazol a 5% associado ou não à terapia periodontal mecânica (raspagem e alisamento radicular) no índice de placa, índice gengival, índice de sangramento no sulco e profundidade de sondagem em pacientes com periodontite crônica. A partir deste estudo, pode-se concluir que a associação do gel de metronidazol a 5% com a terapia periodontal mecânica foi mais eficaz no tratamento da periodontite crônica.

Bergamaschi et al., (2015)⁷⁷ avaliaram o efeito do metronidazol em duas formulações (administração local com gel a 15% e administração sistêmica com comprimido de 750mg) como terapia coadjuvante à raspagem periodontal com uso de ultrassom em pacientes fumantes portadores de periodontite crônica. Os

resultados desse trabalho mostraram que o uso do metronidazol, independente da forma de administração, permitiu melhora nos parâmetros clínicos e microbiológicos avaliados por até 6 meses após o tratamento da periodontite crônica em pacientes fumantes.

3. Proposição

3. PROPOSIÇÃO

O objetivo geral deste estudo foi avaliação *in vivo* de sistemas semissólidos (géis) e filmes contendo sal de metronidazol e conjugado de benzoato de metronidazol para o tratamento da periodontite crônica em humanos.

Como objetivos específicos buscou-se:

- 1)** Avaliação das formulações (filme e gel), monitor ando-se o pH do fluido crevicular gengival antes e após o tratamento periodontal e inserção dos sistemas bioadesivos contendo metronidazol;
- 2)** Estudar o perfil de liberação dos fármacos contidos nas formulações estudadas, gel e filme, e determinando o tempo máximo de detecção no fluido crevicular gengival;
- 3)** Avaliação clínica dos níveis de inserção óssea de suporte aos dentes envolvidos no tratamento periodontal, antes e após os tratamentos, por meio de radiografias periapicais em sistema digital.

4. Material e Métodos

4. MATERIAL E MÉTODOS

Preparo dos filmes e géis contendo metronidazol

Para formulação do filme foi utilizada a zeína, uma proteína hidrofóbica considerada como um sub-produto da cadeia de produção do milho, que apresenta boa biocompatibilidade/biodegradabilidade. Sua baixa solubilidade em água favorece com que o sistema possua uma boa duração em contato com fluidos biológicos e dessa forma possa atuar como um sistema de liberação prolongada. No caso do sistema semissólido utilizou-se o monolinoleato de glicerila, composto por uma mistura de glicerídeos derivados do ácido linoleico. Devido ao seu caráter anfifílico, na presença de água se organiza em estruturas capazes de modular a liberação de substâncias incorporadas na formulação. Ambos os materiais são considerados seguros para uso pelo FDA (classificação “GRAS”, Food and Drug Administration).

Sistema filmógeno

O filme polimérico contendo zeína, polietilenoglicol 400 (PEG 400) como plastificante e os fármacos metronidazol e benzoato de metronidazol foram preparados pela técnica de *casting*/evaporação do solvente. Uma dispersão de zeína em solução hidroetanólica (9:1) foi mantida sob agitação magnética a 400 rpm por 3 horas e na sequência adicionada de PEG 400 e mantida sob agitação por 30 min. Os fármacos foram incorporados à dispersão e mantidos em agitação por 30 min adicionais. Cerca de 80 g de dispersão polimérica foi depositada em placa de

poliestireno (12 x 12 cm) e submetida à secagem em câmara climática a 50 °C e 50% de umidade relativa por 16 horas. Na Tabela 1 está descrita a composição da dispersão para o preparo do filme. Após a secagem, a concentração de fármaco no filme é de 4,5% de metronidazol e 9,0% de benzoato de metronidazol. Na Figura 1 é apresentada a formulação filmógena.

Tabela 1. Composição da dispersão para preparo do filme.

Componente	Concentração (%)
Zeína	6,0
Plastificante	1,2
Metronidazol	0,375
Benzoato de metronidazol	0,750
Etanol 90%	qsp 100

Sistema semissólido

Para preparo das formulações, o monolinoleato de glicerila (Myverol[®] 18-92K) foi aquecido em banho-maria termostatizado à temperatura de 40/45 °C juntamente com o tensoativo. Depois de homogeneizado manualmente com auxílio de um bastão de vidro, os fármacos foram incorporados sob agitação. A última etapa foi a de incorporação da água destilada, na mesma temperatura da formulação. A mistura foi mantida em repouso por 24 horas (25 °C ± 1) antes de qualquer manipulação. Na Tabela 2 é apresentada a formulação semissólida.

Tabela 2. Composição da formulação para preparo do sistema semissólido

Componente	Concentração (%)
Myverol [®] 18-92k	56,57
Tensoativo lipofílico	2,33
Metronidazol	5,00
Benzoato de metronidazol	16,10
Água	20,00

Os complexos biodegradáveis foram desenvolvidos no Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento Farmacotécnico (LPDF) da FCFRP-USP, com suporte financeiro da **FAPESP (processo nº 01/12377-4)**.

Os fármacos incorporados foram o metronidazol e o benzoato de metronidazol, antimicrobianos com ação sobre micro-organismos anaeróbios, predominantes nas periodontites, em concentração dentro do intervalo de 1 a 40%, que é a faixa relatada na literatura para dispositivos de liberação local para tratamento da periodontite e que demonstrou segurança e eficácia quanto ao seu uso^{11, 25, 26, 28, 30-33, 63, 67, 77}.

Figura 1. Apresentação final do filme. **Figura 2.** Apresentação final do gel.

Avaliação *in vivo* das formulações

Foi realizado um estudo clínico randomizado para testar a hipótese de que o uso associado do sistema de liberação local (filme ou gel) à raspagem e alisamento

radicular (RAR) é superior à terapia RAR isolada. O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da USP, sob número **CAAE nº: 2011.1.907.58.0** – Anexo 1.

Foram selecionados 45 pacientes da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP, de ambos os sexos, os quais apresentaram ao menos 2 dentes com periodontite crônica, compondo um total para o estudo de 96 dentes, divididos aleatoriamente (por meio de programa de computador) em 3 grupos, a saber:

- Grupo 1 – raspagem e alisamento radicular (RAR) – controle ativo;
- Grupo 2 – RAR + filme com metronidazol;
- Grupo 3 – RAR + gel de metronidazol.

Os critérios de **inclusão** no estudo foram:

- Pacientes com periodontite crônica, com nível de inserção clínica igual ou maior que 5mm em dois ou mais dentes e profundidade de sondagem igual ou maior que 5mm em um ou mais sítios periodontais;
- Faixa etária de 35 a 70 anos;
- Não ter feito uso de antibióticos há pelo menos 3 meses;
- Ausência de histórico de alergia aos componentes presentes nas formulações testadas.

Os critérios de **exclusão** no estudo foram:

- Doença cardiovascular grave;

- Problemas relacionados à farmacocinética, como nefropatias, hepatopatias, etc.

A avaliação clínica envolveu o monitoramento das concentrações do metronidazol (sal e benzoato de metronidazol), liberado no fluido crevicular gengival, a partir das formulações desenvolvidas e dos efeitos dos tratamentos nos pacientes com periodontite, com base em indicadores clínicos e microbiológicos associados às periodontites. Em cada paciente selecionado para o estudo, apenas uma bolsa periodontal (a de maior profundidade ou, no caso de várias bolsas com profundidade igual, uma escolhida aleatoriamente entre as mais profundas) recebeu um dos três tratamentos previamente determinados e todos os sítios foram recobertos com cimento cirúrgico.

4.1 Quantificação de fármaco presente no fluido crevicular gengival

As formulações foram introduzidas nas bolsas periodontais com o auxílio de pinça clínica para o filme (Figura 3) ou por meio de seringa com agulha de ponta romba para o gel (Figura 4).

Figura 3. Aplicação *in situ* do filme.

Figura 4. Aplicação *in situ* do gel.

O fluido crevicular gengival dos sítios nos quais foram feitas as aplicações foi colhido com tiras de papel absorvente do tipo Periopaper® (Figura 5) e o volume em cada tira de papel foi quantificado por meio do aparelho Periotron® 8000 (Oraflow Inc., Plainview, USA) adquirido pela FORP-USP, com financiamento da **FAPESP processo n. 04/09545-0** (Figura 6) para posterior determinação da concentração do fármaco presente em cada sítio amostrado. Os biofilmes dos sítios selecionados foram colhidos com o auxílio de curetas e armazenados em microtubos tipo *Eppendorf* (Figura 7).

Figura 5. Periapaper®

Figura 6. Periotron® 8000.

Figura 7. Microtubos tipo Eppendorf.

As amostras de fluido gengival, colhidas em intervalos de tempo determinados em função dos resultados obtidos nas avaliações *in vitro* do perfil de liberação do fármaco (estudo *in vitro* faz parte do Projeto Temático do qual este projeto é uma parte), foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para a quantificação de metronidazol presente nas bolsas periodontais, de acordo com Sato et al. (2006).

4.2 Avaliação *in vivo* do pH intrabolsa periodontal

Para esse parâmetro as amostras foram colhidas com tiras indicadoras de pH e colocadas em tubos *Eppendorf* com uma solução tampão TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 7,6), onde foram inseridos os indicadores de pH (Figuras 8 e 9).

Figura 8. Microtubos tipo Eppendorf.

Figura 09. Fitas indicadoras de pH.

4.3 Avaliação dos parâmetros clínicos indicadores de periodontite

Os parâmetros clínicos foram avaliados nas bolsas periodontais selecionadas para o estudo com o uso do sistema de sondagem periodontal **Florida Probe®** (Figuras 9 a 12) nos tempos:

T0 = inicial;

T2 = após 48 horas da aplicação e **T5** = após 96 horas da aplicação;

T7 = após 7 dias da aplicação;

T15 = após 15 dias da aplicação,

T30 = após 30 dias da aplicação;

T60 = após 60 dias da aplicação e

T90 = após 90 dias.

Aqui cumpre uma observação clínica. Os tempos **T2** e **T5** foram tomados somente para os grupos do Filme e do Gel, com a finalidade de mensurar a quantidade de metronidazol na forma pura e na forma de conjugado de benzoato de metronidazol que havia sido liberada na bolsa periodontal até então. Por motivo

óbvio, não foi realizado para o grupo controle por não haver medicamento a ser quantificado nesse grupo.

Os parâmetros estudados foram:

- **Profundidade de Sondagem (PS):** representada pela medida da margem gengival livre até a porção mais apical do sulco gengival;
- **Nível clínico de inserção (NCI):** registrado como a distância que vai da junção amelocementária à porção mais apical do sulco gengival ou bolsa periodontal;
- **Sangramento à Sondagem (SS):** registrado como a presença ou ausência de sangramento no sítio examinado que ocorrer até 15 segundos após a sondagem.

Figura 9. Sonda Florida Probe®

Figura 10. Sistema Florida Probe®

Figura 11. Quadro Periodontal do Florida Probe®

Figura 12. Legenda do Florida Probe®

Os resultados dos parâmetros clínicos e análise de liberação de fármacos foram avaliados por meio de comparações das médias dos grupos populacionais. Os dados dos grupos foram avaliados em modelo linear de efeitos mistos (efeitos aleatórios e fixos), que é utilizado na análise de dados onde as respostas de um mesmo paciente estão agrupadas e a suposição de independência entre as observações no mesmo grupo não é adequada, com intervalo de confiança de 95%, $p = 0,05$, utilizando o programa IBM SPSS Statistics 20 (IBM Corporation, Amonk, NY, EUA).

5. Resultados

5. RESULTADOS

5.1 Quantificação de fármaco no fluido gengival

A concentração do fármaco após a aplicação do filme foi avaliada em 18 dentes, tendo sido possível quantificar o fármaco a pós 2 dias em **94,4%** das amostras. A concentração encontrada foi de **49,03%**, estimando-se que o volume de fluido coletado pelo *periopaper* foi de 1 μ L.

No caso do gel, foram avaliados 11 dentes e quantificado o fármaco em **54,5%** deles. A concentração encontrada foi de **21,77%**.

Na Tabela 3 são apresentados os valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo dos dados de concentração de fármaco no filme e gel, dois dias após a aplicação.

Tabela 3. Estatística descritiva dos dados de concentração de fármacos no fluido gengival, 48 horas após a aplicação da formulação.

Formulação	Filme	Gel
Média de concentração		
(ug/mL)	49,03	21,77
Desvio padrão	69,87	17,49
Mediana	21,84	14,64
Mínimo	3,95	5,74
Máximo	244,69	57,43

Não houve diferença significativa entre as médias avaliadas pelo teste t ($p=0,1306$)

5.2 Avaliação do pH intrabolsa periodontal

A análise de variância de medidas repetidas, realizada para comparar os grupos e os tempos não detectou diferença entre os tratamentos da RAR, RAR + filme e da RAR + gel ($F=0,396$, $p=0,675$; $F=0,384$, $p=0,860$, respectivamente -

nível de significância com ajuste de Bonferroni). O resultado da interação Grupo x Tempo não foi significativo ($F=0,542$, $p=0,860$), conforme Tabela 4 e Figuras 13 a 15.

Tabela 4. Resultados da Análise de Variância para o parâmetro clínico de pH.

Fonte de Variação	Soma de Quadrados	Médios	Graus de Liberdade	Quadrados Médios	Valor de F	Valor de P
Tempo	25,16		5	5,03	0,38	0,86
Resíduo 1	774,57		57	13,59	-	-
Grupo	10,76		2	5,38	0,40	0,67
Tempo * Grupo	71,06		10	7,11	0,54	0,86
Resíduo 2	3736,34		285	13,11	-	-
Variação total	4617,89		359	44,22	1,32	2,39

Os valores de pH intrabolsa para os pacientes com doença periodontal ativa após o tratamento variaram entre 6 (3,67%), 7 e 8 (96,33%), conforme Tabela 5.

Tabela 5. Variação do pH intrabolsa periodontal para cada tipo de tratamento no total de avaliações.

Tratamentos	Número de dentes avaliados quanto ao pH		
	pH 6	pH 7	pH 8
RAR	3	35	33
GEL	6	69	84
FILME	8	105	120
Total	17	209	237

Figura 13. Valores de pH de acordo com o tempo nos pacientes que receberam apenas tratamento periodontal convencional (RAR).

Figura 14. Valores de pH de acordo com o tempo nos pacientes que receberam tratamento periodontal convencional associado ao filme (RAR + Filme).

Figura 15. Valores de pH de acordo com o tempo nos pacientes que receberam tratamento periodontal convencional associado ao gel (RAR + gel).

5.3 Avaliação da profundidade de sondagem

O resultado da análise de variância de medidas repetidas, revelou que não houve diferença significativa entre os grupos ($F=1,194$; $p=0,311$) conforme Tabela 6, ao contrário do que aconteceu entre os tempos de avaliação ($F=63,49$; $p=0,000$) - nível de significância com ajuste de Bonferroni). O resultado da interação Grupo x Tempo não foi significativa ($F=1,73$, $p=0,075$) conforme Tabela 7).

Tabela 6. Resultados da Análise de Variância para o parâmetro clínico de profundidade de sondagem.

Fonte de Variação	Soma de Quadrados Médios	Graus de Liberdade	Quadrados Médios	Valor de F	Valor de P
Tempo	272,54	5	54,51	63,49	0,00
Resíduo 1	238,06	56	4,25	-	-
Grupo	10,15	2	5,07	1,19	0,31
Tempo * Grupo	14,81	10	1,48	1,72	0,75
Resíduo 2	240,39	280	0,86	-	-
Variação total	775,93	353	66,17	66,41	1,06

Tabela 7. Médias amostrais calculadas para o fator de variação: Tempo no parâmetro clínico de profundidade de sondagem.

Tempo	Média	Erro padrão	Intervalo de confiança (95%)	
			Mínimo	Máximo
T0	5,66 ^a	0,16	5,33	5,98
T7	3,64 ^b	0,18	3,29	4,00
T15	4,03 ^b	0,23	3,57	4,50
T30	2,75 ^c	0,17	2,42	3,09
T60	2,75 ^c	0,16	2,43	3,06
T90	2,98 ^c	0,18	2,62	3,34

Letras minúsculas significam diferença estatística entre linhas ($p<0,05$).

Os pacientes que receberam a RAR + filme, apresentaram uma redução progressiva na profundidade de sondagem durante os tempos de avaliação e se manteve até 90 dias após o tratamento. Para o grupo RAR + gel a redução média da

profundidade de sondagem também ocorreu de maneira progressiva, porém em 60 dias houve um aumento e após 90 dias reduziu novamente. Em relação ao grupo controle (RAR), pode ser observado na análise das médias uma diferença de profundidade de sondagem de aproximadamente 1 mm a mais, quando comparado com os grupos que receberam filme ou gel, 7 dias após o tratamento (Figuras 16-18).

Figura 16. Valores de profundidade de sondagem de acordo com o tempo nos pacientes que receberam tratamento periodontal convencional (RAR).

Figura 17. Valores de profundidade de sondagem de acordo com o tempo nos pacientes que receberam tratamento periodontal convencional associado ao filme (RAR + Filme).

Figura 18. Valores de profundidade de sondagem de acordo com o tempo nos pacientes que receberam tratamento periodontal convencional associado ao gel (RAR + Gel).

Os pacientes de todos os grupos foram avaliados quanto ao sangramento após a sondagem, realizada sempre com pressão controlada pela sonda computadorizada. Os resultados são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Resultados da avaliação quanto a presença de sangramento após sondagem periodontal.

Tempo	Filme	Gel	RAR (controle)
T0	33/41	28/32	12/14
48 horas	3/18	7/11	----
96 horas	3/18	3/11	----
T7	12/41	14/32	6/14
T15	7/39	11/28	6/12
T30	8/39	4/32	7/12
T60	6/33	2/22	4/11
T90	6/32	3/21	4/10
Total de Sítios	41	32	14

De acordo com os resultados obtidos, foi possível observar que nos tempos T15 e T30 houve diferença estatística significativa entre os três grupos avaliados ($p \leq 0,05$), porém o programa estatístico não conseguiu distinguir entre quais grupos. Os

gupos experimentais, após 7 dias, tiveram uma diferença significativa no sangramento à sondagem e nos tempos T60 e T90 os valores retornaram aos índices normais.

Os dados de sangramento à sondagem foram organizados em tabela de contingência e as variáveis categóricas foram analisadas pelo teste Chi- quadrado de Pearson. Diferença significativa presente nos valores de 15 dias ($p=0,048$) e 30 dias ($p=0,006$).

Os pacientes que receberam gel e filme apresentaram uma reversão nos quadros em que havia presença de sangramento à sondagem. No caso do filme pode ser observada a ausência de sangramento pós-sondagem logo na primeira semana, enquanto que no gel ocorreu após 30 dias (Figuras 19-21).

Figura 19. Valores de sangramento à sondagem de acordo com o tempo nos pacientes que receberam tratamento periodontal convencional (RAR).

Figura 20. Valores de sangramento à sondagem de acordo com o tempo nos pacientes que receberam tratamento periodontal convencional associado ao filme (RAR + Filme).

Figura 21. Valores de sangramento à sondagem de acordo com o tempo nos pacientes que receberam tratamento periodontal convencional associado ao gel (RAR + Gel).

5.4 Nível clínico de inserção

A análise de variância de medidas repetidas, realizada para comparar os grupos detectou diferença entre os tratamentos da RAR, RAR + filme e da RAR + gel de metronidazol ($F=7,708$, $p=0,001$), conforme a Tabela 9.

Tabela 9. Resultados da Análise de Variância para o parâmetro clínico de nível clínico de inserção.

Fonte de Variação	Soma de Quadrados Médios	Graus de Liberdade	Quadrados Médios	Valor de F	Valor de P
Tempo	1,45	5	0,29	0,30	0,91
Resíduo 1	359,53	58	6,20	-	-
Grupo	95,56	2	47,80	7,71	0,001
Tempo * Grupo	15,26	10	1,53	1,58	0,11
Resíduo 2	280,80	290	0,97	-	-
Variação Total	752,60	563	56,76	9,58	1,03

Entretanto, não foi observada diferença significativa em relação aos tempos de avaliação ($F=0,299$, $p=0,913$ – nível de significância com ajuste de Bonferroni). O resultado da interação Grupo x tempo não foi significativo ($F=1,577$, $p=0,113$) como se observa na Tabela 10.

Tabela 10. Médias amostrais calculadas para o fator de variação: Grupo no parâmetro clínico de nível clínico de inserção.

Grupo	Média	Erro Padrão	Intervalo de Confiança (95%)	
			Mínimo	Máximo
RAR + Filme	1,62	0,19	1,24	1,99
RAR + Gel	0,55	0,21	0,13	0,97
RAR	0,75	0,36	0,03	1,47

De acordo com os resultados obtidos, pode se observar uma diminuição progressiva no NCI após 90 dias do tratamento. Nos grupos que receberam apenas

a RAR e gel + RAR esses valores foram mais expressivos, quando comparado com o grupo que recebeu filme + RAR, sendo que o grupo que apresentou menor variação foi o que recebeu apenas o tratamento convencional (Figuras 22-27).

Figura 22. Valores de nível clínico de inserção de acordo com o tempo (T0) nospacientes que receberam tratamento periodontal convencional (RAR) e associado ao filme (RAR + Filme) ou ao gel (RAR + Gel).

Figura 23. Valores de nível clínico de inserção de acordo com o tempo (T7) nospacientes que receberam tratamento periodontal convencional (RAR) e associado ao filme (RAR + Filme) ou ao gel (RAR + Gel).

Figura 24. Valores de nível clínico de inserção de acordo com o tempo (T15) nos pacientes que receberam tratamento periodontal convencional (RAR) e associado ao filme (RAR + Filme) ou ao gel (RAR + Gel).

Figura 25. Valores de nível clínico de inserção de acordo com o tempo (T30) nos pacientes que receberam tratamento periodontal convencional (RAR) e associado ao filme (RAR + Filme) ou ao gel (RAR + Gel).

Figura 26. Valores de nível clínico de inserção de acordo com o tempo (T60) nos pacientes que receberam tratamento periodontal convencional (RAR) e associado ao filme (RAR + Filme) ou ao gel (RAR + Gel).

Figura 27. Valores de nível clínico de inserção de acordo com o tempo (T90) nos pacientes que receberam tratamento periodontal convencional (RAR) e associado ao filme (RAR + Filme) ou ao gel (RAR + Gel).

Os sujeitos da pesquisa tiveram complementamente controle do nível ósseo avaliado por meio de radiografias periapicais utilizando a técnica do cone

longo e radiografias digitais e/ou digitalizadas (inicial e arquivo e após 90 dias de tratamento (Exemplos no Apêndice 1).

A determinação do nível clínico de inserção revela a extensão aproximada da superfície radicular que está desprovida de ligamento periodontal. Já o exame radiográfico mostra a quantidade de superfície radicular ainda recoberta por osso. É um exame complementar. Não pode ser usado como determinante para o diagnóstico, porém pode-se observar o tipo de reabsorção óssea interproximal (vertical e/ou horizontal), presença de defeitos ósseos interproximais, quantidade de inserção das raízes em tecido ósseo.

5.5 Avaliação dos parâmetros clínicos em relação ao tempo

Tabela 11. Resultados da avaliação dos parâmetros clínicos em relação aos tempos no grupo que recebeu apenas tratamento periodontal convencional (RAR).

RAR						
	T0	T7	T15	T30	160	T90
Participantes	7	7	6	6	5	4
NCI	1,0000	,7500	,6250	,6250	,7500	,7500
PS	5,8750,	4,1875	4,8125	2,8750	2,3750	3,0000
PH	7,5000	7,5000	7,3750	7,5000	7,3750	7,5000
SS	16,44%	8,22%	8,22%	9,59%	5,48%	5,48%

Tabela 12. Resultados da avaliação dos parâmetros clínicos em relação aos tempos no grupo que recebeu tratamento periodontal convencional associado ao filme (RAR + Filme).

RAR + FILME						
	T0	T7	T15	T30	160	T90
Participantes	15	15	14	15	11	10
NCI	1,1333	1,7667	1,3667	2,1667	1,7000	1,5667
PS	5,8333	3,4833	3,8167	2,7167	3,0167	3,1833
PH	9,8000	7,3333	7,5333	7,6333	7,3000	7,4333
SS	17,09%	6,22%	3,63%	4,14%	2,60%	1,55%

Tabela 13. Resultados da avaliação dos parâmetros clínicos e m relação aos tempos no grupo que recebeu tratamento periodontal convencional associado ao gel (RAR + Gel).

RAR + GEL					
	T7	T15	T30	T60	T90
Participantes	23	22	22	19	18
NCI	,6957	,6087	,3478	,5652	,4783
PS	3,2619	3,4762	2,6667	2,8571	2,7619
PH	7,5455	7,7273	7,6364	7,4091	7,2273
SS	7,40%	5,82%	1,05%	1,05%	1,58%

5.6 Avaliação da permanência do cimento em relação ao tempo

A presença do cimento cirúrgico não interferiu na permanência do fármaco quando administrado por meio de filme ou gel ($p>0,05$).

Tabela 14. Resultados da Análise de Variância para o parâmetro clínico de profundidade de sondagem.

Fonte de Variação	Soma de Quadrados Médios	Graus de Liberdade	Quadrados médios	Valor de F	Valor de P
GRUPO	1,31	1	1,31	0,28	0,60
Resíduo 1	199,85	42	4,76	-	-
Variação total	201,16	43	-	-	-

6. *Discussão*

6. DISCUSSÃO

A Doença periodontal crônica inflamatória é causada por respostas imunológicas do hospedeiro a micro-organismos periodontais. Embora a doença periodontal possa progredir localmente na cavidade oral, as respostas imunes reais procedem em dois sítios, sendo um na região periférica do periodonto, e outro em tecidos linfóides secundários, como os gânglios linfáticos e o baço⁸.

O tratamento periodontal mecânico por si só é suficiente para melhorar ou resolver a condição clínica na maioria dos casos. Entretanto, os agentes antimicrobianos adjuvantes, administrados local ou sistemicamente, podem aumentar o efeito da terapia em situações específicas. Isto é, em casos de periodontite agressiva, em pacientes com doença sistêmica generalizada que pode afetar a resistência do hospedeiro e, no caso de ausência resposta à terapia mecânica convencional²⁶.

Os avanços dos agentes antimicrobianos sistêmicos ou tópicos como adjuvantes na terapia periodontal não cirúrgica convencional (raspagem e alisamento radicular) tem sido possibilitada pelo estudo da etiologia e patogênese da doença periodontal⁵.

Para permitir que haja eliminação ou redução de espécies periodontopatogênicas, os agentes farmacológicos aplicados intrabolsa periodontal devem atingir o local de ação, mantendo concentrações adequadas por um período de tempo suficiente e em algumas situações, permanecerem após a raspagem e alisamento radicular^{5, 78}.

6.1. Avaliação do pH

Como já dito anteriormente, foi realizado um estudo piloto prévio para determinar o pH das bolsas periodontais, no qual observou-se que pacientes já tratados possuíam pH neutro (por volta de 7). Nossos achados corroboram com estudos prévios de Eggert et al. (1991)⁷⁹ e Galgut (2001)⁸⁰, que atribuem pH neutro a pacientes saudáveis. Entretanto, os pacientes portadores de doença periodontal apresentaram pH alcalino (por volta de 8), o que está de acordo com Eggert et al., 1991⁷⁹ e Galgut, 2001⁸⁰ que afirmam que o pH bucal varia em diferentes sítios e condições de saúde bucal, podendo ser um indicativo de doença instalada. Sugere-se que esses resultados podem ser explicados pelo mecanismo de calcificação do biofilme bacteriano, já que o aumento do pH salivar favorece a precipitação de cristais de cálcio e fosfato, sobre a superfície amolecida do biofilme.

Ainda, no presente estudo não foi possível encontrar diferença estatística significativa entre o valor do pH, o grupo ao qual o paciente pertencia (RAR, filme + RAR ou gel + RAR), o tempo (inicial ou final) e na interação entre grupo e tempo.

Somado a isso, pode-se observar que a localização da bolsa periodontal (dentes posteriores ou anteriores), a profundidade de sondagem e a presença de sangramento à sondagem também não apresentaram relação com os valores de pH, uma vez que das 463 mensurações de pH obtidas no presente estudo, apenas 17 (3,67%) foram iguais a 6, e os outros 96,33% variaram entre 7 e 8 ao longo do estudo, independente do grupo ou do tempo analisado, como também observado no estudo de Eggert et al. (1991)⁷⁹.

Realizamos um estudo adicional (denominamos intragrupo) onde foram acrescentados os tempos T2 e T5 (respectivamente 48 horas e 96 horas após os tratamentos – com princípios ativos gel e filme) - Apêndice 2. Pode-se constatar que após 96 horas ambos os tratamentos filme e gel possibilitaram uma recuperação do pH para neutro, sem diferenças estatísticas.

Vale ressaltar, que no presente estudo, a mensuração do pH foi determinada e realizada por apenas um operador, previamente calibrado, com o intuito de evitar erros e interferências na análise dos resultados, uma vez que as fitas indicadoras de pH possuem pequenas variações na gradação de cores, além de apresentar valores decimais variados.

6.2 Avaliação da liberação do metronidazol intrabolsa periodontal

A avaliação da liberação de metronidazol a partir dos sistemas objetos deste estudo (gel e filme) cumpre destacar, não foi tarefa fácil. Apesar de o grupo já possuir experiência prévia na produção de sistemas para a liberação de metronidazol na forma de géis e também na testagem em modelos *in vitro*^{43, 81}, *ex vivo*⁸² e *in vivo* tanto em modelo animal⁸³ quanto em humanos⁵, cumpre salientar que ambos sistemas, gel e filme, são formulações inéditas.

Antes o princípio ativo testado era apenas o sal de metronidazol, composto hidrossolúvel facilmente diluído pela saliva. No presente estudo, como tentativa de sanar esta dificuldade de detecção e quantificação do fármaco por períodos mais prolongados, foi associado o benzoato de metronidazol que tem como característica ser hidrofóbico. Exaustivos estudos, testagens e retestagens foram feitas no Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento Farmacotécnico (LPDF) da FCFRP-

USP, com suporte financeiro da **FAPESP (processo nº 01/12377-4)** e estudos pilotos em humanos foram desenvolvidos pelo nosso grupo clínico para se chegar a dois sistemas mais robustos e com possibilidade de permanência do fármaco detectável em níveis clínicos por mais tempo que os estudos anteriores, que permaneciam detectáveis por um período máximo de 24 horas^{5, 83}.

Outro fator que colaborou na manutenção do fármaco intrabolsa, foi a colocação do cimento periodontal cirúrgico em ambos os grupos que receberam sistema de liberação local do metronidazol associado ao benzoato de metronidazol, após o tratamento periodontal convencional. O cimento cirúrgico atuou como barreira física, impedindo ou pelo menos dificultando a saída do fármaco logo após a sua inserção, permitindo então a atuação mais prolongada e a maior permanência do fármaco intrabolsa periodontal, contrastando com a metodologia do trabalho de Miani et al., 2012⁵ em que nenhuma barreira física foi instalada após a inserção do gel contendo metronidazol, o que pode ter facilitado a remoção do fármaco através dos fluídos salivares, reduzindo sua permanência nos sítios avaliados.

6.3. Avaliação da profundidade de sondagem

No presente estudo, pôde-se observar que não houve diferença estatística entre os grupos avaliados, e nem na interação entre grupo x tempo. Entretanto, quando avaliado apenas os tempos, houve diferença estatística com relação diretamente proporcional, ou seja, quanto mais tempo decorrido após o tratamento, menor eram os índices de profundidade de sondagem. Ainda foi possível observar que após 7 dias do tratamento, houve uma queda acentuada nos valores, mantendo-se constante até os 90 dias pós-tratamento. Entretanto, podemos verificar que no

grupo que recebeu o fármaco por meio do filme, houve uma diminuição dos valores de profundidade de sondagem, porém não de forma constante.

Sugere-se que a liberação de Metronidazol intrabolsa nesse grupo foi reduzida ou cessada, devido ao tempo de vida útil do filme. Dessa forma, pode-se observar um *burst* no grupo do filme nas primeiras 48 horas, que coincidiu com o período em que havia presença do filme na bolsa (o tempo variou de 1 a 2 dias entre os pacientes). Ou seja, as áreas com bolsas de 6-9 mm apresentaram em sua maioria profundidades de 3-4 mm.

Os resultados do presente estudo corroboram com os trabalhos de Riep; Purucker; Bernimoulin, 1999; Jansson; Bratthall; Soderholm, 2003; Perinetti et al., 2004; Leiknes et al., 2007; Singh et al., 2009^{63, 67, 68, 71, 84}, que ao avaliarem a terapia periodontal convencional (RAR) associada ou não à aplicação local de Metronidazol, não obtiveram diferença estatística dos parâmetros clínicos avaliados entre os grupos.

Por outro lado, autores como Lie et al. (1998)⁸⁵ e Stelzel & Florès-de-Jacoby, (2000)⁸⁶ observaram diferenças significantes quando da associação da terapia periodontal convencional (RAR) e ao metronidazol local, mas não chegaram a concluir se havia significância clínica nesta associação.

Segundo a Academia Americana de Periodontia (1997)¹⁰ a saúde periodontal pode ser observada clinicamente a partir de quatro a seis semanas após a realização do tratamento, em que se pode verificar a melhora clínica dos parâmetros avaliados. Para Griffiths et al., 2000⁶¹ este período corresponde ao início da fase de manutenção (em média 90 dias após o tratamento), como também pode ser observado no presente estudo.

6.4. Avaliação do sangramento à sondagem

O primeiro sinal que evidencia a presença de inflamação é o sangramento à sondagem provocado ou espontâneo. Apesar deste parâmetro não indicar a severidade da doença, é um indicador de extrema importância no diagnóstico e na avaliação das condições periodontais após a realização do tratamento proposto⁸⁷. Nesse sentido, a ausência de sangramento indica saúde, entretanto Salvi et al (2002)⁶² demonstraram que qualquer força maior que 0,25N durante a sondagem periodontal pode causar sangramento em sítios saudáveis mesmo em um periodonto intacto. Além disso, a presença do sangramento não indica que está ocorrendo progressão ou atividade da doença, apenas que os tecidos estão inflamados.

No presente estudo, 89,29% dos pacientes apresentavam sangramento à sondagem no T=0, que reduziu para 25,71% após 90 dias do tratamento. Esses resultados estão de acordo com Armitage, 2003⁸⁸ e Coelho et al., 2008⁸⁷, que avaliaram o sangramento à sondagem em pacientes no T0 e 30 dias após, e observaram diminuição progressiva nos valores após o tratamento periodontal convencional. Os resultados apresentados neste estudo, mostraram diferença estatística entre os grupos fime + RAR x RAR e gel + RAR x RAR. Entretanto, embora tenha tido diminuição considerável do sangramento à sondagem nos grupos experimentais, não houve diferença estatística entre eles.

Vale ressaltar que a associação dos fármacos ao tratamento periodontal convencional promoveu diminuição do sangramento à sondagem. Entretanto, quando analisado a forma de liberação do fármaco, o gel reduziu significativamente o

sangramento à sondagem quando comparado ao filme, que apresentou resposta mais rápida e estável ao longo do período avaliado.

6.5. Avaliação do Nível Clínico de Inserção

É o parâmetro que determina a extensão da destruição dos tecidos periodontais e deve ser realizada em pelo menos dois períodos diferentes⁸⁹⁻⁹².

No presente estudo, houve diferença estatística significativa para ambos os grupos avaliados (RAR, gel + RAR e filme + RAR) com diminuição progressiva no NCI após 90 dias do tratamento, sendo mais expressivos nos grupos que receberam apenas a RAR e gel + RAR, quando comparado com o grupo que recebeu filme + RAR. Isto pode ser explicado uma vez que o filme atua como barreira física e pode atrapalhar a reinserção das fibras periodontais, tornando-se menos previsível. Entretanto, não foi possível observar diferença estatística entre os tempos e entre a interação grupo x tempo. Estes resultados contrastam com os trabalhos de Miani et al., 2012; Riep; Purucker; Bernimoulin, 1999; Jansson; Bratthall; Soderholm, 2003; Perinetti et al., 2004; Leiknes et al., 2007; Singh et al., 2009^{5, 63, 67, 68, 71, 84} que ao avaliarem o nível clínico de inserção em pacientes com doença periodontal não observaram diferenças estatísticas entre os grupos avaliados.

Por outro lado, o grupo que recebeu apenas o tratamento periodontal convencional apresentou menor variação nos valores de NCI ao longo dos 90 dias, evidenciando maior estabilidade e previsibilidade para esse sistema.

É importante citar um possível viés observado no estudo, como o do Paciente 22 observado abaixo, com redução da PS de 7mm para 3mm em 90 dias, porém uma perda de inserção clínica de 2mm para 5mm no mesmo período. Como

os parâmetros clínicos no estudo foram mensurados a través da Sonda Florida Probe® que possui pressão controlada e de um mesmo operador em todas as consultas, uma hipótese é de que o volume do fluido gengival tenha interferido no funcionamento do aparelho (Tabela 15).

Tabela 15. Parâmetros clínicos de Profundidade de sondagem e nível clínico de inserção no paciente 22.

Paciente 22	Inicial	48h	72h	7 dias	15 dias	30 dias	60 dias	90 dias
PS	7	4	5	4	5	2	3	3
NCI	2	0	5	5	5	6	8	5

6.6. Considerações clínicas

Um tratamento periodontal não-cirúrgico eficaz diminui a PS, aumenta o NCI (proporcional à profundidade da bolsa) e reduz o SS, porém, o paciente deve estar ciente de que a recessão gengival (aproximadamente 2mm) é uma consequência esperada e que pôde ser comprovada clinicamente nesse estudo. Porém, colocando o paciente em estado de saúde periodontal, posteriormente podem ser realizadas algumas técnicas para melhorar a estética da região com recessão, como a dupla papila, deslocamento lateral de retalho ou enxerto de tecido conjuntivo.

O paciente também deve ser informado de que a higiene oral deve permanecer rigorosa depois do tratamento periodontal, para que não haja reinfecção nas bolsas periodontais e recorrência da doença periodontal destrutiva.

7. Conclusões

7. CONCLUSÕES

Diante dos resultados da avaliação *in vivo* de sistemas semissólidos (géis) e filmes contendo sal de metronidazol e conjugado de benzoato de metronidazol para o tratamento da periodontite crônica em humanos, e dentro das limitações do estudo, pôde-se concluir que:

- 1) Foi possível detectar e quantificar a presença do fármaco intrabolsa periodontal após 48 horas do tratamento periodontal. Não houve diferença estatística significativa entre os grupos avaliados (filme e gel);
- 2) Os valores de pH após o tratamento variaram entre 6 e 8, sem diferença estatística entre os grupos avaliados;
- 3) Os pacientes que receberam tratamento periodontal convencional associado à colocação do fármaco através do filme (RAR + filme) apresentaram redução progressiva nos valores de profundidade de sondagem, que se mantiveram até os 90 dias após o tratamento;
- 4) Houve redução progressiva do sangramento à sondagem nos tempos T15 e T30 nos três grupos avaliados, porém no longo prazo (T60 e T90) os tratamentos associados ao gel e ao filme foram melhores que a RAR isolada;
- 5) No nível clínico de inserção houve diferença estatística significativa entre os três grupos avaliados, sendo que o grupo que recebeu apenas tratamento periodontal convencional apresentou os melhores valores.

Dessa forma, pode-se concluir de maneira geral, que o filme apresentou resultados mais inconstantes enquanto que os valores do gel foram mais progressivos em todos os parâmetros clínicos avaliados.

Referências

REFERÊNCIAS ¹

1. Miani PK. Avaliação de um gel contendo metronidazol para o tratamento adjuvante da periodontite crônica. Ribeirão Preto, 2010. 170f. Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. (Tese de Doutorado em Reabilitação Oral), 2010.
2. Badersten A, Nilveus R, Egelberg J. Effect of nonsurgical periodontal therapy. II. Severely advanced periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1984;11(1):63-76.
3. Magnusson I, Lindhe J, Yoneyama T, Liljenberg B. Recolonization of a subgingival microbiota following scaling in deep pockets. *J Clin Periodontol*. 1984;11(3):193-207.
4. J L. Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia. 4 edição ed2005.
5. Miani PK, do Nascimento C, Sato S, Filho AV, da Fonseca MJ, Pedrazzi V. In vivo evaluation of a metronidazole-containing gel for the adjuvant treatment of chronic periodontitis: preliminary results. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012;31(7):1611-8.
6. Weyne S. Curso para a atualização e educação continuada em odontologia preventiva (cariologia). *Revista Brasileira de Odontologia*. 1986;43(2):58-64.
7. Pedrazzi V. Sistemas bioadesivos intrabuciais para a liberação programada de fármacos: avaliação da resistência à remoção de um dispositivo acrílico e um polimérico. Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1999; Doutorado:169 f.
8. Azuma M. Fundamental mechanisms of host immune responses to infection. *J Periodontal Res*. 2006;41(5):361-73.
9. Azoubel MCF, Azoubel E, Actis A, DÁguiar RCF. A influência dos antiinflamatórios não-esteroidais no controle da doença periodontal. *Innov Implant J - Biomater Esthet*. 2009;2(1):58-61.
10. Periodontology AAo. Comprehensive periodontal therapy: a statement by the American Academy of Periodontology *. *J Periodontol*. 2011;82(7):943-9.
11. 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(7):597-609.
12. Teles RP, Haffajee AD, Socransky SS. Microbiological goals of periodontal therapy. *Periodontol 2000*. 2006;42:180-218.

¹De acordo com: International Committee of Medical Journal Editors - padrão ANSI, adaptado pela U.S. National Library of Medicine (estilo VANCOUVER). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=citmed> (acessado em 15 de outubro de 2015).

13. Mombelli A, Gmür R, Gobbi C, Lang NP. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in adult periodontitis. II. Characterization of isolated strains and effect of mechanical periodontal treatment. *J Periodontol.* 1994;65(9):827-34.
14. Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent RL, Socransky SS. The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *J Clin Periodontol.* 1997;24(5):324-34.
15. 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(9):648-60.
16. 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.
17. 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(1):14-21.
18. Petersilka GJ, Ehmke B, Flemmig TF. Antimicrobial effects of mechanical debridement. *Periodontol* 2000. 2002;28:56-71.
19. 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.
20. Adriaens PA, De Boever JA, Loesche WJ. Bacterial invasion in root cementum and radicular dentin of periodontally diseased teeth in humans. A reservoir of periodontopathic bacteria. *J Periodontol.* 1988;59(4):222-30.
21. Quirynen M, Papaioannou W, van Steenberghe TJ, Dierickx K, Cassiman JJ, van Steenberghe D. Adhesion of *Porphyromonas gingivalis* strains to cultured epithelial cells from patients with a history of chronic adult periodontitis or from patients less susceptible to periodontitis. *J Periodontol.* 2001;72(5):626-33.
22. Colombo AV, Silva CM, Haffajee A, Colombo AP. Identification of oral bacteria associated with crevicular epithelial cells from chronic periodontitis lesions. *J Med Microbiol.* 2006;55(Pt 5):609-15.
23. 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.
24. Cugini MA, Haffajee AD, Smith C, Kent RL, 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;27(1):30-6.

25. Haffajee AD, Teles RP, Socransky SS. The effect of periodontal therapy on the composition of the subgingival microbiota. *Periodontol* 2000. 2006;42:219-58.
26. Mombelli A, Samaranayake LP. Topical and systemic antibiotics in the management of periodontal diseases. *Int Dent J*. 2004;54(1):3-14.
27. Pähkla ER, Koppel T, Saag M, Pähkla R. Metronidazole concentrations in plasma, saliva and periodontal pockets in patients with periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005;32(2):163-6.
28. Loesche WJ, Schmidt E, Smith BA, Morrison EC, Caffesse R, Hujoel PP. Effects of metronidazole on periodontal treatment needs. *J Periodontol*. 1991;62(4):247-57.
29. Ribeiro EeP, Bittencourt S, Zanin IC, Bovi Ambrosano GM, Sallum EA, Nociti FH, et al. Full-mouth ultrasonic debridement associated with amoxicillin and metronidazole in the treatment of severe chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2009;80(8):1254-64.
30. Loesche WJ, Grossman N, Giordano J. Metronidazole in periodontitis (IV). The effect of patient compliance on treatment parameters. *J Clin Periodontol*. 1993;20(2):96-104.
31. Rizzo A, Paolillo R, Guida L, Annunziata M, Bevilacqua N, Tufano MA. Effect of metronidazole and modulation of cytokine production on human periodontal ligament cells. *Int Immunopharmacol*. 2010;10(7):744-50.
32. Löfmark S, Edlund C, Nord CE. Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections. *Clin Infect Dis*. 2010;50 Suppl 1:S16-23.
33. 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(11):658-65.
34. Britt MR, Pohlod DJ. Serum and crevicular fluid concentrations after a single oral dose of metronidazole. *J Periodontol*. 1986;57(2):104-7.
35. Levin-Goldstein D. The local drug delivery of tetracycline, metronidazole, and chlorhexidine in periodontal therapy. *J Dent Hyg*. 1992;66(9):410-6.
36. Tenenbaum H, Jehl F, Gallion C, Dahan M. Amoxicillin and clavulanic acid concentrations in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol*. 1997;24(11):804-7.
37. Kurtzman GM, Hughes MK. Evolution of Comprehensive Care, Part 3. Periodontal Treatment Continues to Evolve. *Dent Today*. 2015;34(5):90, 2, 4-7.
38. Wainwright M, Crossley KB. Photosensitising agents — circumventing resistance and breaking down biofilms: a review. *Int Biodeter Biodegrad*. 2004;53(2):119-26.
39. Oruba Z, Łabuz P, Macyk W, Gajewska MC. Antimicrobial photodynamic therapy - a discovery originating from the pre-antibiotic era in a novel periodontal therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2015.

40. Dougherty TJ, Gomer CJ, Henderson BW, Jori G, Kessel D, Korbelik M, et al. Photodynamic therapy. *J Natl Cancer Inst.* 1998;90(12):889-905.
41. Bliss JM, Bigelow CE, Foster TH, Haidaris CG. Susceptibility of *Candida* species to photodynamic effects of photofrin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48(6):2000-6.
42. Goodson JM, Haffajee A, Socransky SS. Periodontal therapy by local delivery of tetracycline. *J Clin Periodontol.* 1979;6(2):83-92.
43. Bruschi ML, Panzeri H, Freitas O, Lara EHG, Gremião MPD. Sistemas de Liberação de Fármaco Intrabolsa Periodontal. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.* 2006;42(1):29 - 47.
44. Goodson JM, Holborow D, Dunn RL, Hogan P, Dunham S. Monolithic tetracycline-containing fibers for controlled delivery to periodontal pockets. *J Periodontol.* 1983;54(10):575-9.
45. Goodson JM. Antimicrobial strategies for treatment of periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 1994;5:142-68.
46. Soskolne WA. Subgingival delivery of therapeutic agents in the treatment of periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1997;8(2):164-74.
47. Addy M, Rawle L, Handley R, Newman HN, Coventry JF. The development and in vitro evaluation of acrylic strips and dialysis tubing for local drug delivery. *J Periodontol.* 1982;53(11):693-9.
48. Soskolne WA, Chajek T, Flashner M, Landau I, Stabholtz A, Kolatch B, et al. An in vivo study of the chlorhexidine release profile of the PerioChip in the gingival crevicular fluid, plasma and urine. *J Clin Periodontol.* 1998;25(12):1017-21.
49. Stanley A, Wilson M, Newman HN. The in vitro effects of chlorhexidine on subgingival plaque bacteria. *J Clin Periodontol.* 1989;16(4):259-64.
50. Cetin EO, Buduneli N, Atlihan E, Kirilmaz L. In vitro studies on controlled-release cellulose acetate films for local delivery of chlorhexidine, indomethacin, and meloxicam. *J Clin Periodontol.* 2004;31(12):1117-21.
51. Nakagawa T, Yamada S, Oosuka Y, Saito A, Hosaka Y, Ishikawa T, et al. Clinical and microbiological study of local minocycline delivery (Periocline) following scaling and root planing in recurrent periodontal pockets. *Bull Tokyo Dent Coll.* 1991;32(2):63-70.
52. Graça MA, Watts TL, Wilson RF, Palmer RM. A randomized controlled trial of a 2% minocycline gel as an adjunct to non-surgical periodontal treatment, using a design with multiple matching criteria. *J Clin Periodontol.* 1997;24(4):249-53.
53. Needleman IG, Watts TL. The effect of 1% metronidazole gel in routine maintenance of persistent furcation involvement in human beings. *J Periodontol.* 1989;60(12):699-703.

54. Ainamo J, Lie T, Ellingsen BH, Hansen BF, Johansson LA, Karring T, et al. Clinical responses to subgingival application of a metronidazole 25% gel compared to the effect of subgingival scaling in adult periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1992;19(9 Pt 2):723-9.
55. Klinge B, Attström R, Karring T, Kisch J, Lewin B, Stoltze K. 3 regimens of topical metronidazole compared with subgingival scaling on periodontal pathology in adults. *J Clin Periodontol.* 1992;19(9 Pt 2):708-14.
56. Pedrazzoli V, Kilian M, Karring T. Comparative clinical and microbiological effects of topical subgingival application of metronidazole 25% dental gel and scaling in the treatment of adult periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1992;19(9 Pt 2):715-22.
57. Palmer RM, Matthews JP, Wilson RF. Adjunctive systemic and locally delivered metronidazole in the treatment of periodontitis: a controlled clinical study. *Br Dent J.* 1998;184(11):548-52.
58. Yewey GL, Duysen EG, Cox SM, Dunn RL. Delivery of proteins from a controlled release injectable implant. *Pharm Biotechnol.* 1997;10:93-117.
59. Polson AM, Garrett S, Stoller NH, Bandt CL, Hanes PJ, Killoy WJ, et al. Multi-center comparative evaluation of subgingivally delivered sanguinarine and doxycycline in the treatment of periodontitis. II. Clinical results. *J Periodontol.* 1997;68(2):119-26.
60. Awartani FA, Zulqarnain BJ. Comparison of the clinical effects of subgingival application of metronidazole 25% gel and scaling in the treatment of adult periodontitis. *Quintessence Int.* 1998;29(1):41-8.
61. Griffiths GS, Smart GJ, Bulman JS, Weiss G, Shrowder J, Newman HN. Comparison of clinical outcomes following treatment of chronic adult periodontitis with subgingival scaling or subgingival scaling plus metronidazole gel. *J Clin Periodontol.* 2000;27(12):910-7.
62. Salvi GE, Mombelli A, Mayfield L, Rutar A, Suvan J, Garrett S, et al. Local antimicrobial therapy after initial periodontal treatment. *J Clin Periodontol.* 2002;29(6):540-50.
63. Jansson H, Bratthall G, Söderholm G. Clinical outcome observed in subjects with recurrent periodontal disease following local treatment with 25% metronidazole gel. *J Periodontol.* 2003;74(3):372-7.
64. Paquette D, Oringer R, Lessem J, Offenbacher S, Genco R, Persson GR, et al. Locally delivered minocycline microspheres for the treatment of periodontitis in smokers. *J Clin Periodontol.* 2003;30(9):787-94.
65. Renvert S, Lessem J, Dahlén G, Lindahl C, Svensson M. Topical minocycline microspheres versus topical chlorhexidine gel as an adjunct to mechanical debridement of incipient peri-implant infections: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2006;33(5):362-9.

66. Jansson H, Hamberg K, Söderholm G, Bratthall G. The microbial outcome observed with polymerase chain reaction in subjects with recurrent periodontal disease following local treatment with 25% metronidazole gel. *Swed Dent J*. 2004;28(2):67-76.
67. Perinetti G, Paolantonio M, Cordella C, D'Ercole S, Serra E, Piccolomini R. Clinical and microbiological effects of subgingival administration of two active gels on persistent pockets of chronic periodontitis patients. *J Clin Periodontol*. 2004;31(4):273-81.
68. Leiknes T, Leknes KN, Bøe OE, Skavland RJ, Lie T. Topical use of a metronidazole gel in the treatment of sites with symptoms of recurring chronic inflammation. *J Periodontol*. 2007;78(8):1538-44.
69. 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*. 2007;78(7):1201-8.
70. Barat R, Srinatha A, Pandit JK, Anupurba S, Mittal N. Chitosan inserts for periodontitis: influence of drug loading, plasticizer and crosslinking on in vitro metronidazole release. *Acta Pharm*. 2007;57(4):469-77.
71. Singh S, Roy S, Chumber SK. Evaluation of two local drug delivery systems as adjuncts to mechanotherapy as compared to mechanotherapy alone in management of chronic periodontitis: A clinical, microbiological, and molecular study. *J Indian Soc Periodontol*. 2009;13(3):126-32.
72. Kumari N, Pathak K. Dual controlled release, in situ gelling periodontal sol of metronidazole benzoate and serratiopeptidase: statistical optimization and mechanistic evaluation. *Curr Drug Deliv*. 2012;9(1):74-84.
73. Goodson JM, Haffajee AD, Socransky SS, Kent R, Teles R, Hasturk H, et al. Control of periodontal infections: a randomized controlled trial I. The primary outcome attachment gain and pocket depth reduction at treated sites. *J Clin Periodontol*. 2012;39(6):526-36.
74. Matesanz P, Herrera D, Echeverría A, O'Connor A, González I, Sanz M. A randomized clinical trial on the clinical and microbiological efficacy of a xanthan gel with chlorhexidine for subgingival use. *Clin Oral Investig*. 2013;17(1):55-66.
75. Panchanathan R, Gopal KR, Mehta TB, Eshwaraiah B, Gopal C, Gopal R, et al. Comparative Evaluation of Sustained Release Collagen Device Containing 5% Metronidazole (Metrogene) along With and Without Scaling and Root Planing at Regular Intervals with Treatment of Chronic Periodontitis: A Case Control Study. *J Int Oral Health*. 2015;7(6):18-22.
77. Bergamaschi CC, Santamaria MP, Berto LA, Cogo-Müller K, Motta RH, Salum EA, et al. Full mouth periodontal debridement with or without adjunctive metronidazole gel in smoking patients with chronic periodontitis: A pilot study. *J Periodontal Res*. 2015.
78. Goodson JM. Pharmacokinetic principles controlling efficacy of oral therapy. *J Dent Res*. 1989;68(1):1625 - 32.

79. Eggert FM, Drewell L, Bigelow JA, Speck JE, Goldner M. The pH of gingival crevices and periodontal pockets in children, teenagers and adults. *Arch Oral Biol.* 1991;36(3):233-8.
80. Galgut PN. The relevance of pH to gingivitis and periodontitis. *J Int Acad Periodontol.* 2001;3(3):61-7.
81. Gabarra F. Dispositivos de liberação lenta de antimicrobianos no tratamento da periodontite: revisão da literatura.: Universidade de São Paulo; 1996.
82. Cid YP, Pedrazzi V, de Sousa VP, Pierre MB. In vitro characterization of chitosan gels for buccal delivery of celecoxib: influence of a penetration enhancer. *AAPS PharmSciTech.* 2012;13(1):101-11.
83. Sato S, Fonseca MJ, Ciampo JO, Jabor JR, Pedrazzi V. Metronidazole-containing gel for the treatment of periodontitis: an in vivo evaluation. *Braz Oral Res.* 2008;22(2):145-50.
84. Riep B, Purucker P, Bernimoulin JP. Repeated local metronidazole-therapy as adjunct to scaling and root planing in maintenance patients. *J Clin Periodontol.* 1999;26(11):710-5.
85. Lie T, Bruun G, Bøe OE. Effects of topical metronidazole and tetracycline in treatment of adult periodontitis. *J Periodontol.* 1998;69(7):819-27.
86. Stelzel M, Florès-de-Jacoby L. Topical metronidazole application as an adjunct to scaling and root planing. *J Clin Periodontol.* 2000;27(6):447-52.
87. Coelho RS GE, Grangeiro ERN, Barbosa MR, Lima TSL, Cimões R. Índice de sangramento à sondagem como parâmetro de avaliação do tratamento básico periodontal. *Int J Dent.* 2008;7(3):166-72.
88. Armitage GC, Research SiaTCotAAoP. Diagnosis of periodontal diseases. *J Periodontol.* 2003;74(8):1237-47.
89. Page RC, DeRouen TA. Design issues specific to studies of periodontitis. *J Periodontal Res.* 1992;27(4 Pt 2):395-404; discussion 12-6.
90. Pihlstrom B. Issues in the evaluation of clinical trials of periodontitis: a clinical perspective. *J Periodontal Res.* 1992;27(4 Pt 2):433-41.
91. Armitage GC. Manual periodontal probing in supportive periodontal treatment. *Periodontol 2000.* 1996;12:33-9.
92. Magnusson I. Computerized periodontal probing. *Periodontol 2000.* 1996;12:40-3.

Apêndices

APÊNDICE 1

Documentação radiográfica de alguns casos clínicos avaliados no estudo.

Paciente 15 - Gel, dente 22: INICIAL

Paciente 15 - Gel, dente 22: FINAL

Paciente 19 - Filme, dentes 26 e 27: INICIAL

Paciente 19 - Filme, dentes 26 e 27: FINAL

Paciente 4 - RAR, dente 13: INICIAL

Paciente 4 - RAR, dente 13: FINAL

Paciente 4 - RAR, dente 15: INICIAL

Paciente 4 - RAR, dente 15: FINAL

Paciente 11- Gel, dente 21: INICIAL

Paciente 11- Gel, dente 21: FINAL

Paciente 11 - Gel, dente 42: INICIAL

Paciente 11 - Gel, dente 42: FINAL

Apêndice 2.1 Valores de pH de acordo com o tempo nos pacientes do intragrupo que receberam tratamento periodontal convencional associado ao filme (RAR + Filme).

Apêndice 2.2 Valores de pH de acordo com o tempo nos pacientes do intragrupo que receberam tratamento periodontal convencional associado ao gel (RAR + Gel).

Apêndice 3.1 Valores de sangramento à sondagem de acordo com o tempo nos pacientes do intragrupo que receberam tratamento periodontal convencional associado ao gel (RAR + Gel).

Apêndice 3.2 Valores de sangramento à sondagem de acordo com o tempo nos pacientes do intragrupo que receberam tratamento periodontal convencional associado ao filme (RAR + Filme).

Apêndice 4.1 Valores de nível clínico de inserção de acordo com o tempo nos pacientes do intragrupo que receberam tratamento periodontal convencional associado ao gel (RAR + Gel).

Apêndice 4.2 Valores de nível clínico de inserção de acordo com o tempo nos pacientes do intragrupo que receberam tratamento periodontal convencional associado ao filme (RAR + Filme).

Apêndice 5.1 Valores de profundidade de sondagem de acordo com o tempo nos pacientes do intragrupo que receberam tratamento periodontal convencional associado ao gel (RAR + Gel).

Apêndice 5.2 Valores de profundidade de sondagem de acordo com o tempo nos pacientes do intragrupo que receberam tratamento periodontal convencional associado ao filme (RAR + Filme).

Anexos

ANEXO 1 - Certificado de Aprovação do Projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da FORP-USP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. CEP 170/2015

Ribeirão Preto, 30 de setembro de 2015.

Processo nº 2011.1.907.58.0

Senhor(a) Pesquisador(a),

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 184ª Sessão, realizada em 30/09/2015, **aprovou** o Relatório Parcial do Projeto de Pesquisa envolvendo seres humanos intitulado **"Avaliação clínica de formulações semi-sólidas e filmógenas contendo metronidazol para o tratamento da doença periodontal"**.

Salientamos a necessidade de entregar, na Secretaria do CEP, os Relatórios Parciais em **15/03/2016** e **15/09/2016** e o **Relatório Final** em **15/03/2017**.

Atenciosamente,

Prof. Dra. Simone Cecílio Hallak Regalo
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa

Ilmo(a). Sr(a).

Prof. Dr. Vinícius Pedrazzi

Departamento de Materiais Dentários e Prótese

FORP-USP

/cdc

ANEXO 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aos voluntários da pesquisa (Capítulo IV, itens 1 a 3 da Resolução 196/96 – Conselho Nacional de Saúde)

Eu, _____, fui convidado(a) e devidamente esclarecido(a) com a finalidade de autorizar minha participação como sujeito na pesquisa **“Avaliação clínica de formulações semi-sólidas Efilmógenas contendo metronidazol para o tratamento da doença periodonta I”** sob a responsabilidade do Prof. Dr. Vinícius Pedrazzi (pesquisador responsável), Dr Paulo Linares Calefi e Dra Monica Danielle Ribeiro Bastos, e asseguro que me foram dadas todas as explicações necessárias para tomar a decisão de livre e espontânea vontade. Tenho conhecimento que:

Este trabalho visa comparar a eficiência de tratamento de dois sistemas de liberação local de metronidazol (antibiótico), sendo um na forma de gel e outro na forma de filme, no tratamento da doença da gengiva. Para isso será realizado um estudo clínico com 45 pacientes portadores de doença gengival crônica, os quais receberão o tratamento convencional (raspagem e alisamento da raiz dental), seguido ou não da aplicação local do gel ou filme. Os sujeitos não serão submetidos a regime de espera de tratamento entre uma etapa e outra ou de ausência de tratamento (placebo), e serão distribuídos por sorteio em 3 grupos: Grupo 1-Raspagem e alisamento da raiz; Grupo 2- Raspagem e alisamento da raiz + gel de metronidazol; Grupo 3 - - Raspagem e alisamento da raiz + filme de metronidazol. Parâmetros clínicos (profundidade à sondagem, nível clínico de inserção gengival e sangramento à sondagem), microbiológicos (colheita de placa bacteriana subgengival) e imunológicos (colheita de fluido gengival) serão avaliados no decorrer do estudo. A concentração do medicamento presente nas bolsas gengivais também será avaliada por meio da colheita do líquido gengival.

1. É condição seletiva desse estudo que os sujeitos possuam dentes naturais e/ou próteses dentárias fixas, e que não apresentem condições sistêmicas indicativas de doenças crônicas, nem estejam fazendo uso de qualquer tipo de antibiótico ou agente antimicrobiano;
2. Com este estudo espera-se avaliar o grau de melhora da saúde periodontal conseguido com tratamento clínico de raspagem e alisamento da raiz e/ou o emprego de sistemas para a liberação controlada de metronidazol;
3. Efeitos colaterais adversos severos não são esperados, pois os pacientes serão submetidos a um rigoroso questionário clínico e os produtos empregados para a obtenção dos sistemas terapêuticos são aprovados como complementos alimentares, e o princípio ativo (metronidazol) é indicado para tratamento de doença gengival;

4. Em caso de efeitos colaterais moderados a severos, serei excluído (a) do estudo para evitar qualquer tipo de dano à minha saúde;
5. Não está prevista a ocorrência de qualquer tipo de constrangimento ou ofensa aos indivíduos selecionados;
6. Os pesquisadores se comprometem a prestar assistência integral no decorrer da pesquisa;
7. Caso ocorra algum dano à minha saúde, em razão da minha participação na pesquisa, os pesquisadores serão responsáveis por quaisquer despesas;
8. Os pesquisadores manterão sigilo sobre a minha participação na pesquisa;
9. Como minha participação é voluntária, tenho direito de interrompê-la em qualquer momento, sem sofrer penalizações.
10. Receberei uma cópia deste termo de consentimento.

Ribeirão Preto, de de 2015.

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

PACIENTE OU RESPONSÁVEL

RG: _____

Telefone: () _____

Endereço: _____

PROF. DR. VINÍCIUS PEDRAZZI
(16) 3615-4008 / 3602-3983
pedrazzi@forp.usp.br

DR. PAULO LINRAES CALEFI
(16) 3615-4095 / 98128-5573
pcalefi@usp.br

DRA. MÔNICA DANIELLE RIBEIRO BASTOS
(16) 3621-8482 / 98119-5800
monica.danielle.bastos@usp.br

Nome do Secretário do CEP: Sra. Camila Floriano de Castro
Endereço e telefone do CEP: Seção de Apoio Acadêmico,
Prédio da Administração FORP/USP. Fone (16) 3315-4129