

UNIVERSIDADE DO GRANDE RIO “Prof. José de Souza Herdy”
UNIGRANRIO

BIANCA CALIL FELDMAN

**AVALIAÇÃO CLÍNICA DOS EFEITOS DA TERAPIA FOTODINÂMICA
ANTIMICROBIANA NO TRATAMENTO NÃO-CIRURGICO DA
PERIODONTITE CRÔNICA**

Duque de Caxias
2009



UNIVERSIDADE DO GRANDE RIO “Prof. José de Souza Herdy”

UNIGRANRIO

BIANCA CALIL FELDMAN

**AVALIAÇÃO CLÍNICA DOS EFEITOS DA TERAPIA FOTODINÂMICA
ANTIMICROBIANA NO TRATAMENTO NÃO-CIRURGICO DA
PERIODONTITE CRÔNICA**

Duque de Caxias

2009

BIANCA CALIL FELDMAN

**AVALIAÇÃO CLÍNICA DOS EFEITOS DA TERAPIA FOTODINÂMICA
ANTIMICROBIANA NO TRATAMENTO NÃO-CIRURGICO DA
PERIODONTITE CRÔNICA**

Dissertação apresentada à Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy” - UNIGRANRIO como parte dos requisitos parciais para a obtenção do grau de Mestre em Odontologia

Area de concentração:
Periodontia.

Orientadora:
Dra. Professora Denise Gomes da Silva

Duque de Caxias

2009

CATALOGAÇÃO NA FONTE/BIBLIOTECA – UNIGRANRIO

F312a Feldman, Bianca Calil.

Avaliação clínica dos efeitos da terapia fotodinâmica antimicrobiana no tratamento não-cirúrgico da periodontite crônica / Bianca Calil Feldman. - 2009.

94 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado em Periodontia) – Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”, Escola de Ciências da Saúde, 2009.

“Orientadora: Prof^ª. Denise Gomes da Silva.

”Bibliografia: p. 65-74.

1. Odontologia. 2. Periodontia. 3. Periodontite. 4. Doenças periodontais-Terapia. 5. Fotoquimioterapia. I. Silva, Denise Gomes da. II. Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”. III. Título.

CDD –617.6

Este trabalho reflete a opinião do autor, e não necessariamente a da Associação Fluminense de Educação – AFE.

Autorizo a difusão deste trabalho

Bianca Calil Feldman

**AVALIAÇÃO CLÍNICA DOS EFEITOS DA TERAPIA FOTODINÂMICA NO
TRATAMENTO NÃO-CIRÚRGICO DA PERIODONTITE CRÔNICA.**

Dissertação apresentada à
Universidade do Grande Rio "Prof. José
de Souza Herdy", como parte dos
requisitos parciais para obtenção do
grau de Mestre em Odontologia.

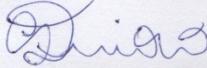
Área de concentração: Periodontia

Aprovado em 10 de novembro de 2009.

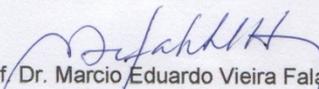
Banca examinadora


Prof. Dr. Gerdal Roberto de Sousa

Faculdade de Estudos Administrativos de Minas Gerais (FEAD)


Prof. Dr. Eduardo Muniz Barretto Tinoco

Universidade do Grande Rio (UNIGRANRIO)


Prof. Dr. Marcio Eduardo Vieira Falabella

Universidade do Grande Rio (UNIGRANRIO)

*Aos meus pais, Alberto e Sandra,
e à minha irmã Patricia.*

AGRADECIMENTOS

À Prof^a Dr^a. Denise Gomes da Silva pela orientação, dedicação, e por acreditar em mim para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Gerdal Roberto de Sousa, pelo incentivo e importantes sugestões e colaboração dadas para elaboração deste trabalho.

Aos professores Eduardo Muniz Barretto Tinoco, Márcio Eduardo Vieira Falabella, Henrique Guilherme de Castro Teixeira, e Celso Renato de Souza Resende por compartilharem seus conhecimentos em vários momentos deste curso e pesquisa, pelo excelente ambiente proporcionado e grande amizade ao longo destes anos.

Aos meus amigos Léo Guimarães Soares e Roberto Guaitolini, pela amizade ao longo destes anos, foram meu braço direito, durante todas as fases deste trabalho, me estimulando e auxiliando a seguir em frente.

Aos meus colegas de curso, Lisiane Castagna, Ana Maria Miranda, Leandro Bastos, Joana Bordalo, Alexandre Madalena, Max Túlio.

Ao meu amigo “Seu” Zé, pelo grande apoio e incentivo, me fazendo crer que mais esta etapa da minha vida eu venceria.

À todos os voluntários desta pesquisa, pois graças a eles foi possível a realização deste trabalho.

Aos funcionários da UNIGRANRIO, pela colaboração.

À MMOptics e Aptivalux Bioengenharia LTDA., por ter cedido o material necessário para realização deste trabalho.

À todas as pessoas que direta ou indiretamente auxiliaram na concretização deste trabalho.

RESUMO

A terapia fotodinâmica (PDT) envolve a tríade luz, agente fotossensibilizador e oxigênio. Quando combinados, produzem agentes citotóxicos que podem ocasionar a morte celular, o que pode representar uma alternativa promissora na redução de certos periodontopatógenos, e conseqüentemente, no tratamento da periodontite. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos clínicos da PDT adjunta ao tratamento não-cirúrgico da periodontite crônica. Em um estudo randomizado controlado, foram incluídos 15 pacientes com periodontite crônica, com no mínimo cinco sítios com profundidade de bolsa sondagem e nível de inserção clínica ≥ 5 mm. Todos os pacientes receberam terapia periodontal não-cirúrgica. Utilizando um modelo de boca dividida, o Lado teste recebeu tratamento adicional com PDT (azul de metileno 0,01% + Laser de diodo 660 nm). Foram avaliados os parâmetros clínicos de profundidade de bolsa a sondagem (PBS), Nível de inserção clínica (NI) e Sangramento a sondagem (SS), no início e 30, 60 e 90 dias após a terapia. Os resultados obtidos através do estudo clínico demonstraram que houve melhoria estatisticamente significativa nos parâmetros clínicos investigados, nos Lados Teste e Controle, quando comparado as medidas iniciais com os três períodos avaliados. No entanto, na comparação intergrupos, não houve diferenças estatísticas para PBS e NI. No parâmetro SS, houve diferença estatística entre os grupos para o período de 60 dias ($p = 0,048$). A aplicação adjunta da PDT ao tratamento periodontal não-cirúrgico não mostrou efeito adicional na melhoria dos níveis clínicos avaliados.

Palavras-chave: Periodontite Crônica; Terapia periodontal não-cirúrgica; Terapia fotodinâmica.

ABSTRACT

Photodynamic therapy (PDT) basically involves a triad of light, a photosensitizer and oxygen. When combined they can produce cytotoxic agents that can cause cell death, which may represent a promising alternative for the reduction of certain periodontal pathogens, and therefore the treatment of periodontitis. The aim of this study was to evaluate the clinical effect of adjunctive PDT in the nonsurgical treatment of chronic periodontitis. A randomized-controlled trial, 15 patients with chronic periodontitis were included, and exhibited at least five periodontal pockets and clinical attachment level ≥ 5 mm. All patients received non-surgical periodontal treatment. Using a split-mouth design, test side were additionally treated with a PDT (methylene blue 0,01% + Diode Laser 660 nm). Probing pockets depth (PB), Clinical attachment levels (CAL) and Bleeding on probing (BOP) were assessed at baseline, 30, 60 and 90 days after therapy. The statistical results showed that all clinical parameters were significantly reduced in test and control sides after therapy. However, the intergroup difference was not significant for PBS and CAL. BOP was statistical difference intergroups in the 60 days later ($p = 0,048$). The additional application of a PDT to nonsurgical periodontal treatment was not effective. There were no extra reductions in PBS, CAL and BOP.

Key words: Chronic periodontitis; Nonsurgical periodontal therapy; Photodynamic therapy.

"A mente que se abre a uma
nova idéia jamais voltará
ao seu tamanho original."

(Albert Einstein)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.	Modelo de KARU. Ação foto-química do laser visível na cadeia redox da mitocôndria. Ação foto-física do laser infravermelho na membrana celular. Ambos desencadeiam uma resposta celular, que gera uma cascata bioquímica de reações.....	26
Figura 2.	Aplicação da terapia fotodinâmica numa bolsa periodontal. A- sonda periodontal, configurando a presença de bolsa periodontal, e caracterização da presença de bactérias periodontopatogênicas; B- Aplicação do fotossensibilizador no interior da bolsa periodontal com auxílio de uma seringa e a absorção do corante pelas bactérias; C- Irradiação com laser em baixa intensidade, no visível, por fora da bolsa periodontal.....	29
Figura 3.	Diagrama de Jablonski.....	31
Figura 4.	Mecanismo de ação da PDT.....	32
Figura 5.	Representação da estrutura química da molécula azul de metileno.....	37
Figura 6.	Kit corante azul de metileno 0,01%	55
Figura 7.	Aplicação do corante azul de metileno 0,01% no interior da bolsa periodontal.....	55
Figura 8.	Laser de diodo em baixa intensidade (TwinFlex [®] ; MMOptics; Brasil).....	56
Figura 9.	Aplicação do Laser de diodo de diodo em baixa intensidade (TwinFlex [®] ; MMOptics; Brasil), emitindo no vermelho do espectro eletromagnético, com a ponta ativa posicionada 90 ⁰ em relação ao longo eixo do sítio.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Características da amostra, com número de dentes, idade, sexo e número de sítios com profundidade de bolsa ≥ 5 mm nos dentes uniradiculares.....	59
Tabela 2.	Número de sítios com PBS e NI ≥ 5 mm e ≥ 7 mm, e com sangramento a sondagem positivo nos lados teste e controle.....	60
Tabela 3.	Médias (Desvio-Padrão) da profundidade de bolsa a sondagem inicial, com 30, 60 e 90 dias dos lados teste e controle.....	60
Tabela 4.	Médias (Desvio-Padrão) do nível de inserção inicial, com 30, 60 e 90 dias dos lados teste e controle.....	61
Tabela 5.	Médias e Desvio-Padrão do sangramento à sondagem inicial, com 30, 60 e 90 dias dos lados teste e controle.....	61
Tabela 6.	Médias e Desvios-Padrão do resultado (regressão) das terapias nos grupos teste e controle nos sítios com profundidade de bolsa à sondagem ≥ 5 mm, em todos os intervalos de tempo ($\alpha=0,05$).....	61

LISTA DE ABREVIATURAS

$^1\text{O}_2$: Oxigênio no estado singleto

$^3\text{O}_2$: Oxigênio no estado tripleto

Aa: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

AAP: American Academy of Periodontology

ADP: Difosfato de adenosina

Al: Alumínio

AlPcS₂ : Ftalociacina dissulfonada de alumínio

AM: Azul de Metileno

AsGa: Arseneto de gálio

AsGaAl: Arseneto de Gálio-Alumínio

ATP: Trifosfato de adenosina

ufc/ml: Unidade formadora de colônia por mililitro

cm: Centímetro

Cr: *Campylobacter rectus*

Cs: *Capnocytophaga* spp

DNA: Ácido desoxirribonucleico

DP: Desvio-padrão

Ec: *Eikenella corrodens*

Em: *Eubacterium nodatum*

EROs: Espécies reativas de oxigênio

Fn: *Fusobacterium nucleatum*

h. : Horas

H₂O₂: Peróxido de hidrogênio

HeNe: Hélio-neônio

IL-1 β : Interleucina-1 beta

InGaAIP: Fosfato de Índio-Gálio-Alumínio

J/cm²: Joules por centímetro quadrado

Laser: *Ligh amplification stimulated emission of radiation* (amplificação da luz por emissão estimulada de radiação)

LEDs: *Light Emitting Diode* (Diodos Emissores de Luz)

mg/ml: Miligramas por mililitro

min: Minuto
mJ: Milijoules
ml: Mililitro
mm: Milímetro
mm²: Milímetro quadrado
MMP-8: Metaloproteinase-8
mW/cm²: Miliwatts por centímetro quadrado
mW: Miliwatts
NI: Nível de inserção
nm: Nanômetro
O₂⁻: Superóxidos
OH⁻: Radicais hidroxila
PBS: Profundidade de bolsa à sondagem
PDT: Photodynamic Therapy (Terapia Fotodinâmica)
Pg: Porphyromonas gingivalis
Ph: P otencial Hidrogenionico
Pi: Prevotella intermédia
Pm: Parvimonas micra
ROO⁻: Peróxidos ânion
S₁: Estado singleto
Seg.: Segundos
SS: Sangramento à sondagem
T₁: Estado tripleto
TBO: Azul de toluidina O
Td: Treponema denticola
Tf: Tannerella forsythia
W/cm²: Watts por centímetro quadrado
W: Watts
µg/ml: Microgramas por mililitro
µl: Microlitro
µm: Micrômetro
µs: Microsegundo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	TERAPIA PERIODONTAL NÃO-CIRÚRGICA	19
2.2	LASER.....	21
2.2.1	Definição e Histórico.....	21
2.2.2	Características da Luz Laser.....	23
2.2.3	Tipos de Laser.....	23
2.2.3.1	Laser Cirúrgico.....	23
2.2.3.2	Laser Terapêutico.....	24
2.2.4	Mecanismo de Ação da Laserterapia.....	25
2.2.4.1	Laser Vermelho e Infravermelho.....	26
2.2.5	Efeitos da Laserterapia.....	27
2.3	TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA.....	28
2.3.1	Definição e Histórico	28
2.3.2	Mecanismo de Ação da Terapia Fotodinâmica	30
2.3.3	Fonte de luz na terapia fotodinâmica.....	33
2.3.3.1	Parâmetros da luz Laser.....	34
2.3.3.1.1	Energia.....	34
2.3.3.1.2	Potência.....	34
2.3.3.1.3	Irradiância, Densidade de potência.....	34
2.3.3.1.4	Fluência, Dosimetria, Densidade de energia.....	35
2.3.3.1.5	Comprimento de Onda.....	35
2.3.4	Fotossensibilizadores	35
2.3.4.1	Fotossensibilizadores Fenotiazínicos	36
2.3.4.2	Concentração e Tempo de pré-irradiação	38
2.3.5	Terapia fotodinâmica antimicrobiana na Periodontia.....	38
2.3.5.1	Estudos “ <i>in vitro</i> ”	38
2.3.5.2	Estudos “ <i>in vivo</i> ”	44
2.3.5.3	Estudos Clínicos	47
3	OBJETIVO	52

4	MATERIAIS E MÉTODOS	53
5	TRATAMENTO DOS DADOS	58
6	RESULTADOS	59
7	DISCUSSÃO	62
8	CONCLUSÃO	65
	REFERÊNCIAS	66
	ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Grande Rio	75
	ANEXO B - Formulário de Consentimento Livre e Esclarecido	76
	ANEXO C - Tabela com as medidas dos parâmetros clínicos inicial, com 30, 60 e 90 dias de cada paciente nos elementos selecionados para o estudo	78

1 INTRODUÇÃO

As doenças periodontais são patologias infecto-inflamatórias causadas por bactérias periodontopatogênicas presentes no biofilme dental, podendo afetar indivíduos de todas as idades (LÖE *et al.*, 1986). A presença destas bactérias, leva a uma resposta do hospedeiro, potencialmente destrutiva, gerando condições patológicas nas estruturas de suporte dos dentes, representadas pela degradação do colágeno e reabsorção do osso alveolar (LANG & TONETTI, 1996).

O biofilme dental é considerado agente primário na etiologia da periodontite, mas apenas sua presença não é suficiente para modular o curso da doença; fatores genéticos, ambientais e do hospedeiro (ex.: higiene oral, tabagismo, estresse emocional, diabetes melito) também são responsáveis pela sua progressão (FLEMMING, 1999). Em resposta aos patógenos periodontais e suas endotoxinas, células imunológicas do periodonto ativam-se para produzir grandes quantidades de citocinas, como as prostaglandinas, principalmente a E₂, a interleucina-1, fator de necrose tumoral e metaloproteinases, que ao mesmo tempo pode levar a destruição do tecido conjuntivo periodontal e degeneração óssea (PAGE *et al.*, 1997).

Estudos transversais e longitudinais (com e sem tratamento) apoiaram o conceito de que a periodontite crônica está associada com agentes bacterianos específicos. O Workshop Mundial de Periodontia de 1996, concluiu que existem evidências suficientes para considerar três microorganismos como agentes etiológicos da periodontite crônica: *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. salientando que estes últimos podem invadir os tecidos do hospedeiro (FLEMMING, 1999; NEWMAN *et al.*, 2007).

A periodontite crônica é a forma mais comum de periodontite e sua prevalência (80%) e severidade aumentam com a idade, geralmente afetando ambos os sexos. Na maioria dos casos a doença tem progressão lenta podendo ocorrer rápidos e breves surtos. Pode ser classificada em relação a sua extensão (número de sítios envolvidos) em localizada ou generalizada, e quanto a severidade (quantidade de perda de inserção) em leve moderada e severa (BROWN *et al.*, 1993; AAP, 1999; FLEMMING, 1999; BORREL *et al.*, 2005).

As características clínicas observadas em pacientes com diagnóstico de periodontite crônica não tratada, incluem: acúmulo de placa e cálculo supra e subgengival, compatíveis com a quantidade de destruição; presença de inflamação gengival; bolsa periodontal; perda de inserção clínica; perda óssea alveolar; sangramento gengival espontâneo ou em resposta à

sondagem, e ocasionalmente supuração e mobilidade dentária em casos avançados. (ARMITAGE, 1999).

Uma vez que a presença do biofilme é o fator primário que desencadeia a doença periodontal, sua remoção ou desorganização, passa a ser o principal objetivo no tratamento da doença. Juntamente com a instrução de higiene oral e controle de placa, a instrumentação periodontal (raspagem supra/subgingival e alisamento radicular) representam os principais passos no tratamento não-cirúrgico da periodontite (NEWMAN *et al.*, 2007). Os efeitos benéficos deste tipo de tratamento têm como resultado a redução do número de microorganismos subgingivais e a melhoria nos parâmetros clínicos de profundidade de bolsa (PBS), nível de inserção clínica (NI), índice de placa (IP), sangramento à sondagem (SS) e supuração. (AXELSON & LINDHE, 1981; HELLSTROM *et al.*, 1996; XIMENEZ-FYVIE *et al.*, 2000; PAWLOWSKI *et al.*, 2005).

Apesar da terapia periodontal não cirúrgica mostrar resultados significativos na grande maioria dos casos de periodontite crônica, nenhuma das técnicas, atualmente disponíveis, são eficazes para eliminar totalmente as bactérias subgingivais. Esta limitação pode ser atribuída a vários fatores, tais como a complexa anatomia dentária (áreas de furca e concavidades), limitações mecânicas relacionados ao tamanho do instrumental e destreza do operador, especialmente em bolsas periodontais profundas, e a possível recolonização da bolsa periodontal, principalmente, por bactérias que são capazes de invadir os tecidos moles circundantes (*A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis*) ou por outros sítios ou nichos intra-oral (CRISTODOULIDES, 2008).

Sendo assim, terapias coadjuvantes ao tratamento mecânico têm sido propostas, como o uso de antimicrobianos ou anti-sépticos locais e sistêmicos (QUIRYNEN *et al.*, 2002; SLOTS, 2002). Os antibióticos podem ser administrados sistemicamente no tratamento periodontal, devendo ser específico aos periodontopatógenos, alogênicos e atóxicos, possuindo substantividade e de preferência que não seja utilizado com frequência em outros tratamentos (TINOCO *et al.*, 1998; WALKER *et al.*, 2002). A escolha de antibióticos enfrenta dificuldades para atingir todos os microorganismos associados as desordens periodontais, muitos não conseguem inibir todos os patógenos periodontais. Deste modo existe a necessidade de uma associação de antibióticos para tentar eliminar tais patógenos. Uma combinação bastante investigada é a do metronidazol com amoxicilina, que tem produzido melhores resultados clínicos e microbiológicos do que a utilização separada de cada antibiótico como adjunto à instrumentação periodontal (TINOCO *et al.*, 1998; WALKER *et al.*, 2004). Porém, os usos destas substâncias locais e sistêmicas apresentam problemas, como

a dificuldade em manter estáveis as concentrações terapêuticas do agente dentro da bolsa periodontal, por tempo suficiente para assegurar a erradicação dos microorganismos presentes e o crescente desenvolvimento de mecanismos de resistência pelo uso freqüente e desordenado destes antibióticos (WALKER, 1996; FERES *et al.*, 2002).

Portanto, novas terapias antimicrobianas têm sido preconizadas. Neste contexto se insere a terapia fotodinâmica (PDT, do inglês *Photodynamic therapy*) onde um agente fotosensibilizador (corante), liga-se à célula alvo e é ativado por uma luz com comprimento de onda específico, ressonante ao agente fotossensibilizador. Neste processo formam-se radicais livres ou oxigênio singleto, que resultam em efeitos tóxicos para a célula (PFITZNER *et al.*, 2004; MEISEL & KOCHER, 2005; KONOPKA & GOSLINSKI, 2007). Teoricamente, nem a luz nem o agente fotossensibilizador sozinhos são capazes de induzir efeitos citotóxicos sobre as células (TAKASAKI *et al.*, 2009).

Com a descoberta e desenvolvimento dos lasers, que possuem características particulares, como monocromaticidade, coerência e colimação, esta fonte de luz provou ser mais eficiente para promover a terapia fotodinâmica do que outras fontes de luz. Os LEDs (*Light Emitting Diode* – Diodos Emissores de Luz) são uma outra fonte de luz alternativa, e difere do laser por ter seu feixe de luz divergente. (ACKROYD *et al.*, 2001).

A maioria das bactérias orais não absorvem a luz visível de alguns tipos de laser de baixa potência. Portanto, um agente de absorção óptica não-tóxico é utilizado para que se fixe à parede bacteriana, atraindo para si o laser no momento da irradiação. Isso é essencial para que se tenha ação antimicrobiana sobre as bactérias orais (ZANIN & GONÇALVES, 2003). Diversos agentes fotosensibilizadores são utilizados na PDT. No entanto, os corantes fenotiazínicos (azul de metileno e azul de toluidina O), são os de escolha no tratamento da periodontite e periimplantite, pois tem demonstrado um alto grau de seletividade para causar danos a bactérias gram-positivas e gram-negativas (WILSON *et al.*, 1992; WILSON, 1993; USACHEVA *et al.*, 2001).

O sucesso do PDT na eliminação de microorganismos o indica como uma terapia coadjuvante para infecções microbianas localizadas, como a doença periodontal (JORI, 2006; KÖMERIK & MACROBERT, 2006). Estudos “*in vitro*” (SARKAR & WILSON, 1993; CHAN & LAI, 2003; SOUSA, 2007) e “*in vivo*” (KÖMERIK *et al.*, 2000; KÖMERIK *et al.*, 2003; SIGUSH *et al.*, 2005; de ALMEIDA *et al.*, 2007; de OLIVEIRA *et al.*, 2007; ANDERSEN *et al.*, 2007; BRAUN *et al.*, 2008; CHRISTODOULIDES *et al.*, 2008; QIN *et al.*, 2008; POLANSKY *et al.*, 2009) avaliaram a ação da terapia fotodinâmica, sobre bactérias periodontopatogênicas que foram expostas a diferentes comprimentos de onda e

fotossensibilizadores, resultando em uma ação antimicrobiana eficiente de 99%. Clinicamente, foi observado redução na profundidade de bolsa, níveis de inserção e sangramento à sondagem. Documentando assim a validade da terapia fotodinâmica como alternativa do tratamento periodontal.

Em vista disso, o objetivo do presente estudo foi avaliar, clinicamente, a ação antimicrobiana da terapia fotodinâmica no tratamento não-cirúrgico da periodontite crônica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TERAPIA PERIODONTAL NÃO-CIRURGICA

A raspagem e instrumentação radicular visam remover o biofilme e o cálculo, o alisamento radicular tem como objetivo a remoção de cemento contaminado com toxinas ou microrganismos. Esses procedimentos devem promover a descontaminação da superfície radicular com mínima remoção de estrutura dental. (AAP, 2001)

Podem ser realizados através de instrumentação manual ou ultrasonica, com estudos mostrando a efetividade de ambos (BADERSTEIN *et al* 1984) na redução da inflamação gengival e profundidade de bolsa a sondagem e ganho de inserção clínica, apresentando acesso facilitado a bolsas profundas e áreas de furca (LEON & VOGEL, 1987). Resultados semelhantes entre a instrumentação manual e ultrasônica foram relatados por SCULEAN *et al.* (2004) através de uma avaliação clinica por seis meses, que constou de índice de placa, sangramento a sondagem, profundidade de bolsa a sondagem e nível de inserção.

A maioria dos estudos realizados para avaliar os resultados da terapia não cirúrgica mostrou seu sucesso no controle da doença periodontal, embora CLAFFEY & EGELBERG (1995) tenham demonstrado que os sítios rasos tendem a perder inserção após a raspagem, sendo este fato decorrente do trauma tecidual causado pela instrumentação e trauma de escovação.

Em um trabalho clássico da literatura, BADERSTEIN *et al.* (1984, 1987) avaliaram o efeito da instrumentação supra e subgengival nos dentes não molares em 49 pacientes com periodontite crônica severa, e concluíram que a raspagem foi efetiva para bolsas rasas, médias e profundas, não havendo diferenças no número de instrumentações e havendo maior ganho de inserção em bolsas com profundidade maior. Em média a cicatrização foi completada no prazo de três meses. CUGINI *et al.* (2000) a partir de uma avaliação em 32 pacientes durante um ano, confirmaram que a maioria das melhorias clínicas ocorreu após os primeiros três meses da terapia periodontal e depois se estabilizaram.

Com o objetivo de avaliar os resultados radiográficos desta terapia MACHTEI *et al* (1998) fizeram um estudo examinando a resposta radiográfica e clínica da terapia mecânica periodontal, em um período de 15 meses, em 108 pacientes com periodontite crônica. A média de redução da PBS foi de 0,5 mm e a de ganho de inserção de 0,44 mm. O total de

sítios com ganho de inserção foi de 16,6%. A avaliação radiográfica digitalizada mostrou um ganho de altura óssea alveolar em 11,8% dos sítios.

Os resultados da terapia periodontal não cirúrgica se mostraram menos satisfatórios em dentes não molares e em lesões de furca. NORDLAND *et al* (1987) estudaram o efeito da terapia não cirúrgica em 19 pacientes nos dentes molares e não molares e nas superfícies lisas e furcas dos molares, durante 24 meses e mostraram maior perda de inserção nos molares e pior cicatrização nas áreas de furcas e bolsas com profundidades maiores. LOSS *et al* (1989) confirmaram estes achados em áreas de furca em um estudo que comparou o resultado obtido com raspagem subgingival em molares e não molares. Realizou profilaxia a cada três meses durante dois anos e observaram que a região da furca teve mais perda de inserção e aumento da profundidade de bolsa e que as superfícies lisas dos molares responderam de forma semelhante aos dentes uniradiculares, durante o período observado.

Em relação aos defeitos ósseos, RENVERT *et al* (1990) concluíram ao tratar defeitos periodontais infraósseos em 12 pacientes, através de raspagem subgingival isolada (21 defeitos) e por cirurgia a retalho (21 defeitos), que o tratamento cirúrgico teve melhores resultados na redução da profundidade de bolsa e ganho de nível de inserção, reforçando a dificuldade de instrumentação subgingival em áreas de defeitos ósseos.

A terapia periodontal não-cirúrgica leva a modificação dos níveis bacterianos nos sítios periodontais doentes. HAFFAJEE *et al.* (1997) avaliaram o efeito da raspagem e alisamento radicular em 57 indivíduos com periodontite crônica, nos aspectos clínicos e microbiológicos, durante 9 meses. Sítios com profundidade a sondagem acima de 6 mm mostraram diminuição significativa na sua profundidade e nível de inserção após a terapia. Houve redução dos níveis bacterianos; a redução em média da prevalência de *P.gingivalis* foi similar em todas as profundidades de bolsa (rasas, médias e profundas) enquanto o *T. forsythia* diminuiu mais nos sítios rasos e médios. MULLER *et al.* (1986) também relataram redução de profundidade a sondagem e mudanças na composição da flora subgingival, após a raspagem subgingival em 10 indivíduos com periodontite crônica.

O número de *P. gingivalis*, *P. intermedia* e *Aa* foram correlacionados por DOUNGUDOMDACHA *et al* (2001) com parâmetros clínicos em sítios periodontais saudáveis e com doença periodontal, antes e após terapia periodontal não-cirúrgica. A contagem de *P. gingivalis* foi associada estatisticamente com a profundidade de sondagem e perda de inserção. Houve uma melhoria significativa na profundidade de sondagem dos sítios profundos, mas não em outros parâmetros clínicos, após a terapia periodontal não cirúrgica.

Duas revisões bem fundamentadas confirmaram os resultados efetivos da terapia periodontal não-cirúrgica. VAN DER WEIJDEN & TIMMERMAN (2002) avaliaram através de uma revisão sistemática, o efeito do debridamento subgengival em pacientes com periodontite crônica em relação aos parâmetros clínicos de sangramento à sondagem, nível de inserção e profundidade de sondagem. A média de ganho de inserção nas bolsas com PBS \geq 5mm foi de 0,64 mm e da redução da profundidade de bolsa foi de 1,18 mm. Concluíram que o debridamento subgengival (em conjunto com o controle de placa supragengival) é um tratamento eficaz na redução da PBS e ganho de NI. COOB (1996) através de uma revisão apoiada em evidências, calculou que a média de redução de profundidade a sondagem para bolsas periodontais rasas (até 3 mm) foi de 0,03 mm, para bolsas de profundidade moderada (entre 4 e 6 mm) de 1,29 mm e para bolsas profundas (acima de 7 mm), de 2,16 mm. Na avaliação do nível de inserção clínica, os sulcos rasos mostraram tendência a perda de inserção de 0,34 mm, e para sítios com profundidade de bolsa a sondagem moderada e profunda, verificou ganhos de inserção de 0,55mm e 1,29 mm respectivamente.

O controle de placa foi considerado fundamental por MAGNUSSON *et al.* (1984) para o sucesso dos resultados da terapia não-cirúrgica. Estudaram o efeito da raspagem subgengival associada ou não ao controle de placa, durante 52 semanas, observaram que a manutenção dos resultados obtidos após a terapia não eram mantidos naqueles pacientes que não realizaram um controle efetivo de placa.

2.2 LASER

2.2.1 Histórico e Definição:

Desde os primórdios a luz vem sendo utilizada por animais e plantas, sendo responsável por nossa própria existência neste planeta. A energia luminosa era utilizada para finalidades curativas por antigas civilizações, como a egípcia, indiana, grega, romana, árabe, entre outras. Já no século XIX, mais precisamente em 1903, o prêmio Nobel de medicina foi destinado ao Dr. Nielo Ryberg Finsen pelo tratamento realizado com a luz solar em um paciente que apresentava um tipo de tuberculose de pele.

Albert Einstein (1916) postulou a primeira teoria sobre laser: “os princípios da amplificação da luz por emissão estimulada de radiação”, que serviu de base para o desenvolvimento de outras pesquisas sobre a luz laser. Com isso foi criada a palavra LASER, que é um acrônimo da expressão inglesa *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*, ou seja, Amplificação de luz por emissão estimulada de radiação.

A teoria se tornou realidade quando o físico Theodore Maiman, em 1960, desenvolveu o primeiro aparelho emissor de laser de cristal de rubi, que pode emitir um feixe de luz vermelha com pulsos ultra-curtos, intensos e poderosos. Esta luz no espectro do visível é tão forte que foi capaz de abrir um buraco através de muitas pilhas de lâminas de navalha. No ano seguinte foi realizada a primeira intervenção cirúrgica com o laser, no Hospital Presbiteriano de Nova York, para a retirada de um pequeno tumor de retina que impedia a visão.

Em 1964, Goldman *et al.* demonstraram o efeito do laser de rubi na cárie dental e, em 1965, Goldman *et al.* verificaram as modificações *in vitro* e *in vivo*, macro e microscópicas, ocorridas no esmalte dentário após aplicação do laser de rubi. Kinersly *et al.* (1965) descreveram o modo de ação do laser sólido de rubi, além de comentarem sobre alguns experimentos na área odontológica. Lobene e Fine (1966) também avaliaram a ação do laser de rubi em dentes humanos extraídos. Os autores relataram que quanto mais alta a energia utilizada, maior a profundidade de penetração do laser e que alta taxa de fluência pode produzir rápido e intenso aquecimento do esmalte no local da aplicação. Além disso, enfatizaram a necessidade de proteção ocular tanto do paciente quanto do operador (GENOVESE, 2007).

Em 1965, Sinclair e Knoll desenvolveram o laser terapêutico com efeito de bioestimulação dos tecidos. Em 1969, Endre Mester, utilizou o laser em baixa intensidade para promover alívio da dor e aceleração no processo de cicatrização em úlceras varicosas e de decúbito (GENOVESE, 2007).

É uma radiação não ionizante, sendo uma fonte luminosa com características bastante específicas, as quais confere a este tipo de luz propriedades terapêuticas importantes (AOKI, 2004).

2.2.2 Características do Laser

As radiações ópticas produzidas pelos diversos tipos de lasers têm basicamente as mesmas características, pois são geradas através do mesmo princípio, entretanto, pode-se trabalhar com o laser buscando resultados clínicos bastante específicos, pois o que determina sua interação com o tecido biológico é a densidade de potência óptica do sistema e o comprimento de onda (COBB, 2006).

O laser é uma luz pura, pois possui fótons da mesma cor, mesmo comprimento de onda, mesma frequência e energia, característica conhecida como monocromaticidade. É também coerente, devido à emissão estimulada que gera fótons que se propagam na mesma direção no tempo e no espaço. Além disso, o feixe de luz laser é unidirecional, característica conhecida como colimação. Por ser paralela ao eixo do tubo que produz este tipo de energia, o feixe laser possui divergência angular muito pequena. Essa pequena divergência permite que, por meio de um sistema de lentes se consiga concentrar toda a energia do laser de uma forma precisa em um ponto focal (GENOVESE, 2007).

2.2.3 Tipos de Laser

Na literatura a classificação dos lasers é baseada na interação do laser com o tecido biológico. São divididos em: baixa e alta intensidade, sendo as principais diferenças entre eles relacionadas à potência e o mecanismo de ação. (AOKI, 2004).

2.2.3.1 Laser Cirúrgico

O laser cirúrgico é conhecido como laser de alta potência, laser ablativo, *hardlaser*, laser de alta intensidade de energia (*HILT-High Intensity Laser Treatment*). Causa fotodestruição celular por elevação da temperatura do tecido com ação fototérmica que desnatura o conteúdo protéico da célula, o que determina propriedades de corte, coagulação, vaporização do conteúdo hídrico da célula e carbonização do tecido. À temperatura de 45°C,

nenhuma alteração orgânica ocorre e não há dano tecidual irreversível; entre 45°C e 50°C, alterações enzimáticas ocorrem e há desenvolvimento de edema; temperatura acima de 60°C por poucos segundos resulta em desnaturação protéica do tecido. Entre 90°C e 100°C, o citoplasma celular vaporiza e segue-se ressecamento e retração do tecido, a temperatura aumenta rapidamente a várias centenas de graus e, então, carboniza, vaporiza e queima. Os três componentes mais comuns desse grupo são os lasers de argônio, de CO₂ e Nd-YAG (COBB, 2006).

2.2.3.2 Laser Terapêutico

Os Lasers terapêuticos, são talvez, os mais estudados mundialmente. Atualmente, no que diz respeito à nomenclatura, utiliza-se o termo laserterapia (“*lasertherapy*”), ao invés de terapia com laser de baixa potência (“*Low Power Laser Therapy*”) ou terapia com laser em baixa intensidade (“*Low Intensity Laser Therapy*”). Denomina-se laserterapia quando se utiliza a luz laser na região do vermelho ou do infra-vermelho próximo, em baixa intensidade (TUNER e HODE, 2007).

Os lasers terapêuticos mais comumente empregados são o He-Ne e o diodo. O He-Ne foi o primeiro laser gasoso desenvolvido e o primeiro a emitir, de forma contínua, raios com comprimento de onda: 632,8 nm (vermelho). Já o laser diodo, é uma radiação obtida através da estimulação de um diodo semicondutor que funciona como um diodo elétrico, com comprimento de onda variando entre 620 nm a 904 nm nos espectros vermelho e infravermelho, que são determinados pelo tipo de material semicondutor utilizado. Na maioria dos semicondutores, a energia é liberada na forma de calor, porém, em materiais como o gálio, o alumínio e o arsênio, é liberada na forma de fótons. Os lasers mais comuns são variações do gálio: arseneto de gálio-alumínio (AsGaAl), que emite um espectro na faixa do vermelho/infravermelho, ou o fosfeto arseneto de gálio-índio (InGaAsP), que emite espectro visível de luz vermelha (685 nm) (GENOVESE, 2007).

Estes tipos de lasers não são capazes de causar mutações por ação direta sobre o DNA, pois a energia desses fótons é muito baixa para causar ruptura das ligações covalentes da molécula. O DNA e o RNA também não têm banda de absorção na região do espectro visível. As mutações podem ser causadas por agentes secundários, como espécies reativas de oxigênio (EROs), como o ânion superóxido (O₂⁻) e o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), que são gerados

na atividade normal da mitocôndria. A ação mutagênica decorreria do efeito dessas EROs diretamente na área irradiada, sendo que o resultado pode aparecer nas células descendentes (KARU, 2007).

O laser diodo semiconductor arseneto de gálio (AsGa) atua no infravermelho e varia de 830 nm a 920 nm. A adição de alumínio (Al) à mistura de arseneto de gálio permite a produção de lasers visíveis na faixa do vermelho, constituindo o laser diodo semiconductor AsGaAl, que apresenta comprimento de onda desde o vermelho ao infravermelho, variando entre 620 e 830 nm. Os aparelhos são práticos, pequenos, fáceis de utilizar e o laser possui ação na biomodulação celular (GENOVESE, 2007).

O laser de He-Ne, se destaca em lesões superficiais, já os lasers AsGa, AsGaAl, InGaAlP, permitem aplicações terapêuticas em lesões mais profundas (GENOVESE, 2007).

2.2.4 Mecanismo de Ação da Laserterapia

Os mecanismos de ação da laserterapia estão relacionados a mitocôndria, organela responsável pela produção de ATP (trifosfato de adenosina). A mitocôndria é uma estrutura que produz a energia necessária para a célula funcionar. A matriz mitocondrial apresenta enzimas essenciais para as reações usadas na geração de energia e com partículas de síntese do ATP. A energia é armazenada na forma de ATP. Quando a célula precisa de energia, o ATP é convertido em ADP (difosfato de adenosina), que libera energia para a célula. O incremento de ATP mitocondrial que se produz após a irradiação com laser, favorece um grande número de reações que intervêm no metabolismo celular. O laser irá interferir no processo de troca iônica, acelerando o incremento de ATP, sobretudo quando a célula está em desordem funcional. (KARU, 2007)

A laserterapia produz mudanças fotoquímicas nos fotorreceptores das mitocôndrias, que alteram o metabolismo conduzindo a transdução (processo de transferir energia de um sistema para o outro) do sinal a outras partes da célula (incluindo membranas), que finalmente conduzem a foto-resposta (biomodulação).

2.2.4.1 Laser Vermelho e Infravermelho

O laser visível provavelmente inicia a cascata de eventos na cadeia respiratória das mitocôndrias, por evento fotoquímico, ou seja, há uma direta ativação da síntese de enzimas e essa luz tem como primeiro alvo os lisossomos e as mitocôndrias da célula (Figura 1) (KARU, 2007). As organelas não absorvem a luz infravermelha, apenas as membranas apresentam resposta a este estímulo, sendo assim, as alterações no potencial de membrana, induzem a efeitos fotofísico e fotoelétrico, causando excitação de elétrons, vibração e rotação de parte da molécula ou como um todo, que se traduzem intracelularmente, no incremento da síntese de ATP (Figura 1) (KARU, 2007).

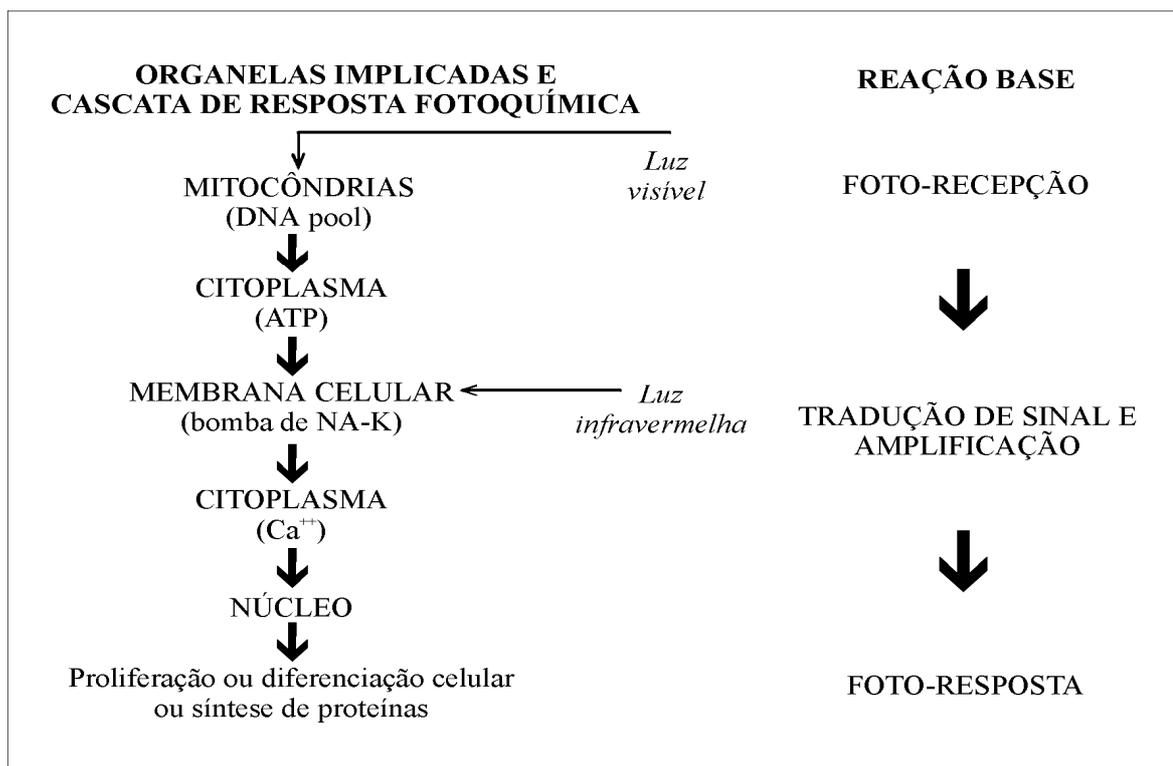


FIGURA 1 - Modelo de KARU. Ação foto-química do laser visível na cadeia redox da mitocôndria. Ação foto-física do laser infravermelho na membrana celular. Ambos desencadeiam uma resposta celular, que gera uma cascata bioquímica de reações.

FONTE: www.forp.usp.br/.../laser

A absorção da luz por um cromóforo em uma célula produz as mudanças físicas ou químicas nesta molécula e conseqüentemente, são observadas respostas biológicas. Quando a

luz interage com células ou tecido, se administrada na dose adequada, pode estimular certas funções. A laserterapia pode estimular o crescimento celular de tecidos ósseos, regeneração celular, remodelação vascular, promover maior atividade tissular (mudanças no conteúdo de prostaglandina, maior atividade de enzimas específicas, aumento da formação de produtos celulares) e função nervosa estimulada (alteração no potencial de ação das células nervosas) (KARU, 2007).

2.2.5 Efeitos da Laserterapia

O laser terapêutico é empregado na bioestimulação tecidual. A biomodulação celular é determinada pelos efeitos fotoquímicos e fotoelétricos ou fotofísicos do laser e não acarreta efeito fototérmico. Aumento de 1°C é observado em consequência do aumento da atividade metabólica celular na área irradiada. A ação analgésica se dá por sua atuação nos receptores periféricos, que dificulta a transmissão do estímulo doloroso até o sistema nervoso central (SNC). A ação antiinflamatória é exercida mediante aceleração da microcirculação, o que determina alterações na pressão hidrostática capilar, com reabsorção do edema e inativação de catabólitos intermediários. Por outro lado, o laser aumenta a quantidade de células dos tecidos irradiados por aceleração da mitose, ação que se observa principalmente na reparação cicatricial das lesões de maior vascularização e formação abundante de tecido de granulação. Os efeitos biológicos comprovados da estimulação com laser incluem ativação da produção de adenosina trifosfato (ATP) e da proliferação das fibras colágenas, formação de enzimas específicas, estimulação da drenagem linfática, angiogênese, aumento da síntese de DNA e de proteínas. Os lasers terapêuticos têm efeitos biológicos que incluem ação antiálgica, vasodilatação, resolução de edema, imunoestimulação e aceleração do metabolismo, como ativação enzimática. A irradiação com laser terapêutico pode alterar o processo celular de uma maneira não térmica e dependente do comprimento de onda (GENOVESE, 2007).

Por razões didáticas, os efeitos da laserterapia são classificados em três tipos: efeitos primários (aumento do metabolismo celular, por exemplo, aumentando a síntese de endorfinas e diminuindo a liberação de transmissores nociceptivos, como a bradicinina e serotonina. Clinicamente, observa-se ação estimulativa e analgésica), efeitos secundários (aumento do fluxo sanguíneo e drenagem linfática. Clinicamente, observa-se ação antiinflamatória) , e efeitos terapêuticos amplos ou sistêmicos (Clinicamente, observa-se, ativação do sistema

imunológico) entretanto, é importante ressaltar que todos ocorrem simultaneamente (GENOVESE, 2007).

TUNÉR & HODE (2007) destacam trabalhos que comprovam que comprovam um aumento da microcirculação local, ativação do sistema linfático, proliferação de células epiteliais e fibroblatos, assim como aumento da síntese de colágeno por parte dos fibroblastos.

Sendo assim, os efeitos terapêuticos dos lasers sobre os tecidos biológicos são muito amplos, induzindo a : efeitos regenerativos, antiinflamatórios e analgésicos (GENOVESE,2007).

2.3 TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA (PACT)

2.3.1 Definição e Histórico

A terapia fotodinâmica do inglês *Photodynamic Therapy* (PDT), envolve basicamente uma tríade: luz, um agente fotossensibilizador (corante) e oxigênio. É baseado no princípio de que um fotossensibilizador liga-se a célula alvo e é ativado por uma luz com comprimento de onda específico. Nesta reação, ocorre a formação de oxigênio singlete e radicais livres, que são extremamente tóxicos para determinadas células e bactérias, podendo levar à morte celular ou destruição dos tecidos por necrose ou apoptose (WAINWRIGHT, 1998; KONOPKA & GOSLINSKI, 2007; MAISH, 2007). (Figura 2)

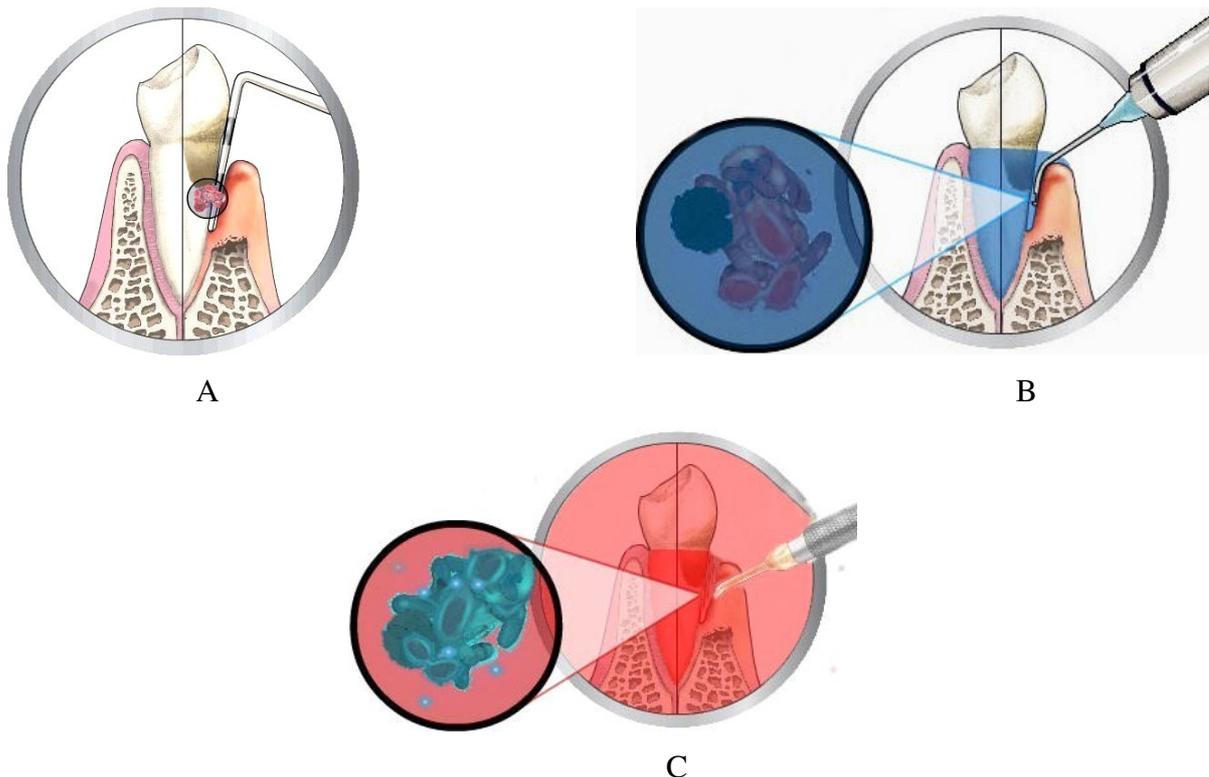


FIGURA 2 – Aplicação da terapia fotodinâmica numa bolsa periodontal. **A-** sonda periodontal, configurando a presença de bolsa periodontal, e caracterização da presença de bactérias periodontopatogênicas; **B-** Aplicação do fotossensibilizador no interior da bolsa periodontal com auxílio de uma seringa e a absorção do corante pelas bactérias; **C-** Irradiação com laser em baixa intensidade, no visível, por fora da bolsa periodontal.
 FONTE: Editado de [www. periowave.com.br](http://www.periowave.com.br)

Esta terapia teve início há mais de 4.000 anos, quando egípcios ingeriam plantas contendo psoralenos e se expunham à luz solar para tratar doenças como o vitiligo. No início do século XX, Raab e Von Tappeiner (1900), constataram acidentalmente, durante um estudo da ação da acridina sobre culturas de paramécios, expostos a uma luz intensa (neste caso, os raios de uma tempestade), que estes microorganismos unicelulares morriam sob essas condições. Portanto, descobriu a propriedade óptica de fluorescência e concluiu que não era a luz, mas sim alguns produtos da fluorescência que induziam a toxicidade “*in vitro*”. Após outros estudos, estes autores postularam, que tal efeito era produto da transferência de energia da luz para a substância química. Em uma segunda publicação, Von Tappeiner concluiu que havia um grande potencial a aplicação de substâncias fluorescentes na medicina (ACKROYD *et al.*, 2001).

O primeiro relatório da administração parenteral de fotossensibilizador em humanos foi em 1900, por um neurologista francês, que usou eosina por via oral no tratamento da epilepsia. Esta descoberta conduziu então a primeira aplicação médica de uma interação entre

um composto fluorescente e luz, na qual Von Tappeiner, e Jesionek, utilizaram a aplicação tópica do corante eosina e exposição a uma luz branca para o tratamento de tumores de pele. Juntamente com Jodlbauer, Von Tappeiner demonstrou a presença de oxigênio nestas reações de fotossensibilização, e em 1907 introduziram o termo “ação fotodinâmica” para descrever este fenômeno (ACKROYD *et al.*, 2001).

Vinte anos depois, em 1924, Policard relata a fluorescência de tumores, induzidos experimentalmente, com o auxílio de uma lâmpada de Wood e porfirina. Em 1942, Auler e Benzer, demonstram formação de necrose tumoral após uso de porfirina e luz. Na década de 70, os estudos se voltaram para utilização desta terapia em bactérias. Nos anos 90, outras áreas além da oncologia passaram a fazer uso deste tipo de terapia, como: infectologia, oftalmologia, etc. A partir de 1992, Wilson *et al.*, utilizaram a terapia fotodinâmica em bactérias orais. E finalmente, a partir de 2000, estudos clínicos “*in vivo*” começam a ser realizados para tratamento da cárie dentária e biofilmes supra e subgengivais (ACKROYD *et al.*, 2001; TAKASAKI *et al.*, 2009).

2.3.2 Mecanismo de Ação da Terapia Fotodinâmica

O mecanismo de ação pelo qual o agente fotossensibilizador associado ao laser de baixa intensidade causa danos celular, ainda não está totalmente compreendido. Existem duas hipóteses: a) transferência direta de elétrons entre o corante e biomoléculas; b) transferências de energia, pela excitação do corante, para as moléculas de oxigênio, resultando na formação de oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) (BHATTI *et al.*, 1997).

Após irradiação com uma luz de comprimento de onda específico, ressonante ao corante, o agente fotossensibilizador absorve os fótons da fonte de luz, e suas moléculas sofrem uma transição, saem do seu estado fundamental e passam a um estado singlete excitado de energia. Em seguida, estas moléculas podem retornar ao seu estado fundamental, com emissão de fluorescência, ou passar por um sistema intermediário e chegar a um estado tripleto excitado de energia. Neste estado tripleto, as moléculas mais estáveis vão interagir, na água, com o oxigênio, e ao retornar a seu estado fundamental, transferem energia, produzindo espécies altamente reativas, como é o caso do oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), radicais livres, hidroxilas e ânions superóxidos. No estado tripleto, existem dois mecanismos (Tipo I e II) de

interação com as biomoléculas (Figura 3) (WAINWRIGHT,1998; MEISEL, 2005; KONOPKA & GOSLINSKI, 2007; TAKASAKI *et al.*, 2009).

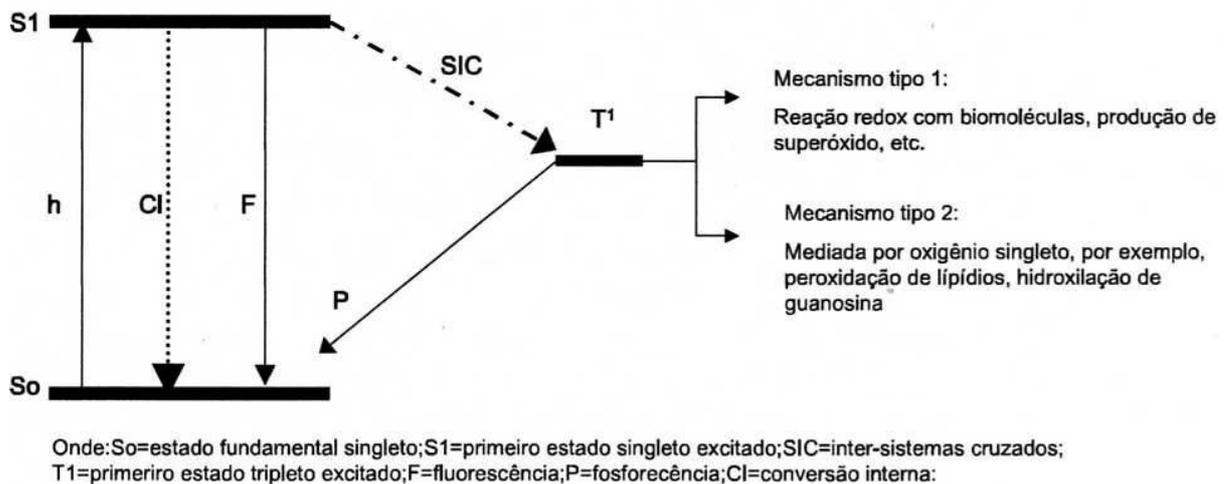


FIGURA 3 – Diagrama de Jablonski - Esquema da transferência de elétrons pelos mecanismos Tipo I e Tipo II com produção de oxigênio singleto, ânions superóxidos e hidroxilas por fluorescência e fosforescência.

Fonte: Souza, Gerdal Roberto de, 2007, p.28.

O mecanismo do Tipo I envolve a transferência de elétrons ou captação de átomos de hidrogênio entre o fotossensibilizador no estado tripleto excitado e biomoléculas, gerando radicais livres e íons-radicais, que tendem a reagir com o oxigênio no estado fundamental, resultando em produtos altamente reativos (KONOPKA & GOSLINSKI, 2007; TAKASAKI *et al.*, 2009). Mais especificamente, este mecanismo ocorre quando o composto fotoativo no estado singleto (S₁) ou tripleto (T₁) pode, por reação de oxidação e redução com diferente biomoléculas, ser foto-reduzido a ânion radical, que por transferência de um elétron à molécula de oxigênio, gera espécies reativas, tais como peróxidos (ROO⁻), ânion superóxidos (O₂⁻), radicais hidroxila (OH⁻) e peróxido de hidrogênio, que provocam a destruição da membrana celular ou de macromoléculas (BORISSEVITCH e SCHABERLE, 2006). (FIGURA 4)

No mecanismo Tipo II ocorre transferência de energia. O fotossensibilizador no estado tripleto (T₃), transfere energia para a molécula de oxigênio, cujo estado fundamental é tripleto (³O₂), gerando uma espécie de oxigênio altamente reativa, conhecido como oxigênio singleto (¹O₂), que pode interagir com um grande número de substratos biológicos, induzindo danos a

membrana e parede celular (KONOPKA & GOSLINSKI, 2007; BORISSEVITCH e SCHABERLE, 2006; TAKASAKI *et al.*, 2009) (FIGURA 4).

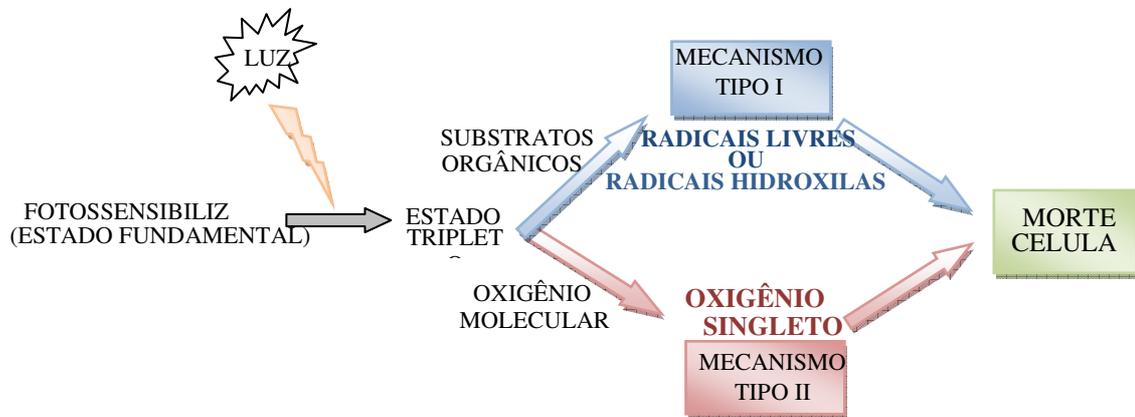


FIGURA 4 – Mecanismo de ação da PDT. Traduzido e editado por FELDMAN, 2009. Fonte: TAKASAKI *et al.*, 2009.

O fator que determina se vai ocorrer reações do Tipo I ou Tipo II, é a competição entre o substrato e o oxigênio molecular pelo estado excitado do sensibilizador. Atualmente, nos sistemas utilizados na clínica a porcentagem de ocorrência do mecanismo do Tipo I é de mais ou menos 10%, enquanto, a do Tipo II é de até 90%. Estes valores podem variar, dependendo das características do fotossensibilizador e da natureza do alvo de sua ação (BORISSEVITCH & SCHABERLE, 2006).

O oxigênio singleto é o fator intermediário no processo fotodinâmico, sendo o principal responsável pela inativação celular. Em sistemas biológicos, o oxigênio singleto apresenta tempo de vida extremamente baixo ($<0,04 \mu\text{s}$), em função disso, seu raio de ação é muito reduzido ($<0,02 \mu\text{m}$) (REDMOND & KOCHEVAR, 2006). Apesar disso, o $^1\text{O}_2$, exerce fortes efeitos citotóxicos aos componentes moleculares da célula, tais como: organelas, proteínas, fosfolípidios da membrana celular, DNA, mitocôndrias e lisossomos, tendo como resultado a morte celular, e de um modo geral a destruição do tecido. Por causa da difusão limitada de $^1\text{O}_2$, como resultado de sua meia-vida curta, os locais das lesões celulares da terapia fotodinâmica estão relacionados com o local de aplicação do fotossensibilizador. Assim, a reação leva a uma resposta localizada, o que a torna ideal para aplicação em infecções localizadas, sem ter que afetar outras moléculas, células ou órgãos. E, além disso, a

reação para, imediatamente, após a luz ser desligada (MEISEL & KOCHER, 2005; TAKASAKI *et al.*, 2009).

Um requisito importante, na fotossensibilização letal, é que o tempo de vida útil do substrato excitado, seja suficiente para permitir a interação com moléculas vizinhas e assim, produzir espécies citotóxicas. Além disso, para a terapia fotodinâmica ser apta na doença periodontal, ela deve ser capaz de eliminar bactérias presentes no biofilme (WILSON, 1993).

O principal agente citotóxico responsável pelos efeitos biológicos do processo de fotootoxidação é o oxigênio singlete. Então, o processo da terapia fotodinâmica antimicrobiana é, geralmente, mediada pela reação do tipo II, principal via de danos as células microbianas (WAINWRIGHT, 1998).

Durante o processo de fotossensibilização, pode ocorrer apoptose ou necrose celular, ou os dois, sendo que na maioria dos casos ocorre apoptose. O corante que está localizado na mitocôndria pode induzir a apoptose, enquanto que o corante localizado nos lisossomos e membrana celular pode causar necrose celular (KONOPKA & GOSLINSKI, 2007).

2.3.3 Fonte de luz na terapia fotodinâmica

As primeiras fontes de luz utilizadas em PDT foram as lâmpadas convencionais, com uma luz não-coerente, policromática e com um forte componente térmico. Com a descoberta do laser, tornou-se possível utilizar uma luz homogênea de baixa intensidade para ativar a reação fotodinâmica (ACROYD *et al.*, 2001).

A PDT, requer uma fonte de luz de baixa potência, situada na porção visível do espectro eletromagnético, e com comprimento de onda específico ressonante ao corante. Atualmente, as fontes mais utilizadas com seus respectivos comprimentos de onda são: laser de He-Ne (632,8 nm); laser de Diodo AsGaAl (620-690 nm); laser de Diodo InGaAlP (635-685 nm) e laser de Argônio (488-514 nm). (KONOPKA & GOSLINSKI, 2007). Em estudos “*in vivo*” e clínico as fontes de luz mais utilizadas são os Lasers de diodo, por possuir as seguintes vantagens: apresentar maior profundidade de penetração no tecido biológico, possuir comprimento de onda ressonante a banda de absorção da maioria dos corantes atualmente utilizados, atua de forma contínua, são menores e portáteis, e de baixo custo (RIBEIRO *et al.*, 2005; TAKASAKI *et al.*, 2009).

A mais recente alternativa são os LEDs (*Light Emitting Diodes* - diodos emissores de luz), que também podem ser utilizados com sucesso como fonte de luz na terapia fotodinâmica, pois têm baixo custo, apresentam um baixo componente térmico e luz monocromática (RIBEIRO *et al.*, 2005).

2.3.3.1 Parâmetros da luz Laser

2.3.3.1.1 Energia

Representa a quantidade de luz que está sendo depositada no tecido. Representada pela fórmula: (GENOVESE, 2007)

$$\text{Energia (J)} = \text{Potência (W)} \times \text{Tempo (seg.)}$$

2.3.3.1.2 Potência

É a energia capaz de provocar maior ou menor reação fotobiológica, representada pela fórmula: (GENOVESE, 2007)

$$\text{Potência (W)} = \text{Energia (J)} / \text{Tempo (segundos)}$$

2.3.3.1.3 Irradiância, Densidade de potência

É a potência óptica útil do laser, expressa em W, dividida pela área irradiada, expressa em cm². É através do controle da irradiância que o operador pode cortar, vaporizar, coagular, quando da utilização de laser cirúrgico; e gerar fotoativação no caso do laserterapêutico. Representada pela fórmula: (GENOVESE, 2007)

$$\text{Irradiância (W/cm}^2\text{)} = \text{Potência (W)} / \text{Área (cm}^2\text{)}$$

2.3.3.1.4 Fluência, Dosimetria, Densidade de energia

É a taxa de energia que está sendo aplicada no tecido biológico, refere-se à unidade de superfície irradiada e não a totalidade de energia emitida, sendo o critério de verificação da eficácia e referência da terapia. Expressa em J/cm². Representada pela fórmula: (GENOVESE, 2007)

$$\text{Fluência (J/cm}^2\text{)} = \text{Irradiância (W/cm}^2\text{)} \times \text{Tempo (seg.)}$$

2.3.3.1.5 Comprimento de Onda

É uma característica extremamente importante, pois é quem define a profundidade de penetração no tecido alvo. Diferentes comprimentos de onda apresentam diferentes coeficientes de absorção para um mesmo tecido. Dependendo do comprimento de onda o tecido absorve energia mais superficialmente ou mais profundamente, agindo na intimidade tecidual, geralmente a membrana celular. (GENOVESE, 2007)

2.3.4 Fotossensibilizadores (Corantes)

Fotossensibilizadores são compostos atóxicos ou de baixa toxicidade, inativos em seu estado fundamental, que absorvem luz na região visível do espectro eletromagnético (JORI, 2006). Embora o conceito de morte celular induzida pela interação entre a luz e substâncias químicas seja conhecida a mais de um século, o interesse por corantes tem aumentado nos últimos anos, e novos corantes vem sendo desenvolvidos em virtude do uso destas substâncias no tratamento de tumores e na fotoinativação de microorganismos em diversos sistemas biológicos, tanto “*in vitro*” como “*in vivo*” (TAKASAKI *et al.*, 2009).

Como a maioria das bactérias orais não absorve a luz visível, a utilização de um cromóforo (nesse caso conhecido como fotossensibilizador) que se fixe à parede bacteriana atraindo para si a luz laser no momento da irradiação é essencial para que os lasers de baixa potência tenham ação antimicrobiana sobre bactérias (WILSON *et al.*, 1992; WILSON, 1993). O fotossensibilizador funciona, como um agente de absorção óptica, sendo essencial usar um tipo adequado ao comprimento de onda do laser a ser utilizado (ZANIN & GONÇALVES, 2003).

As propriedades físico-químicas dos fotossensibilizadores e dos sistemas biológicos em que irão atuar são extremamente importantes para a eficiência do processo de fotossensibilização. A habilidade de um componente em absorver uma luz incidente não significa necessariamente que ele possa atuar como um fotossensibilizador. Outros requisitos são importantes para ser considerado ideal: não apresentar características tóxicas para as células do hospedeiro; apresentar toxicidade local apenas após a ativação pela luz; permanecer em estado excitado por tempo suficiente para permitir a sua interação com as moléculas vizinhas e produzir espécies citotóxicas capazes de causar a morte bacteriana; ter alta solubilidade em água, soluções injetáveis e substitutos do sangue (KONAN *et al.*, 2002; MEISEL & KOCHER, 2005; KONOPKA & GOSLINSKI, 2007).

A toxicidade dos corantes mais utilizados na terapia fotodinâmica ainda é alta, o que faz com que o uso destas substâncias seja viável apenas em pequenas concentrações. Portanto, a pesquisa por corantes menos tóxicos, de maior absorção, mais ressonante com os comprimentos de onda utilizados e mais eficiente, tem sido uma constante na eliminação de microorganismos. Assim, quanto mais próximo do ideal, melhor será a terapia fotodinâmica antimicrobiana (TAKASAKI *et al.*, 2009).

Os fotossensibilizadores que têm sido estudados para erradicação de microorganismos pertencem a diferentes grupos de compostos. Os principais corantes utilizados na terapia fotodinâmica, são: fenotiazínicos; eritrosina; conjugados de Clorina (Clorin e₆); derivados de hematóporfirinas; fitoterápicos (Azuleno); ftalocianinas (WAINWRIGHT, 1998).

2.3.4.1 Fotossensibilizadores Fenotiazínicos

Os corantes fenotiazínicos (azul de toluidina O e azul de metileno), são os fotossensibilizadores mais utilizados em pesquisas na área médico-odontológica. Possuem

estrutura heteroaromáticas planas que conferem às suas moléculas propriedades fotossensibilizadoras. (Figura 5)

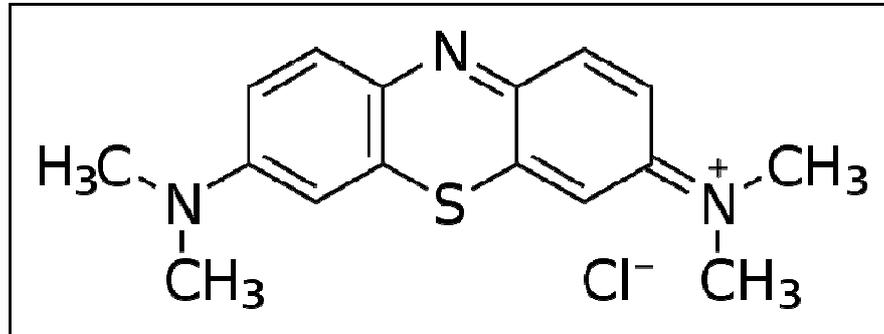


FIGURA 5 – Representação da estrutura química da molécula azul de metileno.

Fonte: <http://quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/2007/vol30n4/index.htm>

A ação fotossensibilizadora deste tipo de corante, como o azul de metileno, em bactérias gram-positivas e gram-negativas, é conhecida há décadas (WAINWRIGHT, 1998). Os fatores que determinam a seletividade deste tipo de corante em células microbianas, é a interação eletrostática entre as cargas positivas deste corante, e as cargas negativas da superfície externa da célula microbiana (HARRIS *et al.*, 2006).

Na maioria dos casos, em bactérias gram-negativas, o sítio primário de ação é a membrana externa, enquanto em bactérias gram-positivas e fungos, é a membrana plasmática da célula-alvo. A ação do fotossensibilizador, envolve a modificação de lipídios e/ou polissacarídeos, e a inativação de proteínas e enzimas essenciais, presentes na membrana plasmática, provocando a morte celular. Em células bacterianas, embora o principal sítio de ação seja o DNA, os corantes fenotiazínicos, podem exibir múltiplos sítios de ação entre diferentes espécies de microorganismo (USACHEVA *et al.*, 2001; HARRIS *et al.*, 2006).

O corante azul de metileno, é um protótipo dos derivados fenotiazínicos. Seu uso é atestado há quase um século, e sua toxicidade para humanos é, relativamente, baixa (USACHEVA *et al.*, 2003). Na PDT, é muito eficaz na inativação de bactérias periodontopatogênicas (MAISCH, 2007). É um fotossensibilizador que tem sido utilizado, principalmente, em estudos clínicos, por já possuir kits disponíveis comercialmente (ex.: PeriowaveTM; Helbo^R; Chimiolux^R).

2.3.4.2 Concentração e Tempo de pré-irradiação

Muitos fotossensibilizadores são ativados pela luz vermelha entre 630-700 nm, correspondendo a uma profundidade de penetração de 0,5 cm (a 630nm) até 1,5 cm (a 700 nm). Isto limita a profundidade de necrose e/ou apoptose, além de definir o efeito terapêutico (KONOPKA & GOSLINSKI, 2007).

Um fator importante para o sucesso da PDT, é a concentração do corante. Esta varia de um corante para outro, de acordo com as características químicas de cada composto e de sua toxicidade. As concentrações típicas utilizadas são da ordem de $\mu\text{M}/\text{MI}$ (RIBEIRO *et al.*, 2005).

Outro fator de relevância, que na maioria das vezes é crucial para o sucesso da terapia fotodinâmica, é a interação do corante com o alvo. Este vai variar de acordo com a interação desejada. Nas aplicações tópicas da PDT antimicrobiana, espera-se que o corante una-se ao microorganismo, ou chegue a ultrapassar a membrana citoplasmática, localizando-se no citoplasma da célula ou mesmo intercalando-se com o DNA do núcleo. Para que isto ocorra é necessário um tempo de pré-irradiação, ou seja, o tempo entre a aplicação do fotossensibilizador no alvo e sua ativação pela fonte de luz. Os tempos utilizados em PDT antimicrobiana varia de 1 a 10 minutos (RIBEIRO *et al.*, 2005).

2.3.5 Terapia fotodinâmica antimicrobiana na Periodontia

Diversos estudos “*in vitro*”, “*in vivo*” e clínicos, relatados a seguir, documentam a validade da terapia fotodinâmica como alternativa de tratamento periodontal através da redução das bactérias periodontopatogênicas da bolsa periodontal.

2.3.5.1 Estudos “*in vitro*”

O potencial da terapia fotodinâmica em bactérias orais começou a ser investigado na década de 90 quando DOBSON & WILSON (1992), analisaram a redução bacteriana por fotossensibilização de biofilme formado pelas espécies *S. sanguis*, *P. gingivalis*, *F. nucleatum* e *A. actinomycetemcomitans*. Utilizando uma associação de diversos corantes e um laser de He-Ne de 7,3 mW de potencia, sobre amostras de biofilme em placa de petri, os autores concluíram que os corantes azul de toluidina e azul de metileno foram eficazes em eliminar as quatro espécies de bactérias e os corantes ftalocianina dissulfonada de alumínio, hematorporfirina HCl e hematoporfirina Éster somente foram efetivos em sensibilizar alguns microorganismos. Sugeriram ainda que, baseados em seus resultados, a técnica da terapia fotodinâmica pode ser efetiva em eliminar bactérias periodontopatogênicas da placa bacteriana.

Seguindo a mesma linha de pesquisa, WILSON e cols. realizaram outros estudos demonstrando bons resultados na redução bacteriana.

WILSON, DOBSON & SARKAR (1993) utilizaram o laser de He-Ne, com comprimento de onda 632,8 nm e 7,3mW de potência, associado aos fotossensibilizadores: azul de toluidina, azul de metileno, ftalocianina e hematoporfirinas. Testaram as bactérias *S. sanguis*, *A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum* e *P. gingivalis*. Foram utilizadas bactérias do biofilme subgingival de pacientes com periodontite crônica. Amostras da placa subgingival foram expostas à luz, na presença e na ausência do corante azul de toluidina na concentração de 50 µg/ml. Os autores concluíram que a combinação laser e corante alcançou uma significativa redução bacteriana, sendo que a média de redução foi de 91,1% nas bactérias aeróbias, 96,9% nas anaeróbias, 100% nas pigmentadas anaeróbias e 94,4% para o *Streptococcus*. Entretanto, a redução bacteriana não foi significativa na presença apenas do corante ou apenas do laser. Isto sugere que o laser em baixa intensidade associado ao corante apropriado pode ser efetivo como tratamento coadjuvante ao debridamento mecânico em inflamações periodontais, pois três dos principais responsáveis pela etiologia da doença periodontal podem ser mortos por esta modalidade de tratamento.

SARKAR & WILSON (1993) estudaram a fotossensibilização de bactérias da placa subgingival de pacientes com periodontite crônica. Amostras da placa foram expostas a um laser de He-Ne de 7,3mW de potência, por 30 segundos, usando-se 16,5J/cm², na presença e na ausência do corante azul de toluidina na concentração de 50µg/ml. Os autores concluíram que a combinação laser/corante alcançou significativa redução bacteriana, sendo que a média de redução foi de 91,1% nas bactérias aeróbias, 96,9% nas anaeróbias, 100% nas pigmentadas anaeróbias e 94,4% para os *Streptococcus*. Entretanto a redução não foi significativa na

presença apenas do corante. Isso sugere que o laser de baixa intensidade associado a um corante apropriado pode ser eficaz como tratamento coadjuvante ao debridamento mecânico, no tratamento periodontal.

WILSON (1993) mostrou que os corantes azul de toluidina, azul de metileno e cloridrato de azure B (todos na concentração de 50 µg/ml) foram fotossensibilizadores efetivos para *A.actinomycescomitans*, *P.gingivalis*, *F.nucleatum* e *S.sanguis*, quando expostos *in vitro* ao laser He-Ne de 7,3mW, por 30 segundos. Mas não houve evidência de morte bacteriana somente com os corantes na ausência da luz laser. Os derivados da hematoporfirina mostraram-se fracos para sensibilizar *A.a*, *F.nucleatum* e *S.sanguis*, sendo efetivos somente contra o *P.gingivalis*. Isso pode ser atribuído à inabilidade do corante de absorver luz com o comprimento de onda utilizado, que foi de 632,8nm. Mas, usando-se 500-560nm, os derivados de hematoporfirina podem ser excelentes fotossensibilizadores.

WILSON & DOBSON (1993) investigaram o potencial de 3 tipos de corantes, azul de toluidina, derivados de hematoporfirina e ftalociacina dissulfonada de alumínio, todos com concentração de 25µg/ml, agindo na fotossensibilização letal do *P.gingivalis* e do *F.nucleatum*, ambos relacionados com a patogênese da periodontite. Foi usado um laser de HeNe com uma potência de 7,3mW e um densidade de 22J/cm² (292mJ). O comprimento de onda emitido foi de 632,8nm. Exposições dos microorganismos somente ao laser, mesmo durante mais de 80 segundos, não tiveram efeito significativo; azul de toluidina ou os derivados de hematoporfirina, isolados, não apresentaram resultados; ftalociacina disulfonada de alumínio, sem o laser, causou decréscimo no *P.gingivalis*, o que não ocorreu com o *F.nucleatum*; grandes quantidades de ambos os microorganismos foram eliminados (49,8 x 10⁶ufc/ml e 54,72 x 10⁶ufc/ml, respectivamente para *P.gingivalis* e *F.nucleatum*), com o uso de pequenas concentrações do corante azul de toluidina e pequenas doses de laser. Entretanto, nas associações de derivados de hematoporfirina ou ftalociacina dissulfonada de alumínio com laser, os resultados não foram significativos.

Com o objetivo de avaliar se a PDT poderia ser usada no tratamento da doença periodontal, eliminando as bactérias causadoras da mesma, sem provocar danos aos tecidos adjacentes, SOUKOS *et al* (1996) avaliaram os efeitos da terapia fotodinâmica, utilizando o laser de baixa, no vermelho do espectro eletromagnético associado ao corante azul de toluidina sobre queratinocitos orais humanos, fibroblastos e cultura de *S. sanguis*. Os autores concluíram que o uso de baixas concentrações de corante e do laser provocava a morte bacteriana não reduzindo viabilidade celular.

BHATTI *et al.* (1997) utilizaram o corante azul de toluidina e laser He-Ne para pesquisar a influência de alguns fatores, como o pH, concentração do corante, presença do soro sanguíneo, fases de crescimento do microorganismo, tempo de pré-irradiação e dose de luz usada na fotossensibilização letal da *P.gingivalis*. Os resultados obtidos foram os seguintes: na presença do azul de toluidina, foi obtido efeito do laser dose-dependente. Não houve efeito significativo no número de *P.gingivalis* quando a concentração do azul de toluidina foi aumentada de 12,5 para 50,0µg/ml. Aumento no tempo da pré-irradiação gerou discreto aumento de mortes dos microorganismos. Alto número de mortes foi encontrado nos três pHs estudados (6,8 a 8,0). O estudo mostrou também que células das três fases de crescimento do microorganismo foram susceptíveis à fotossensibilização letal, apesar de as da fase estacionária ser discretamente menos susceptíveis e as da fase log ser ligeiramente mais susceptíveis. A apreensão máxima do azul de toluidina ocorreu por volta de 60 segundos, sendo a absorção menor no soro que em solução salina.

WILSON *et al.* (1996) avaliaram a susceptibilidade do *S.sanguis*, no biofilme, à terapia fotodinâmica, com a associação do laser GaAlAs (660nm, 11mW, 12,2J) com o corante AlPcS2(675nm). Para isso, fizeram o microorganismo crescer em condições similares às existentes na cavidade oral, utilizando hidroxiapatita como substrato e saliva artificial como fonte de nutriente. Os autores lembraram que as bactérias nos biofilmes são consideravelmente menos susceptíveis a agentes antimicrobianos e que o uso difundido destes está gerando bactérias resistentes. Mesmo assim, a terapia fotodinâmica mostra-se como uma alternativa, já que houve substancial redução do *S.sanguis*, após uso da PDT. No entanto, nenhum dos dois, sozinho, teve efeito significativo sobre a bactéria.

KÖNIG *et al* (2000) analisaram a terapia fotodinâmica com laser vermelho, sem uso de corantes exógenos, contra determinadas bactérias (*P.gingivalis*, *P.intermedia*, *P. acnes*, *A. odontolyticus* e *S.mutans*) capazes de produzir porfirinas endógenas, com exceção do *S. mutans*. Os autores preconizaram um novo método de redução bacteriana, baseado na fotossensibilização das porfirinas endógenas por um laser de He-Ne de 60 mW, 632,8 nm. Os resultados mostraram redução de até 50% das espécies produtoras de endoporfirinas (corantes endógenos), e nenhum efeito sobre o *S.mutans*. Os autores, baseando-se nos resultados, preconizaram esta técnica como método terapêutico contra bactérias produtoras de endoporfirinas, desde que o comprimento do laser utilizado seja compatível com o corante endógeno. Os autores nos lembram ainda do aumento da resistência bacteriana aos antibióticos torna cada vez mais importante a busca de novas formas de tratamento para

infecções bacterianas e que a terapia fotodinâmica tem se mostrado uma alternativa interessante e viável na prevenção da carie e doença periodontal.

Segundo KÖMERIK *et al.* (2000), a terapia fotodinâmica, além de ter efeito antimicrobiando, parece ter efeito sobre alguns fatores de virulência microbianos. Os lipopolissacarídeos são um dos mais importantes fatores de virulência das bactérias causadoras da doença periodontal, induzindo a resposta inflamatória do hospedeiro e estimulando a liberação de citocinas. Demonstraram que a habilidade de bactérias gram-negativas em induzir a produção de citocinas foi reduzida após exposição a PDT, utilizando Laser de He-Ne e corante azul de toluidina. Assim, a terapia fotodinâmica pode inativar endotoxinas, tais como lipopolissacarídeos, diminuindo sua atividade biológica.

Outro importante fator de virulência para o desenvolvimento da doença periodontal é a presença de algumas enzimas bacterianas (enzimas proteolíticas) que são importantes mediadores da destruição celular durante a periodontite, degradando os tecidos do hospedeiro. Sendo assim, PACKER *et al.* (2000), demonstraram que a exposição de *P. gingivalis* à terapia fotodinâmica, utilizando associação do corante azul de toluidina e um Laser de He-Ne, reduziu a atividade proteolítica dessas enzimas em até 50%.

USACHEVA *et al.* (2001), utilizaram os corantes azul de metileno e azul de toluidina O em diversas concentrações: 10, 20, 30 40, 50, 100, 150, 200 μM sobre diferentes bactérias, como *S. aureus*; *S. pneumoniae*; *E. faecalis*; *H. influenzae*; *E. coli* e *P. aeruginos*. Como fonte de luz, os autores utilizaram o Laser de Argônio com comprimento de onda de 530 nm e o Laser diodo de comprimento de onda de 664 nm com fluência variando de 10 e 60 J/cm^2 , variando a intensidade de potência de 50 a 100 mW/cm^2 . Os resultados indicaram que todos os microorganismos foram eliminados em diferentes porcentagens quando expostos ao laser na presença dos corantes. Além disso, observaram que a fotossensibilização depende do corante utilizado, sua concentração e tempo de contato com o tecido alvo, e da fluência e intensidade de potência do laser. Os microrganismos gram-negativos foram mais resistentes que os gram-positivos, resultado atribuído às diferenças estruturais e de composição entre esses organismos, em particular, à existência de uma membrana externa nas bactérias gram-negativas.

Na tentativa de criar um protocolo otimizado de aplicação da terapia fotodinâmica frente a bactérias periodontopatogênicas, CHAN & LAI (2003) avaliaram o efeito bactericida de diferentes comprimentos na terapia fotodinâmica, em culturas das bactérias *A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *P. intermédia* e *S. sanguis*. Utilizaram o Laser de He-Ne, com potência de 30 mW e comprimento de onda de 632,8 nm e o Laser

diodo de AsGaAl, com potência de 100 mW e comprimentos de onda de 665 nm e 830 nm. Utilizaram como corante o azul de metileno na concentração de 0,01%. As bactérias utilizadas foram *P. gingivalis*, *F. nucleatum*, *P.intermedia*, *A. actinomycetemcomitans* e *S. sanguis*, as quais foram mantidas em meio de cultura anaeróbio com posterior quantificação. O Laser de He-Ne foi utilizado por 30 e 60 segundos, e proporcionou nos microorganismos uma densidade de energia de 3,2 J/cm² e 6,4 J/cm². Já o Laser de diodo promoveu uma densidade de energia de 10,6 J/cm² e 21,2 J/cm². Os resultados mostraram que a terapia foi tempo-dependente para ambos os sistemas de Laser. Foi obtida uma redução de 99-100% das bactérias pigmentadas (*P. gingivalis*, *P. intermedia* e *S.sanguis*). Já para as espécies de *A. actinomycetemcomitans* e *F. nucleatum*, promoveu a redução microbiana de 95 e 96%, respectivamente. Os resultados mostraram que um efeito bactericida efetivo foi obtido na combinação do azul de metileno com o laser de diodo (665nm e 100mW) com um tempo de irradiação de 60s. Concluíram que esta combinação pode ser uma excelente ferramenta a ser utilizada adjunta ao debridamento mecânico na prevenção da recolonização de lesões subgingivais por microorganismos patogênicos.

PFITZNER *et al* (2004) empregaram a PDT com os corantes chlorin e6, BLC 1010, e BLC 1014 na concentração de 10 µm. para eliminar bactérias periodontopatogenicas. Os resultados mostraram melhores resultados para os corantes chlorin e6 e BLC 1010 que foram capazes de induzir zonas de inibição nas placas de agar. O corante BLC 1014, mostrou menor efeito fotodinâmica em comparação com os outros. Então, sugere-se que a PDT, utilizando como corantes chlorin e6 e BLC 1010, é eficiente para suprimir bactérias periodontopatogenicas.

PRATES *et al* (2007) avaliaram a capacidade do fotossensibilizante verde malaquita associado a um laser vermelho em eliminar a bactéria periodontopatogenica, *A.actinomycetemcomitans*, e a foto degradação do corante após a PDT através de espectroscopia de absorção óptica. Meios de cultura bacteriana de *Aa*, foram irradiados com 30 mW de potencia na presença ou na ausência do corante. A concentração utilizada foi de 0,01%. O tempo de pré-irradiação para o grupo com culturas em campo escuro foi de cinco min. Na presença do corante, dois tempos de pré-irradiação foram analisados, três (5,4 J/cm²) e cinco minutos (9 J/cm²). As amostras foram diluídas para realizar a contagem de unidade formadoras de colônias. Foram obtidos os espectros de absorção dos grupos estudados. Observou-se que o laser combinado com o corante com tempos de três e cinco min. levou a uma redução de 97,2% e 99,9 % do periodontopatógeno. O uso do Laser e do corante isoladamente não foram capazes de eliminar o microorganismo. A absorção óptica mostrou

que o verde malaquita e foto degradado após a irradiação. Estes resultados demonstraram que o *Aa* pode ser foto eliminado pela associação do laser vermelho e o verde malaquita e que o corante e foto degradado após a irradiação.

QIN *et al.* (2008) investigaram os parâmetros necessários para uma terapia fotodinâmica antimicrobiana eficiente em biofilmes supragengivais de 20 voluntários com doença periodontal. Foram utilizados diferentes concentrações do corante azul de toluidina e do laser de diodo (635 nm) com o melhor efeito terapêutico observado quando utilizou-se a combinação de 1mg/ml do corante com irradiação de 12 J/cm² do laser.

STREET *et al.* (2009) examinaram a capacidade da PDT erradicar culturas planctônicas e biofilmes. Sobre estas culturas foram aplicados o fotossensibilizador azul de metileno e doses de 1,7 a 20,6 J/cm², com Laser de diodo de 670 nm. Os biofilmes foram cultivados por 24 e 48 h., e expostos ao corante por 30 seg. antes da aplicação da luz com 13,2J ou 26,4 J de energia. Uma única exposição a 15,5 J/cm², resultou na erradicação 100%. Diminuiu-se a dose de energia abaixo deste limiar, variando tanto a densidade de potência e duração de iluminação, resultando em uma diminuição dose-dependente no efeito bactericida. Além disso, a viabilidade do biofilme em 24 h foi reduzido em 99% com uma única exposição e 99,9% com duas exposições. Em 48 h, a viabilidade do biofilme foi reduzida em 99,9% com ambas as exposições individuais e duplas. Este estudo mostra que o PDT é eficaz na erradicação de culturas planctônicas e biofilme de *P. aeruginosa*, suportando o conceito que a indicação desta terapia para a prática clínica é uma opção viável.

2.3.5.2 Estudos “*in vivo*”

WILSON *et al.* (1995) avaliaram, em um estudo *in vivo*, se bactérias da placa supragengival poderiam ser eliminadas pela associação de um laser em baixa intensidade associado a um corante. Utilizaram placas bacterianas obtidas de dez voluntários, que foram tratadas com corante azul de toluidina (TBO) e ftalocianina dissulfonada de alumínio (AlPcS₂) e então expostos a um laser de He-Ne ou AsGaAl respectivamente. Para ambos os casos foi encontrada redução significativa das bactérias anaeróbias e do gênero *Streptococcus* e *Agregatibacter*. Entretanto a associação HeNe/TBO foi mais efetiva na redução bacteriana que a de AsGaAl/ AlPcS₂, quando usadas as energias de 1,31 J. Isso pode ser explicado pelo fato de ser o comprimento de onda do He-Ne (632,8nm) ressonante com o pico de absorção

do azul de toluidina (632nm). Já o AsGaAl com um comprimento de onda de 660 nm e o pico de absorção do AlPcS₂ é de 675nm. Neste estudo, nem o laser nem os corantes isoladamente apresentaram efeito significativo na eliminação das bactérias. Destacaram as vantagens da terapia fotodinâmica comparadas às do uso de antimicrobianos, como o não-desenvolvimento da resistência bacteriana e ausência de necessidade de se manterem altas concentrações do fotossensibilizador por longos períodos.

KÖMERIK *et al.* (2002) inocularam *P. gingivalis* no interior da cavidade oral de ratos. Logo após a inoculação de 25 µl de *P. gingivalis*, na região dos molares superiores foi administrado topicamente o corante azul de toluidina nas concentrações de 0,01, 0,1 e 1mg/ml. Como fonte de luz utilizaram o Laser diodo de 630 nm depositando na área doses de 6, 12, 24 e 48 J correspondendo aos tempos de 1, 2, 4 e 8 minutos. Na análise histológica dos resultados, não observaram nenhuma alteração nas estruturas do periodonto como, ulcerações e inflamação no tecido conjuntivo, mesmo nas concentrações mais altas tanto do corante quanto do Laser utilizado. Concluíram que a terapia fotodinâmica com o uso do corante azul de toluidina, reduziu periodontopatógenos importantes, sem causar danos aos tecidos adjacentes. A perda óssea alveolar foi significativamente menor nos ratos tratados com a terapia fotodinâmica, sendo sugerida como terapia antimicrobiana alternativa para o tratamento da doença periodontal.

KÖMERIK *et al* (2003) avaliaram o efeito do azul de toluidina mediado pela terapia fotodinâmica na mucosa oral de ratos e a biodistribuição do fotossensibilizador no tecido. Uma solução de azul de toluidina foi aplicada na mucosa oral em um dos lados da cavidade oral e esta foi exposta a luz (633 nm) e o lado oposto foi considerado controle, onde não houve exposição. Foram avaliadas varias concentrações do corante (25, 50 e 200 dg/ml) e dosimetria (110, 170 e 340 J/cm²). Este estudo sugere que o azul de toluidina / Laser (nas concentrações e doses testadas) pode ser uma técnica antimicrobiana segura e apropriada para as infecções orais sem dano para os tecidos adjacentes.

SHIBLI *et al.*(2003) realizaram um estudo piloto, utilizando cultura microbiana, para avaliarem a efetividade da fotossensibilização sobre os microrganismos envolvidos na periimplantite em cães. Após dois meses de indução da periimplantite em cães as ligaduras foram removidas e controle de placa com clorexidina a 0,12%, foi adotado por 12 meses. Após este período, foram realizados retalhos mucoperiósteos para raspagem da superfície do implante, e amostras microbiológicas foram coletadas com cones de papel antes e após a terapia fotodinâmica com 100 µg/mL de azul de toluidina O e Laser de diodo semiconductor de GaAlAs, com comprimento de onda de 685 nm, 50 mW de potência e por 80 segundos.

Obtiveram redução e eliminação, em algumas amostras, de patógenos da periimplantite em cães, principalmente nas espécies *P.intermedia*, *Fusobacterium spp* e *Streptococcus* beta hemolíticos. Relataram que a PDT em patógenos periodontais apresenta vantagens como a de não desenvolver a seleção de microorganismos resistentes, utilizados em baixas concentrações e de fácil aplicação.

SIGUSCH *et al.* (2005) analisaram a eficácia da terapia fotodinâmica nos sinais inflamatórios, e em duas espécies periodontopatogênicas em cães beagle. Foram testados dois fotossensibilizadores chlorin e6 e BLC1010. Os animais foram infectados com *P. gingivalis* e *F. nucleatum* em áreas subgingivais. Foram observados os sinais de inflamação através dos índices gengivais. A terapia fotodinâmica foi realizada através de um laser de diodo com 662nm e 0,5 W de potencia e os corantes acima citados. A PDT no grupo teste resultou em uma redução significativa nos sinais clínicos de inflamação e vermelhidão comparada ao grupo controle. Este estudo demonstrou que a terapia fotodinâmica apresenta vantagens para o controle da doença periodontal.

HAYEK *et al.* (2005) comparou os efeitos da terapia fotodinâmica com as técnicas convencionais de redução microbiana em periimplantite induzida por ligadura em cães. Foram extraídos dezoito terceiros pré-molares de cães labradores e imediatamente após implantes foram instalados. Após o processo de osseointegração, a periimplantite foi induzida através de ligaduras durante o período de quatro meses. Após este período, as ligaduras foram removidas e os animais permaneceram por mais quatro meses para permitir a formação natural de biofilme dental. Os animais foram divididos randomicamente em dois grupos. O grupo controle recebeu tratamento convencional através de retalho mucoperiosteal para raspagem da superfície dos implantes associado a irrigação com solução de clorexidina. No segundo grupo, a PDT foi realizada após a cirurgia de retalho mucoperiosteal. Dentro da bolsa periimplantar foi aplicada uma pasta do fotossensibilizador azuleno irradiada com laser vermelho 660nm com potencia de 40 mW, 7,2 J por 3 min. . Foram coletadas amostras microbiológicas antes e imediatamente após o tratamento. Foi removido um implante antes de realizado o tratamento para validar a contaminação. Os resultados deste estudo demonstraram que em ambos os grupos houve redução de patógenos do biofilme periimplantar. Após o tratamento não foi encontrada diferenças significantes entre os grupos. Conclui-se, portanto, que a terapia fotodinâmica é um tratamento não invasivo e pode ser utilizado para reduzir a periimplantite

de ALMEIDA *et al.* (2007) avaliaram através de microscopia óptica e análise radiográfica, o efeito da terapia fotodinâmica na evolução da doença periodontal induzida em ratos. Os animais foram divididos em 4 grupos (I - controle, II - tratamento tópico com azul

de metileno 100 µg /ml; III- tratamento apenas com laser e IV- tratamento com PDT) e foram colocadas ligaduras ao redor dos primeiros molares. O grupo PDT foi tratado com corante azul de metileno a 100 µg /ml e irradiado com laser de baixa intensidade com dose de 4,5J/cm². Os animais foram sacrificados 5, 15 e 30 dias após o tratamento e avaliados histologicamente e radiograficamente. O grupo PDT apresentou menor perda óssea comparada ao grupo controle nos 5 e 15 dias. Não houve diferença estatística nos 30 dias. Após 15 dias, os resultados histológicos mostraram diferença estatística na extensão da reação inflamatória no tecido gengival. Concluiu-se, portanto, que a terapia fotodinâmica pode reduzir a destruição óssea periodontal transitoriamente.

QIN *et al.* (2008) compararam a eficácia da PDT com a raspagem e alisamento radicular em periodontites induzida em ratos. Após 6 semanas de indução a periodontite nos molares superiores, os sítios foram tratados com: aplicação de 1 mg/ml de TBO, e irradiado com laser no vermelho do espectro eletromagnético com 12 J/cm², ou com raspagem e alisamento radicular. A eficácia da terapia foi avaliada de redução da flora bacteriana, alterações histológicas e alteração dos tecidos periodontais. Como resultado, observaram redução significativa da flora bacteriana em ambas as terapias fotodinâmica e convencional. Os sinais de inflamação, índice de placa e índice gengival, sangramento à sondagem e infiltrado inflamatório, foram reduzida sem qualquer prejuízo aos tecidos do hospedeiro. A terapia fotodinâmica e a terapia convencional mostraram resultados terapêuticos semelhantes.

2.3.5.3 Estudos Clínicos

MEISEL & KOCHER (2005) em revisão do estado da arte na terapia fotodinâmica para doenças periodontais, concluíram que mesmo ainda em estágios experimentais, a PDT poderá ser um coadjuvante importante as técnicas convencionais no controle bacteriano das doenças periodontais e que estudos clínicos são necessários para confirmar a eficácia deste procedimento.

YILMAZ *et al.* (2002) realizaram estudo em humanos, para avaliar o efeito da terapia fotodinâmica no tratamento da doença periodontal. O grupo de estudo foi composto por 10 pacientes os quais não haviam recebido tratamento periodontal anterior, nem feito uso de antibióticos 6 meses antes do estudo. Selecionaram 4 dentes unirradiculares, sendo 1 por quadrante, apresentando perda de inserção de 4 mm na face mesial. Os pacientes foram

divididos em 4 grupos experimentais, sendo: G1: raspagem e alisamento radicular associado ao Laser de AsGaAl (685 nm de comprimento de onda, potência de 30mW, densidade de energia de $1,6 \text{ J/cm}^2$) e azul de metileno 0,05%; G2, apenas a aplicação do Laser; G3, apenas raspagem e alisamento radicular e G4 somente técnicas de higiene oral. Quando levaram em consideração todos os índices considerados no exame clínico e microbiológico periodontal, somente o raspagem subgengival associado ou não ao Laser foi mais efetivo quando comparado com o grupo que recebeu apenas a aplicação do Laser. Esta opção terapêutica pode ser vantajosa no tratamento da doença periodontal inflamatória sendo necessário avaliar o efeito da associação de corantes com o Laser como coadjuvantes a terapia periodontal convencional.

QADRI *et al.* (2005) avaliaram os efeitos da irradiação do Laser de baixa intensidade como coadjuvante ao tratamento na inflamação do tecido gengival, em um ensaio clínico de boca dividida, duplo-cego, controlado. O grupo do estudo foi composto por 17 pacientes com diagnóstico de periodontite moderada. Após o exame clínico e periodontal (mediram: profundidade de bolsa, índice gengival e índice de placa), todos os pacientes receberam tratamento periodontal não-cirúrgico e instrução de higiene oral. Uma semana depois, foi retirada amostras do fluido gengival, para análise de IL-1 β e metaloproteinase-8 (MMP-8), e da placa subgengival (análise de 12 bactérias, com sonda de DNA). A terapia com laser foi iniciado 1 semana depois e continuou uma vez por semana durante 6 semanas. Foram incluídos cinco dentes para cada lado. Um lado foi tratado com laser e o outro com placebo. O lado teste foi tratado com dois lasers com comprimentos de onda de 635 e 830 nm. Uma semana após a última irradiação os pacientes submeteram-se a um outro exame clínico com amostragem de fluido gengival e placa subgengival. As variáveis clínicas, profundidade de bolsa, e os índices de placa e gengival foram reduzidos mais do lado teste que no controle. A diminuição no volume do fluido gengival também foi maior no lado do laser que do placebo. O total da MMP-8 foi, ligeiramente, mais baixa do lado teste. As concentrações de IL-1 β e as análises microbiológicas não apresentaram diferenças significativas entre os lados teste e controle. O tratamento adicional com laser de baixa intensidade reduziu o quadro de inflamação gengival.

ANDERSEN *et al.* (2007) comparou a eficácia da terapia fotodinâmica com o tratamento periodontal não cirúrgico. Um total de 33 pacientes com diagnóstico de periodontite moderada e severa, foram distribuídos randomicamente, em 3 grupos, onde receberiam os seguintes tratamentos: Grupo 1, apenas PDT; Grupo 2, raspagem e alisamento radicular; Grupo 3, raspagem e alisamento radicular + PDT. Foram utilizados para avaliação

os parâmetros clínicos de profundidade de bolsa; nível de inserção clínica e sangramento à sondagem, medidos em todos os dentes (6 sítios por dente). Os sítios com profundidade ≥ 6 mm, foram incluídos na pesquisa. Estas medidas foram realizadas antes de iniciar o tratamento, e depois, 3, 6 e 12 semanas após finalizada a terapia. A PDT foi realizada com o corante azul de metileno 0,005% + Laser de diodo, com comprimento de onda de 670nm e potência de 150mW. Os pacientes do Grupo 2 e 3 receberam raspagem e alisamento radicular em todos os dentes, em duas a quatro consultas. Nos indivíduos do Grupo 3 a terapia fotodinâmica foi aplicada, imediatamente após a raspagem, depositando o corante no interior da bolsa periodontal com auxílio de uma seringa, e depois aplicou-se o laser com auxílio de uma ponta de fibra óptica, com potência máxima de 150 mW, durante 60 seg., numa fluência de 10-20 J/cm² por sítio. Em todos os períodos de avaliação, a raspagem e alisamento radicular + terapia fotodinâmica resultou em melhorias significativas nos parâmetros investigados quando comparados ao uso apenas de raspagem e alisamento radicular, mostrando que a PDT é uma abordagem não-invasiva efetiva no tratamento da periodontite crônica, podendo ser uma alternativa à antibioticoterapia.

de OLIVEIRA *et al.* (2007) avaliaram a aplicação da terapia fotodinâmica no tratamento da periodontite agressiva, num modelo de boca dividida. Participaram 10 pacientes com diagnóstico de periodontite agressiva. Foram selecionados, 10 pares de dentes uniradiculares com profundidade de bolsa a sondagem e nível de inserção ≥ 5 mm em no mínimo dois sítios. Os pares foram divididos, randomicamente, um dente receberia apenas raspagem e alisamento radicular e seu contralateral recebia o PDT. Esta última foi realizada com um corante fenotiazínico 10 mg/ml associado a um laser de diodo, com comprimento de onda de 660 nm, e potência máxima de 60 mW. Após o tempo de pré-irradiação de 1 minuto, aplicou-se o laser, com auxílio de uma fibra óptica, durante 10 seg.. O tratamento foi feito nos seis sítios, totalizando 1 min. por dente, mas apenas os sítios mesial e distal foram considerados. Os parâmetros clínicos (índice de placa, índice gengival, profundidade de bolsa a sondagem, nível de inserção clínica) foram medidos no início e após 3 meses do tratamento. Concluíram que ambos os tratamentos mostraram resultados clínicos semelhantes para o tratamento da periodontite agressiva, e sugerem que outros estudos, aumentando o número da amostra sejam realizados.

BRAUN *et al.* (2008) avaliaram os efeitos da terapia fotodinâmica adjunta ao tratamento da periodontite crônica, num modelo de boca dividida. O grupo do estudo foi composto por 20 pacientes com diagnóstico de periodontite crônica, que não tenham recebido tratamento periodontal recente, e com pelo menos um dente com perda de inserção ≥ 3 mm

em todos os quadrantes. Os parâmetros clínicos (profundidade de bolsa, sangramento a sondagem, perda de inserção, fluxo do fluido gengival) foram medidos antes de iniciar o tratamento, uma semana e 3 meses depois do tratamento. Todos os indivíduos receberam raspagem e alisamento radicular, e depois então, os quadrantes foram aleatoriamente designados para o tratamento adicional com a terapia fotodinâmica. Os sítios foram irrigados com corante azul de metileno, após 3 min. (tempo de pré-irradiação), aplicou-se o Laser de diodo, com comprimento de onda de 660 nm e potência de 100 mW, energia de 1J/cm²), durante 10 seg. por sítio. Não foi utilizado ponteira de fibra óptica. Após análise dos resultados, os autores concluíram que a terapia fotodinâmica adjunta à terapia periodontal não-cirúrgica resulta em alterações, significativamente, melhores nos parâmetros clínicos analisados em pacientes com periodontite crônica.

CRISTODOULIDES *et al.* (2008) avaliaram os efeitos clínicos e microbiológicos da terapia fotodinâmica adjunta ao tratamento periodontal não-cirúrgico. Um total de 24 pacientes com diagnóstico de periodontite crônica, foram distribuídos aleatoriamente, em dois grupos: Grupo Controle, raspagem e alisamento radicular ; Grupo Teste, raspagem e alisamento radicular + terapia fotodinâmica. Os parâmetros clínicos (índice de placa, profundidade de bolsa, sangramento a sondagem, perda de inserção) foram medidos antes de iniciar o tratamento, 3 e 6 meses depois do tratamento (6 sítios por dente). Todos os indivíduos receberam raspagem e alisamento radicular em até 24 horas, e depois então, foi feita a randomização. No grupo Teste, foi realizada a irrigação dos sítios com corante azul de metileno, após 3 min. (tempo de pré-irradiação), aplicou-se o Laser de diodo, com comprimento de onda de 670 nm, potência de 75 mW, e energia de 4,55 J/cm², utilizando uma ponteira de fibra óptica, durante 1 min. por dente. As amostras microbiológicas foram extraídas da placa subgengival para analisar os seguintes microorganismos: *Aa*, *Pg*, *Pi*, *Tf*, *Td*, *Pm*, *Fn*, *Cr*, *Em Ec e Cs*. Após análise dos resultados, os autores concluíram que a terapia fotodinâmica adjunta à terapia periodontal não-cirúrgica não resultou em melhorias nos parâmetros clínicos de PBS e NI. No entanto, resultou em uma redução, significativamente, maior no sangramento à sondagem quando comparado à raspagem e alisamento radicular somente. A frequência da aplicação do PDT é uma possível explicação para a ausência de diferenças clínicas e microbiológicas entre os grupos. Na análise microbiológica, não houve significância estatística entre os grupos.

Seguindo a mesma linha de pesquisa CHONDROS *et al.* (2008), avaliaram a PDT adjunta ou não a terapia periodontal não-cirúrgica em pacientes em manutenção periodontal. Encontraram resultados semelhantes ao estudo anterior, ou seja, não resultando em uma

melhora adicional sobre os parâmetros clínicos de PBS e NI, mas resultou numa redução significativamente maior em SS quando comparado a terapia periodontal não-cirúrgica somente.

POLANSKY *et al.* (2009) analisaram os efeitos clínicos e bactericida da terapia fotodinâmica no tratamento da periodontite crônica, num ensaio clínico piloto randomizado controlado. Foram selecionados 58 pacientes com diagnóstico de periodontite crônica, que não haviam recebido tratamento periodontal nos últimos dois anos e não utilizaram antibioticoterapia nos últimos 12 meses. Cada um deveria apresentar pelo menos 3 sítios com bolsa periodontal ≥ 5 mm, sangramento à sondagem e presença de *P. gingivalis*. Sítios com profundidade à sondagem maior que 8 mm, foram excluídos, totalizando 225 avaliados. Os indivíduos foram divididos aleatoriamente em dois grupos: Grupo teste: raspagem e alisamento radicular + PDT (115 sítios); Grupo Controle: apenas raspagem e alisamento radicular (110 sítios). Os parâmetros clínicos (índice gengival, profundidade de bolsa à sondagem, sangramento à sondagem, perda de inserção clínica) foram medidos antes de iniciar o tratamento, e reavaliados 90 dias após o tratamento. A análise microbiológica para *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola* foi realizada no início, 10, 42 e 90 dias após o tratamento. Após tratamento Full-mouth em todos os pacientes, o grupo teste recebeu a PDT adicional, com irrigação do corante azul de metileno nos sítios, após 3 min. (tempo de pré-irradiação), aplicou-se o Laser de diodo (comprimento de onda de 680 nm e potência de 75 mW) com auxílio de ponteira de fibra óptica, durante 1 minuto. A análise microbiológica foi feita através do sistema microDent[®]. Não foram encontradas diferenças entre os grupos teste e controle tanto na análise dos parâmetros clínicos como microbiológicos. Sugerem que estudos longitudinais sejam realizados para investigar alterações positivas adicionais nos parâmetros clínicos à longo prazo.

3 OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi avaliar, clinicamente, sobre os parâmetros clínicos de profundidade de bolsa, perda de inserção clínica e sangramento a sondagem os efeitos da terapia fotodinâmica antimicrobiana no tratamento não-cirúrgico da periodontite crônica.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 SELEÇÃO DOS PACIENTES

Foram selecionados 15 pacientes com diagnóstico de periodontite crônica severa (ARMITAGE,1999), sendo 6 do sexo feminino e 9 do sexo masculino, com média de idade de 44 anos (DP = 6.68)

A seleção foi feita através da Clínica de Periodontia da Universidade do Grande Rio (Unigranrio). Os pacientes selecionados possuíam, no mínimo, 20 dentes e, pelo menos, cinco sítios em dentes uni radiculares com profundidade de bolsa e perda de inserção clínica ≥ 5 mm (distribuídos de forma bilateral), além de evidência radiográfica de perda óssea vertical e/ ou horizontal. Foram excluídos indivíduos que: 1- receberam tratamento periodontal nos últimos 12 meses; 2- apresentaram comprometimento sistêmico que pudessem influenciar na terapia; 3- estivessem grávidas; 4- eram fumantes; 5- fizeram uso de antibioticoterapia nos últimos 6 meses.

Todos os indivíduos envolvidos, foram informados da importância e objetivos do estudo. Receberam, também, informações sobre o uso do laser baseado na literatura. E estando de acordo com as implicações, os pacientes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO B).

O protocolo deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade do Grande Rio (CEP- Unigranrio), em 21 de Agosto de 2008 (protocolo n^o 0025.0.317.000.08); conforme resolução n^o 196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, sobre pesquisa envolvendo seres humanos.

4.2 DESENHO DO ESTUDO

É um estudo randomizado controlado, em um modelo de boca dividida, onde foram incluídos pares de dentes uniradulares contralaterais que possuíam um ou mais sítios com profundidade de bolsa ≥ 5 mm. Cada par, através de escolha aleatória, foi dividido em lado teste e controle. (de OLIVEIRA *et al.*, 2007)

4.3 PARÂMETROS CLÍNICOS

No exame periodontal inicial e dos 3 meses de acompanhamento, os seguintes parâmetros clínicos foram mensurados: (1) Profundidade de Bolsa a Sondagem (PBS), caracterizada pela distância da margem gengival até o fundo da bolsa; (2) Nível de Inserção (NI), caracterizada pela distância da junção cimento-esmalte até o fundo da bolsa; (3) Sangramento à Sondagem (SS), presença ou ausência de sangramento 30 segundos após a sondagem (AXELSON & LINDHE,1981). Tais medidas foram realizadas em quatro pontos (Mesial, Vestibular, Distal e Palatina/Lingual). Este exame foi realizado por um único examinador calibrado (utilizando a sonda periodontal, do tipo Universidade Carolina do Norte, 15 mm, (Hu-Friedy[®], Chicago, EUA).

4.4 PREPARO PRÉVIO DOS PACIENTES

Em todos os pacientes, na primeira consulta, foi realizada anamnese, controle de placa e instrução de higiene oral de acordo com a necessidade de cada indivíduo. Foi solicitado exame radiográfico completo de todos os pacientes.

4.5 TERAPIA PERIODONTAL

A terapia periodontal não cirúrgica foi realizada em todos os elementos dentários presentes, com raspagem supragengival ultra-sônica (ponta P10; Cavitron, Dentisply[®]) e manual com curetas do tipo Mc Call, n^o 13/14,17/18 (Hu-Friedy[®], Chicago, EUA), e raspagem subgengival e alisamento radicular, sob anestesia de bloqueio da região, utilizando curetas do tipo Gracey n^o 5/6;7/8;11/12;13/14 (Hu-Friedy[®], Chicago, EUA) e limas de Hirschfeld n^o 5/11 (Hu-Friedy[®], Chicago, EUA).

Foram selecionados dentes uni radiculares os quais foram divididos, de forma aleatória, em Lado Teste e Lado Controle. Os sítios do Lado Teste, receberam aplicação única da terapia fotodinâmica antimicrobiana, descrita a seguir, adaptado do protocolo de ANDERSEN *et al.*, 2007.

- 1) Isolamento relativo da área a ser irradiada;
- 2) Aplicação do agente fotossensibilizador (corante) azul de metileno 0,01% (Chimiolux[®], Hipofarma, Ribeirão das Neves - MG, Brasil), no interior da bolsa periodontal com auxílio de uma seringa Luer descartável de 3 ml; (Figura 6 e 7)

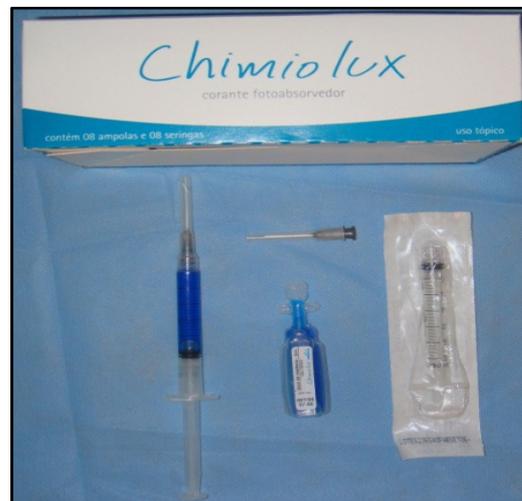


Figura 6 – Kit corante azul de metileno 0,01% (Chimiolux[®], Hipofarma, MG, Brasil)



Figura 7 – Aplicação do corante azul de metileno 0,01% no interior da bolsa periodontal com auxílio de uma seringa Luer.

- 3) Tempo de pré-irradiação de 5 minutos;

- 4) Irradiação, por fora da bolsa periodontal, com Laser de diodo em baixa intensidade (TwinFlex[®]; MMOptics; Brasil), emitindo no vermelho do espectro eletromagnético, semiconductor, com comprimento de onda de 660 nm, potência de 40 mW e área de spot de 0,04 mm². O modo de irradiação foi pontual com o tempo de aplicação de 2 minutos, a energia depositada foi de 4,8 J, resultando numa fluência de 120 J/cm² por sítio. Durante aplicação, a ponta ativa foi posicionada 90⁰ em relação ao longo eixo da área irradiada (Figura 8 e 9)



Figura 8 – Laser de diodo em baixa intensidade (TwinFlex[®]; MMOptics; Brasil), com os parâmetros (comprimento de onda; potência; fluência e tempo) utilizados no estudo.



Figura 9 – Aplicação do Laser de diodo de diodo em baixa intensidade (TwinFlex[®]; MMOptics; Brasil), emitindo no vermelho do espectro eletromagnético, com a ponta ativa posicionada 90⁰ em relação ao longo eixo do sítio.

Todo o tratamento foi realizado em um total de quatro consultas por paciente. O intervalo entre uma consulta e outra foi de 7 dias.

4.6 REAVALIAÇÕES CLÍNICAS

A primeira consulta de reavaliação foi realizada 30 dias após o término do tratamento, onde os sítios dos lados teste e controle, de todos os pacientes, foram reavaliados quanto aos parâmetros clínicos de Profundidade de Bolsa a Sondagem (PBS); Nível de Inserção (NI); e Sangramento à Sondagem (SS) (AXELSON & LINDHE,1981). As mesmas medidas foram feitas com 60 e 90 dias do término do tratamento. Raspagem supragengival e polimento coronário, assim como reforço das medidas de higiene oral foram executados quando necessário durante as reavaliações.

5 TRATAMENTO DOS DADOS

Após obtenção dos valores absolutos dos parâmetros clínicos de Profundidade de Bolsa a Sondagem (PBS); Nível de Inserção (NI); e Sangramento à Sondagem (SS) nos períodos: inicial, 30, 60 e 90 dias após o tratamento, foi calculada a taxa de redução, subtraindo as medidas de 30,60 e 90 dias pelas medidas iniciais, dos sítios com profundidade de bolsa à sondagem ≥ 5 mm.

Como os dados obtidos para os parâmetros clínicos de PBS e NI, foram paramétricos, as diferenças entre os dados coletados, do lado teste e controle, foram analisados com o teste t-student. Já os dados obtidos para SS, foram não-paramétricos, então utilizou-se o teste Wilcoxon, para verificar se houve diferença entre os tratamentos.

Da mesma forma, a análise dos dados de cada Lado separadamente, foi feita com o teste ANOVA, para os parâmetros PBS e NI, e Kruskal Wallis para SS.

O nível de significância utilizado para afirmar se existem ou não diferenças significativas entre os valores das médias observadas nos testes foi de 5%.

A análise estatística dos dados foi realizada através do programa Primer of Biostatistics v 4.0 (1996 McGraw Hill).

6 RESULTADOS

Na tabela 1 foi descrito os aspectos gerais dos pacientes, mostrando que a seleção foi feita dentro dos padrões previstos pela classificação das doenças periodontais (ARMITAGE, 1999) proposta para este estudo, caracterizando o diagnóstico de periodontite crônica.

Os dados completos (medidas de PBS, NI e SS) dos elementos utilizados estão descritos no ANEXO C.

Paciente	Nº Dentes	Idade	Sexo	PBS ≥ 5mm
1	27	42	Feminino	7
2	24	43	Masculino	16
3	20	53	Feminino	13
4	22	45	Masculino	20
5	24	31	Masculino	18
6	21	43	Masculino	9
7	28	50	Masculino	13
8	24	52	Feminino	34
9	20	45	Masculino	16
10	28	49	Masculino	12
11	25	38	Masculino	21
12	20	42	Feminino	20
13	26	47	Feminino	20
14	28	31	Feminino	16
15	22	49	Masculino	12
			9 Masculino	
Média (DP)	23.9 (3.01)	44 (6.68)	6 Feminino	16,46 (6,42)

Tabela 1: Características da amostra, com número de dentes, idade, sexo e número de sítios com profundidade de bolsa ≥ 5 mm nos dentes uniradiculares.

Foram incluídos um total de 51 pares de dentes uniradiculares contralaterais (40 Incisivos Centrais; 34 Incisivos Laterais; 28 Caninos) que possuíam um ou mais sítios com profundidade de bolsa a sondagem maior ou igual a 5mm, num total de 192 sítios. No período de 30 dias foram reavaliados os 15 pacientes (192 sítios), no período de 60 dias 14 pacientes (182 sítios) e no período de 90 dias 12 pacientes (154 sítios).

Na tabela 2 estão descritos o número de sítios com PBS e NI ≥ 5 mm e ≥ 7 mm e com sangramento a sondagem nos lados teste e controle.

	Lado Teste	Lado Controle
PBS 5-6mm	60	55
PBS ≥ 7mm	41	38
NI 5-6mm	34	37
NI ≥ 7mm	59	63
SS	78	83

Tabela 2: Número de sítios com PBS e NI ≥ 5 mm e ≥ 7 mm, e com sangramento a sondagem positivo nos lados teste e controle.

Nas tabelas 3, 4 e 5 estão descritas as médias e desvio-padrão da PBS, NI e SS, nos intervalos de tempo inicial, com 30, 60 e 90 dias dos lados teste e controle, mostrando que houve redução da média destes parâmetros clínicos em ambos os lados, em todos os períodos avaliados, quando comparados com as medidas iniciais e que estas diferenças foram estatisticamente significantes.

	INICIAL	30 DIAS	60 DIAS	90 DIAS
Lado Teste PBS / mm	6,35 \pm 1,23	4,92 \pm 1,44	4,87 \pm 1,52	4,72 \pm 1,53
Lado Controle PBS / mm	6,28 \pm 1,29	5,05 \pm 1,62	5,05 \pm 1,47	5,02 \pm 1,74
Valor de p	0,00			

Tabela 3: Médias e Desvio-Padrão da profundidade de bolsa a sondagem inicial, com 30, 60 e 90 dias dos lados teste e controle.

	INICIAL	30 DIAS	60 DIAS	90 DIAS
Lado Teste NI / mm	7,17 ± 1,45	6,19 ± 1,73	6,17 ± 1,76	6,02 ± 1,81
Lado Controle NI / mm	7,06 ± 1,62	6,57 ± 2,12	6,57 ± 1,85	6,58 ± 2,20
Valor de p	0,00			

Tabela 4: Médias e Desvio-Padrão do nível de inserção inicial, com 30, 60 e 90 dias dos lados teste e controle.

	INICIAL	30 DIAS	60 DIAS	90 DIAS
Lado Teste SS / %	85,48 ± 22,34	34,05 ± 23,77	46,52 ± 29,20	34,29 ± 23,20
Lado Controle SS / %	89,2 ± 19,60	55,13 ± 34,28	59,96 ± 26,83	46,93 ± 30,63
Valor de p	0,00			

Tabela 5: Médias e Desvio-Padrão da porcentagem do sangramento à sondagem inicial, com 30, 60 e 90 dias dos lados teste e controle.

A tabela 6 mostra as médias e desvios-padrão do resultado das terapias nos grupos teste e controle nos sítios com $PBS \geq 5\text{mm}$, nos intervalos de 30, 60 e 90 dias. Houve redução dos níveis de PBS e NI sem, no entanto, mostrar diferença estatisticamente significativa entre os grupos teste e controle. A porcentagem de redução do número de sítios com sangramento a sondagem também mostrou redução em ambos os grupos, com o grupo teste mostrando uma redução estatisticamente significativa em relação ao grupo controle, no período de 60 dias.

	30 DIAS		60 DIAS		90 DIAS	
	Lado Teste	Lado Controle	Lado Teste	Lado Controle	Lado Teste	Lado Controle
PBS /mm	-1,44 ± 1,51	-1,18 ± 1,73	-1,40 ± 1,61	-1,12 ± 1,83	-1,52 ± 1,64	-1,27 ± 2,00
Valor de p	0,269		0,266		0,404	
NI /mm	-0,97 ± 1,47	-0,48 ± 2,16	-0,94 ± 1,75	-0,38 ± 2,12	-1,10 ± 1,61	-0,53 ± 2,34
Valor de p	0,069		0,054		0,080	
SS / %	-51,42 ± 36,34	-34,08 ± 40,24	-37,92 ± 40,53	-28,47 ± 34,51	-51,13 ± 38,27	-41,96 ± 25,68
Valor de p	0,052		0,048		0,054	

Tabela 6: Médias e Desvios-Padrão do resultado (regressão) das terapias nos grupos teste e controle nos sítios com profundidade de bolsa à sondagem $\geq 5\text{mm}$, em todos os intervalos de tempo ($\alpha=0,05$).

7 DISCUSSÃO

A PDT envolve, basicamente, uma tríade: luz, um agente fotossensibilizador (corante) e oxigênio. É baseada no princípio de que um fotossensibilizador liga-se a células alvo e é ativado por uma fonte de luz visível, com comprimento de onda específico. Nesta reação, ocorre a formação de oxigênio singlete e radicais livres, que podem provocar a inativação microbiana (KONOPKA & GOSLINSKI, 2007; MAISH *et al.*, 2007). O objetivo desta terapia é a obtenção de um efeito antimicrobiano, suficientemente grande, sobre o agente causador da infecção pela ação seletiva da luz e do corante sobre o alvo, evitando danos sobre tecidos saudáveis do hospedeiro (GARCEZ *et al.*, 2003). Pesquisas recentes mostraram como vantagens desta terapia, a simplicidade da técnica, ser de fácil execução mesmo em locais de difícil acesso, baixa toxicidade do corante e eficiente efeito local e bactericida (KONOPKA & GOSLINSKI, 2007). Sendo assim, a terapia fotodinâmica pode ser uma alternativa viável para complementar a terapia periodontal não cirúrgica.

O presente estudo testou, clinicamente, a aplicabilidade da terapia fotodinâmica adjunta a terapia não-cirúrgica da periodontite crônica. Os resultados mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa nos parâmetros clínicos avaliados nos Lado Teste e Controle, nos três períodos de acompanhamento após a conclusão das terapias. Todavia, quando comparados separadamente, os Lados Teste e Controle, mostraram melhoria estatisticamente significativa nos parâmetros e períodos avaliados.

Os resultados clínicos obtidos com a terapia não cirúrgica isoladamente mostraram eficácia na redução da PBS e NI, compatível com os resultados de BADERSTEIN (1987) e COOB (1996), que confirmaram o sucesso desta terapia no controle da doença periodontal. VANDER WEIDJEN E TIMMERMAN (2002), em uma revisão sistemática, mostraram um de média de ganho de inserção nas bolsas com PBS ≥ 5 mm de 0,64 mm e da redução da profundidade de bolsa de 1,18 mm, que se assemelham com os achados deste estudo que mostrou uma redução de PBS em torno de 1,27 mm e ganho de inserção de 0,53 em média, após 90 dias.

Na comparação entre os resultados da terapia não cirúrgica associada ao PDT e a terapia não cirúrgica isolada, não houve diferenças estatísticas para os parâmetros clínicos de PBS, NI. Estes achados estão em concordância com CRISTODOULIDES *et al.* (2008); CHONDROS *et al.* (2008) e POLANSKY *et al.* (2009), que avaliaram pacientes com periodontite crônica usando uma metodologia bem parecida, nos períodos de 3 e 6 meses para

os dois primeiro e 3 meses para o segundo estudo. Em relação a SS, CRISTODOULIDES *et al.* (2008) e CHONDROS *et al.* (2008), encontraram diferença estatística intergrupos ($p < 0.01$), nos períodos avaliados. No presente estudo também foi encontrada diferença estatística entre os grupos em relação a este parâmetro no período de 60 dias, e valores de p muito próximos de 0,05, para 30 e 90 dias, cuja estatística talvez fosse obtida caso a amostra fosse maior. No entanto, esse resultado não deve ser enaltecido, porque o parâmetro SS não seria o mais efetivo para avaliar uma melhor efetividade da terapia não-cirúrgica associada ao PDT.

Outros trabalhos com metodologia semelhante produziram resultados, significativamente, melhores para raspagem e alisamento radicular associada a PDT do que apenas raspagem e alisamento radicular. ANDERSEN *et al.* (2007), observaram uma redução na PBS de $1,11 \pm 0,53$ e $0,74 \pm 0,43$ mm, 12 semanas após a raspagem e alisamento radicular adjunta ou não à PDT, respectivamente ($p < 0,05$). BRAUN *et al.* (2008), num estudo de boca dividida, mostrou um ganho relativo no nível de inserção de 0,67mm após raspagem e alisamento radicular adjunta à PDT ($p < 0,05$), e de 0,35mm após raspagem e alisamento radicular apenas ($p < 0,05$). O que deve ser observado, nestes resultados clínicos, com ou sem diferenças estatísticas entre a terapia periodontal não cirúrgica isolada ou associada ao PDT, é que as reduções de PBS e ganhos de NI estão em torno de 1 mm que pode apresentar pouca relevância clínica.

Embora os dados disponíveis nos estudos “*in vitro*” e “*in vivo*”, tenham demonstrado que a PDT possui um alto efeito bactericida contra periodontopatógenos (SOUKOS *et al.*, 2003; KÖMERIK *et al.*, 2003; PFITZNER *et al.*, 2004; SIGUSCH *et al.*, 2005), muitas são as variáveis que influenciam no resultado da terapia fotodinâmica, a simples transferência dos achados de redução bacteriana “*in vitro*” e “*in vivo*” para a clínica podem não apresentar os mesmos resultados.

A escolha do azul de metileno como corante a 0,01% à outros tipos de fotossensibilizadores deveu-se por seu uso já ser atestado há quase um século, e sua toxicidade para humanos ser, relativamente, baixa. Na PDT, se mostrou muito eficaz na inativação de bactérias periodontopatogênicas, sendo muito utilizado, principalmente, em estudos clínicos, de acordo com a literatura utilizada (YILMAZ *et al.*, 2002; de OLIVEIRA *et al.*, 2007; ANDERSEN *et al.*, 2007; BRAUN *et al.*, 2008; CRISTODOULIDES *et al.*, 2008; CHONDROS *et al.*, 2008; POLANSKY *et al.*, 2009), além de já possuir kits disponíveis comercialmente. A principal fonte de luz utilizada na PDT, é o laser de diodo de baixa potência, emitindo no vermelho do espectro eletromagnético. No entanto, ainda não ficou claro, o que seria mais importante para PDT, a fonte de luz para ativação ou o tipo de

fotossensibilizador. Além disso, os parâmetros da fonte de luz bem como o tempo ideal para aplicação do corante e sua atuação, ainda não foram completamente elucidados.

O período de pré-irradiação do fotossensibilizador preconizado na PDT antimicrobiana varia de um a dez minutos (RIBEIRO *et al.*, 2005). Na metodologia utilizada, a permanência do corante AM, foi de cinco minutos e a aplicação do PDT realizada em uma única sessão. Pode ser que um maior número de aplicações influenciasse o resultado da terapia associada ao PDT. STREET *et al.* (2009) verificaram, num estudo “*in vitro*” com biofilme fúngico, que a erradicação de 99,9 % foi conseguida após a segunda aplicação (48h.) da PDT. Outras aplicações não implicariam em desequilíbrio da microbiota oral, pois na PDT tópica, a ação da terapia limita-se ao sítio de aplicação do fotossensibilizador e da luz. Novas avaliações são necessárias, para esclarecer definitivamente, o número de aplicações que melhorem o resultado desta terapia. CRISTODOULIDES *et al.* 2008 sugeriram em sua discussão que o a terapia com PDT deveria ser repetida durante as primeiras semanas de cicatrização para aumentar o efeito antimicrobiano.

Diferentes parâmetros, tais como: comprimento de onda, potência, fluência, tempo de pré-irradiação, e tempo de aplicação da luz foram utilizados nos estudos clínicos mencionados, o que pode dificultar comparações diretas entre os protocolos estabelecidos. Além disso, ainda existem poucos estudos clínicos controlados, comparando a terapia periodontal não-cirúrgica adjunta a PDT. Sendo assim, mais estudos são necessários, antes a uma conclusão definitiva sobre os efeitos clínicos benéficos destas terapias utilizadas em conjunto.

8 Conclusão

- Quando comparados os lados teste e controle não houve diferenças estatísticas para os parâmetros clínicos de PBS e NI, em todos os períodos avaliados. Já para SS houve maior redução, com diferença estatisticamente significativa no período de 60 dias.
- Houve melhora nos parâmetros clínicos tanto na terapia não- cirúrgica isolada como na associada a PDT.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

AAP. Consensus report. Discussion section I. In: NEVINS M, BECKER W, KORNMAN K, editors. **Proceedings of the World Workshop in Clinical Periodontics**. Chicago: American Academy of Periodontology, 1999: I-23-I-32.

AAP. Glossary of terms. 4th edn. Chicago: **American Academy of Periodontology**, 2001.

ACKROYD, R.; KELTY, C.; BROWN, N.; REED, M. The history of photodetection and photodynamic therapy. **Photochem Photobiol**, v.74, p.656-669, 2001

ANDERSEN, R.; LOEBEL, N.; HAMMOND, D.; WILSON, M. Treatment of periodontal disease by photodisinfection compared to scaling and root planning. **J Clin Dent**, v.18, p.34-38, 2007.

AOKI, A.; MIYUKI SASAKI, K.; WATANABE, H.; ISHIKAWA, I. Lasers in nonsurgical periodontal therapy. **Periodontol 2000**, v.36, p.59-97, 2004.

ARMITAGE, G.C. Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. **Annals of Periodontology**, v.4, n.1, p.1-6, 1999.

AXELSON, P.; LINDHE, J. The significance of maintenance care in the treatment of periodontal disease. **J Clin Periodontol**, v.8, n.4, p.281-294, 1981.

BADERSTEIN, A.; NILVEUS, R.; EGELBERG, J. Effect of non-surgical periodontal therapy II. Severely advanced periodontitis. **J Clin Periodontol**, v.11, p.63-75, 1984.

BADERSTEIN, A.; NIVEUS, R.; EGELBERG, J. 4-year observations of basic periodontal therapy. **J Clin Periodontol**, v.14, p.438-444, 1987.

BHATTI, M.; MACROBERT, A.; MEGHJI, S.; HENDERSON, B.; WILSON, M. Effect of dosimetric and physiological factors on the lethal photosensitization of *Porphyromonas gingivalis* *in vitro*. **Photochem and Photobiol**, v.65, n.6, p.1026-1031, 1997.

¹ Referências de acordo com a NBR 6023:2002 da *Associação Brasileira de Normas Técnicas* (ABNT).

BORISSEVITCH, I.; SCHABERLE, F. A. Fotoquimioterapia – Um Novo Método de Tratamento de Doenças Graves. Princípios Básicos. Disponível em URL: <http://dfm.ffclrp.usp.br/fabio/fotoquimioterapia.htm>. Acesso em 12 Abril de 2008

BORRELL, L.N.; PAPAPANOU, P.N. Analytical epidemiology of periodontitis. *J Clin Periodontol.*, v.32, p.132-58, 2005.

BRAUN, A.; DEHN, C.; KRAUSE, F.; JEPSEN, S. Short-term clinical effects of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in periodontal treatment: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.*, v.35, p. 877–884, 2008.

BROWN, L.J.; LÖE, H. Prevalence, extent, severity and progression of periodontal disease. *Periodontol* **2000**, v.2, p.57-71, 1993.

CHAN, Y.; LAI, C.H. Bactericidal effects of different laser wavelengths on periodontopathic germs in photodynamic therapy. *Lasers Med Sci* , v.18, p.51-55, 2003.

CHONDROS, P.; NIKOLIDAKIS, D.; CHRISTODOULIDES, N.; RÖSSLER, R.; GUTKNECHT, N.; SCULEAN, A. Photodynamic therapy as adjunct to non-surgical periodontal treatment in patients on periodontal maintenance: a randomized controlled clinical trial. *Lasers Med Sci*, 2008. Disponível em URL: http://www.helbo.at/datasheets/Article_J_Lasers%20Med%20Science_Sculean_0508.pdf. Acesso em 20 de janeiro de 2009.

CHRISTODOULIDES, N.; NIKOLIDAKIS, D.; CHONDROS, P.; BECKER, J.; SCHWARZ, F.; RÖSSLER, R.; SCULEAN, A. Photodynamic therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a randomized, controlled clinical trial. *J Periodontol*, v.7, n.9, p.1638-44, 2008.

CLAFFEY, N.; EGELBERG, J. Clinical indicators of probing attachment loss following initial periodontal treatment in advanced periodontitis patients. *J Clin Periodontol*, v.22, p.690-696, 1995.

COBB, C.M. Non-surgical pocket therapy: mechanical. *Ann Periodontol*, v.1, p.443-90, 1996.

COBB, C.M. Lasers in periodontics: a review of the literature. *J Periodontol*, v.77, p.545-564, 2006.

CUGINI, M.A.; HAFFAJEE, A.D.; SMITH, C.; KENT, R.L.J.R.; SOCRANSKY, S.S. The effect of scaling and root planning on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases: 12-month results. *J Clin Periodontol*, v.27, p.30-36, 2000.

DARVEAU, R.P.; TANNER, A.; PAGE, R.C. The microbial challenge in periodontitis. **Periodontol** 2000, v.14, p.12-32, 1997.

de ALMEIDA, J.M.; THEODORO, L.H.; BOSCO, A.F.; NAGATA, M.J.; OSHIWA, M.; GARCIA, V.G. Influence of photodynamic therapy on the development of ligature-induced periodontitis in rats. **J Periodontol**, v.78, p.566-75, 2007.

de OLIVEIRA, R.R.; SCHWARTZ-FILHO, H.O.; NOVAES JR., A.B.; TABA JR., M. Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis: a preliminary randomized controlled clinical study. **J Periodontol**, v.78, n.6, p.965-973, 2007.

DOBSON, J.; WILSON, M. Sensitization of oral bacteria in biofilms to killing by light from a low-power laser. **Archs Oral Biol**, v.37, n.11, p.883-887,1992.

DOUNGUDOMDACHA, S.; RAWLISON, A.; WALSH, T.F.; DOUGLAS, C.W. Effect of non-surgical periodontal treatment on clinical parameters, and the numbers of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* and *Actinobacillus actinomycetencomitans* at adults periodontitis site. **J Clin Periodontol**, v.28, p.437-445, 2001.

FERES, M.; HAFFAJEE, A.D.; ALLARD, K.; SOM, S.; GOODSON, J.M.; SOCRANSKY, S.S. Antibiotic resistance of subgingival species during and after antibiotic therapy. J Clin Periodontol., v.29, n.8, p.724-35, 2002.

FERNANDES, L.A.; de ALMEIDA, J.M.; THEODORO, L.H.; BOSCO, A.F.; NAGATA, M.J.H.; MARTINS, T.M.; OKAMOTO, T.; GARCIA, V.G. Treatment of experimental periodontal disease by photodynamic therapy in immunosuppressed rats. **J Clin Periodontol**, v.36, p.219–228, 2009.

FLEMMING TF. Periodontitis. Ann Periodontol., v.4, n.1, p.32-8,1999.

GARCEZ, A.A. Terapia fotodinâmica em odontologia: laser de baixa potência para redução microbiana. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v. 57, n. 3, p.223-225. 2003.

GENOVESE, W. J. **Laser de baixa intensidade – aplicações terapêuticas em odontologia**. Ed. Santos, São Paulo, 2007.

HAFFAJEE, A.D.; CUGINI, M.A.; DIBART, S.; SMITH, C.; KENT, R.L.J.R.; SOCRANSKY, S.S. The effect of SRP on the clinical e microbiological parameters of periodontal disease. **J Clin Periodontol**, v.24, p.324-334, 1997.

HARRIS, F.; CHATFIELD, L.K.; PHOENIX, D.A.. Phenothiazinium based photosensitizers photodynamic agents with a multiplicity of cellular targets and clinical applications. **Current Drug Targets**, v.6, p.615-627, 2006.

HAYEK, R.R.; ARAUJO, N.S.; GIOSO, M.A.; FERREIRA, J.; BAPTISTA-SOBRINHO, C.A.; YAMADA, A.M.; et al. Comparative study between the effects of photodynamic therapy and conventional therapy on microbial reduction in ligature-induced peri-implantitis in dogs. **J Periodontol.**, v.76, p.1275-1281, 2005.

HELLSTRÖM, M.K.; RAMBERG, P.; KROK, L.; LINDHE J. The effect of supragingival plaque control on the subgingival microflora in human periodontitis. J Clin Periodontol., v.23, n.10, p.934-40, 1996.

JORI, G. Photodynamic therapy of microbial infections: state of the art and perspectives. **JEPTO**, v. 25, p.505-519, 2006.

KARU, T. **Ten lectures on basic science of laser phototherapy**. Prima Books Grängesberg, Sweden, 2007.

KÖMERIK, N.; WILSON, M.; POOLE, S. The effect of photodynamic action on two virulence factors of gram-negative bacteria. **Photochemistry and Photobiology**, v.72, n.5, p.676–680, 2000.

KÖMERIK, N.; WILSON, M. Factors influencing the susceptibility of Gram-negative bacteria to toluidine blue O-mediated lethal photosensitization. **Journal Applied Microbiology**, v.92, p.618-623, 2002.

KÖMERIK, N.; NAKANISH, H.; MACROBERT, A.J.; HENDERSON, B.; SPEIGHT, P.; WILSON, M. In vivo killing of *Porphyromonas gingivallis* by toluidine blue-mediated photosensitization in an animal model. **Antimicrob Agents Chemother**, v.47, n.3, p. 932-40, 2003.

KÖMERIK, N.; MACROBERT, A.J. Photodynamic therapy as an alternative antimicrobial modality for oral infection. J Environ Pathol Toxicol Oncol., v.25, n.1-2, p.487-504, 2006

KONAN, Y.N.; GURNY, R.; ALLE´MANN, E. State of the art in the delivery of photosensitizers for photodynamic therapy. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.66, p.89–106, 2002.

KÖNIG, K.; TESCHKE, M.; SIGUSCH, B.; GLOCKMANN, E.; EICK, S.; PFISTER, W. Red light kills bacteria via photodynamic action. **Cellular and Molecular Biology**, v.46, n.7, p. 1297-1303, 2000.

KONOPKA, K.; GOSLINSKI, T. Photodynamic therapy in dentistry. **J Dental Research**, v.86, n.8, p.694-707,2007.

LANG, N.P.; TONETTI, M.S. Periodontal diagnosis in treated periodontitis. Why, when and how to use clinical parameters. J Clin Periodontol., v.23, p.240-50, 1996.

LEON, L. E.; VOGEL, R. I. A comparison of the effectiveness of hand scaling and ultrasonic debridement in furcations as evaluated by differential dark-field microscopy. **J Periodontol.**, v.58, p: 86-94, 1987.

LÖE, H.; ANERUD, A.; BOYSEN, H.; MORRISON, E. Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. J Clin Periodontol., v.13, n.5, p.431-45, 1986.

LOSS B, NILUND K, CLAFFEY N. Clinical effects of root debridement in molar e non-molar teeth. A 2-years follow-up. **J Clin Periodontol**, v.16, p.647-653, 1989.

MACHTEI, E.E.; HAUSMAN, E.; SCHIMIDT, M.; GROSSI, S.G.; DUNFORD, R.; SCHIFFERIE, R.; et al. Radiographic and clinical responses to periodontal therapy. **J Periodontol**, v.69, p.590-595, 1998.

MAGNUSSON, J.; LINDHE, J.; YONEYAMA, T.; LIJENBERG, B. Recolonization of a subgingival microbiota following scalling in deep pockets. **J Clin Periodontol**, v.11, p. 193-207, 1984.

MAISCH, T. Anti-microbial photodynamic therapy: useful in the future?. **Lasers Med Sci**, v.22, p.83–91, 2007.

MEISEL, P.; KOCHER, T. Photodynamic therapy for periodontal diseases: state of the art. **J Photochem Photobiol B**, v.79, p.159-70, 2005.

MULLER, H.P.; HARTMAN, J.; FLORES DE JACOBY, L. Clinical alterations in relation to the morphological composition of the subgingival microflora following scaling and root planing. J Clin Periodontol., v.13, p.825-32, 1986.

NEWMAN, M.G; TAKEI, H.; CARRANZA, F.A.; KLOKKEVOLD, P.R. **Periodontia clínica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

NORDLAND, P.; GARRETT, S.; KIGER, R.; VANOOTEGHEM, R.; HUTCHENS, L.H.; EGELBERG, J. The effects of plaque control and root debridement in molar teeth. **J Clin Periodontol**, v.14, p.231-236, 1987.

PACKER, S.; BHATTI M.; BURNS, T.; WILSON, M. Inactivation of proteolytic enzymes from *Porphyromonas gingivallis* using light activated agents. *Laser Med Sci.*, v.15, p. 24-30, 2000.

PAGE, R.C.; OFFENBACHER, S.; SCHROEDER, H.E.; SEYMOUR, G.J.; KORNMAN, K.S. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. **Periodontol 2000**, v.14, p.216-48, 1997.

PAWLOWSKI, A.P.; CHEN, A.; HACKER, B.M.; MANCL, L.A.; PAGE, R.C.; ROBERTS, F.A. Clinical effects of scaling and root planing on untreated teeth. **J Clin Periodontol.**, v.32, n.1, p.21-8, 2005.

PFITZNER, A.; SIGUSCH, B.W.; ALBRECHT, V.; GLOCKMANN, E. Killing of periodontopathogenic bacteria by photodynamic therapy. **J Periodontol**, v.75, p.1343-1349, 2004.

POLANSKY, R.; HAAS, M.; HESCHL, A.; WIMMER, G. Clinical effectiveness of photodynamic therapy in the treatment of periodontitis. **J Clin Periodontol.**, v.36, p.575–580, 2009.

PRATES, R.A.; YAMADA, A.M.; JR., SUZUKI, L.C.; EIKO HASHIMOTO, M.C.; CAI, S.; GOUW-SOARES, S.; et al. Bactericidal effect of malachite green and red laser on *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. **J Photochem Photobiol B**, v.86, p.70-76, 2007.

QADRI, T.; MIRANDA, L.; TUNER, J.; GUSTAFSSON, A. The short-term effects of low-level lasers as adjunct therapy in the treatment of periodontal inflammation. **J Clin Periodontol**, v.32, p.714–719, 2005.

QIN, Y.L.; LUAN, X.L.; BI, L.J.; SHENG, Y.Q.; ZHOU, C.N.; ZHANG, Z.G. Comparison of toluidine blue-mediated photodynamic therapy and conventional scaling treatment for periodontitis in rats. **J Periodont Res**, v.43, p.162–167, 2008.

QUIRYNEN, M.; TEUGHELS, W.; de SOETE, M.; VAN STEENBERGHE, D. Topical antiseptics and antibiotics in the initial therapy of chronic adult periodontitis: microbiological aspects. **Periodontol** 2000, v.28, p.72–90, 2002.

REDMOND, R.W.; KOCHEVAR, I. Spatially Resolved Cellular Responses to Singlet Oxygen. **Photochemistry and Photobiology**, v.82, p.1178-1186, 2006.

RENVERT S, NILVEUS R, DAHLEN G, SLOTS J, EGELBERG J. 5-year follow up of periodontal intraosseous defects treated by root planing or flap surgery. **J Clin Periodontol**, v.17, p.356-363, 1990.

RIBEIRO, M.S.; GROTH, E.B.; YAMADA, A.M.; GARCEZ, A.S.; SUZUKI, L.C.; PRATES, R.A.; NUNEZ, S.C. **Terapia fotodinâmica antimicrobiana. Aplicações na odontologia**. 23º CIOSP, São Paulo, 2005.

SARKAR, S; WILSON, M. Lethal photosensitization of bacteria in subgingival plaque from patients with chronic periodontitis. **J Periodontal Res**, v.28, n.3, p.204-10,1993.

SCULEAN, A.; SCHWARTZ, F.; BERAKDAR, M.; ROMANOS, G.E.; BRECX, M.; WILLERSHAUSEN, B.; et al. Non-surgical periodontal treatment with a new ultrasonic device or hand instruments. A prospective, controlled clinical study. **J Clin Periodontol**, v.31, p.428-433, 2004.

SHIBLI, J.A.; MARTINS, M.C.; THEODORO, L.H.; LOTUFO, R.F.; GARCIA, V.G.; MARCANTONIO, E.J. Lethal photosensitization in microbiological treatment of ligature-induced peri-implantitis: a preliminary study in dogs. **J Oral Sci.**, v.45, p.17-23, 2003.

SIGUSCH, B.W.; PFITZNER, A.; ALBRECHT, V.; GLOCKMANN, E. Efficacy of photodynamic therapy on inflammatory signs and two selected periodontopathogenic species in a beagle dog model. **J Periodontol**, v.76, p.1100-5, 2005.

SLOTS, J. The search for effective, safe and affordable periodontal therapy. **Periodontol** 2000, v.28, p.9-11, 2002.

SOUKOS, N.S.; WILSON, M.; BURNS, T.; SPEIGHT, P.M. Photodynamic effects of toluidine blue on human oral keratinocytes and fibroblasts and *Streptococcus sanguis* evaluated *in vitro*. Lasers Surg Med., v.18, n.3, p.253-9, 1996.

SOUZA, Gerdal Roberto de. **Análise comparativa por espectroscopia da emissão de luz por LED'S vermelhos e lasers emitindo no vermelho do espectro eletromagnético na**

redução de bactérias periodontopatogênicas. 2007. 123 f. Tese de doutorado, Programa de pós-graduação em engenharia mecânica, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil, 2007.

STREET, C.N.; GIBBS, A.; PEDIGO, L.; ANDERSEN, D.; LOEBEL, N.G. In vitro photodynamic eradication of *Pseudomonas aeruginosa* in planktonic and biofilm culture. Photochem Photobiol., v.85, p: 137-43, 2009.

TAKASAKI, A.A.; AOKI, A.; MIZUTANI, K.; SCHWARZ, A. S.; WANG, C.; KOSHY, G.; ROMANOS, G.; ISHIKAWA I.; IZUMI Y. Application of antimicrobial therapy in periodontal and peri-implant diseases. **Periodontol** 2000, v. 51, p. 1-32, 2009.

TINOCO, E. M. B.; BELDI, M. I.; LANA, M.; CAMPEDELLI, F.; LOUREIRO, C. A.; BELLINI, H. ; RAMS, THOMAS E ; TINOCO, N. M. ; GJERMO, P. ; PREUS, H. . Clinical and microbiologic effects of adjunctive antibiotics in the treatment of localized juvenile periodontitis. **J. Periodontol.**, v. 69, n. 12, p. 1355-1363, 1998.

TUNÉR, J; HODE, L. **The Laser Therapy Handbook.** Ed. Prima Books: Grängesberg, Suécia, 2007.

USACHEVA, M.N.; TEICHERT, M.C.; BIEL, M.A. Comparision of the methylene blue and toluidine blue photobactericidal efficacy against gram-positive and gram-negative microorganisms. **Lasers Surg Med**, v.29, p.165-173, 2001.

USACHEVA, M.N.; TEICHERT, M.C.; BIEL, M.A. The role of the methylene blue and toluidine blue monomers and dimers in the photoinactivation of bacteria. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.71, p.87-98, 2003.

VANDER WEIJDEN, G.A.; TIMMERMAN, M.F. A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. J Clin Periodontol., v. 29, p. 55-71, 2002.

WAINWRIGHT, M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). **J Antimicrob Chemother**, v.42, n.1, p.13-28, 1998.

WALKER, C. The acquisition of antibiotic resistance in the periodontal microflora. **Periodontol** 2000, v.10, p.79-80, 1996.

WALKER, C.; KARPINIA, K. Rationale for use of antibiotics in periodontics. **J Periodontol**, v.73, p.1188-1196, 2002.

WALKER, C.B.; KARPINIA, K.; BAEHNI, P. Chemotherapeutics: antibiotics and other antimicrobials. Periodontol 2000., v.36, p.146-65, 2004.

WILSON, M. Photolysis of oral bacteria and its potential use in the treatment of caries and periodontal disease. **J Applied Bacteriology**, v.75, p. 299-306, 1993.

WILSON, M.; BURNS, T.; PRARTEN, J. Killing of *Streptococcus sanguis* in biofilms using a light-activated antimicrobial agent. **J Antimicrob Chem**, v.37, p.377-381, 1996.

WILSON, M.; BURNS, T.; PRATTEN, J.; PEARSON, G.J. Bacteria in supragingival plaque samples can be killed by low-power laser light in the presence of a photosensitizer. **J Appl Bacteriol**, v.78, p.569-74, 1995.

WILSON, M.; DOBSON, J. Lethal photosensitization of oral anaerobic bacteria. **Clin Infect Dis**, v.16, p.414-15, 1993.

WILSON, M.; DOBSON, J.; HARVEY, W. Sensitization of oral bacteria to killing by low-power laser radiation. **Curr Microbiol**, v.25, p.77-81, 1992.

WILSON, M.; DOBSON, J.; SARKAR, S. Sensitization of periodontopathogenic bacteria to killing by light from a low-power laser. **Oral Microbiol Immunol**, v.8, p.182-187, 1993.

XIMÉNEZ-FYVIE, L.A.; HAFFAJEE, A.D.; SOCRANSKY, S.S. Microbial composition of supra- and subgingival plaque in subjects with adult periodontitis. J Clin Periodontol., v.27, n.10, p.722-32, 2000.

YILMAZ, S.; KURU, B.; KURU, L.; NOYAN, Ü.; ARGUN, D.; KADIR, T. Effect of galium arsenide diode laser on human periodontal disease: a microbiological and clinical study. **Lasers Surg Med**, v.30, n.1, p.60-66, 2002.

ZANIN, I.C.J.; GONÇALVES, R.B. **Novas perspectivas do uso do laser terapêutico.** In: Brugnera Júnior A.; SANTOS A.E.C., BOLGNA E.D.; LADALARDO, T.C.C.G. Laserterapia aplicada à clínica odontológica. p.99-102. São Paulo, Santos, 2003.

ANEXO A – Aprovação do Comitê de ética em Pesquisa da Universidade do Grande Rio.



Duque de Caxias, 21 de agosto de 2008

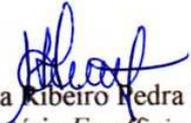
Do: Comitê de Ética em Pesquisa da UNIGRANRIO
Prof. Ms Renato Cerqueira Zambrotti
Para Investigadora Principal: Bianca Calil Feldman
Orientador: Dr. Eduardo Muniz Barreto Tinoco

O Comitê de Ética em Pesquisa da UNIGRANRIO, após avaliação considerou aprovado o projeto de pesquisa protocolado sob o nº. 0025.0.317.000-08, "UTILIZAÇÃO DA TERAPIA FOTODINÂMICA DA PERIODONTIA CRÔNICA", encontrando-se a referida pesquisa e o Consentimento Livre e Esclarecido de conformidade com a Resolução n.º 196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, sobre pesquisa envolvendo seres humanos.

O pesquisador deverá informar ao Comitê de Ética qualquer acontecimento ocorrido no decorrer da pesquisa.

O Comitê de Ética em Pesquisa solicita a V. S^a., que ao término da pesquisa encaminhe a este comitê um sumário dos resultados do projeto, previsto para novembro de 2008, a fim de que seja expedido o certificado de aprovação final.


Prof. Ms Renato Cerqueira Zambrotti
Coordenador CEP/UNIGRANRIO


Márcia Kibeiro Pedra Fixe
Secretária *Ex officio*

ANEXO B - Formulário de Consentimento Livre e Esclarecido.



UNIVERSIDADE DO GRANDE RIO PROFESSOR JOSÉ DE SOUZA HERDY

PROJETO DE CAMPO UNIGRANRIO

Formulário de Consentimento Livre e Esclarecido

Prezado Sr(a) e Responsável

A Universidade do Grande Rio (UNIGRANRIO) está realizando um trabalho de pesquisa que visa testar um novo tipo tratamento para doenças periodontais (Periodontite Crônica), através de um Programa de Saúde em pacientes da clínica de Odontologia desta Universidade. O presente estudo, visa avaliar os efeitos clínicos do Laser de Baixa Intensidade, quando utilizado como coadjuvante aos procedimentos básicos periodontais. Este tratamento seguirá os adequados princípios técnicos e científicos, reconhecidos pela Odontologia. Todas as normas de segurança para aplicação da luz Laser de baixa intensidade serão corretamente respeitados, não oferecendo nenhum risco ao paciente, operador e equipe, durante e após o procedimento clínico.

Eu, _____, RG: _____, CPF: _____, abaixo assinado, concordo em participar desta pesquisa e autorizo o tratamento, do qual fui esclarecido (a), de acordo com os termos abaixo relacionados:

1. Recebi explicações claras dos propósitos, riscos e benefícios do tratamento.
2. Fui esclarecido (a) que os dados (documentos, fotografias, radiografias), obtidos no tratamento serão utilizados para fins Científicos e Didáticos; porém será garantido o sigilo de minha identidade, assegurando minha privacidade.
3. Fui informado (a) também, que minha participação é livre e voluntária, tendo liberdade para discordar e desistir do tratamento em qualquer fase, retirando meu consentimento para utilização dos dados obtidos pelo pesquisador responsável (Bianca Calil Feldman).
4. Estou ciente que o pesquisador responsável (_____, tel.: _____) e equipe UNIGRANRIO, estarão à disposição para esclarecer qualquer dúvida que possa surgir antes, durante ou após o início do trabalho de pesquisa.

Desta forma, uma vez lido, escutado e entendido tais esclarecimentos, dato e assino esse termo de consentimento, por estar de pleno acordo com o teor do mesmo.

Data: ___/___/___

Assinatura

ANEXO C – Tabela com as medidas dos parâmetros clínicos inicial, com 30, 60 e 90 dias de cada paciente nos elementos selecionados para o estudo.

Participante 1
MEDIDA INICIAL

	PROFUNDIDADE DE BOLSA					NIVEL DE INSERÇÃO					SANGRAMENTO À SONDA GEM															
	M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	P	M	V	D	L								
41	3	1	5	3	31	1	1	5	1	41	8	5	7	7	31	6	5	7	5	41			X	31	X	X
42	5	1	6	1	32	5	5	7	2	42	8	5	8	6	32	6	4	10	7	42	x		X	32	X	X
43	4	1	4	0	33	2	1	3	1	43	5	1	4	0	33	2	1	3	1	43			X	33		

30 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA					NIVEL DE INSERÇÃO					SANGRAMENTO À SONDA GEM															
	M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	P	M	V	D	L								
41	3	0	4	3	31	2	1	4	1	41	7	4	7	5	31	6	4	7	4	41				31	X	X
42	3	1	5	1	32	3	1	7	5	42	6	4	7	4	32	4	2	10	6	42			X	32	X	X
43	3	0	3	1	33	2	1	2	1	43	3	0	3	1	33	2	1	2	1	43				33		

60 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA					NIVEL DE INSERÇÃO					SANGRAMENTO À SONDA GEM																
	M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	P	M	V	D	L									
41	2	1	2	2	31	2	1	4	1	41	7	5	7	7	31	7	5	6	6	41			X	X	31	X	
42	5	1	5	1	32	4	1	8	6	42	8	5	8	7	32	6	4	10	8	42			X	32		X	
43	5	1	3	1	33	1	1	3	1	43	5	1	3	1	33	1	3	3	1	43			X	33		X	X

90 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA					NIVEL DE INSERÇÃO					SANGRAMENTO À SONDA GEM																		
	M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	P	M	V	D	L											
41	3	1	5	3	31	3	1	4	1	41	6	6	7	7	31	7	6	6	6	41				31	X	X	X	X	
42	5	2	5	1	32	3	2	9	8	42	8	5	7	6	32	8	6	13	11	42	X	X	X	X	32	X	X	X	X
43	4	1	3	1	33	2	1	2	1	43	5	1	3	1	33	2	1	2	1	43				33	X	X	X	X	

Participante 2
MEDIDA INICIAL

PROFUNDIDADE DE BOLSA		NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAAGEM																							
M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L														
11	5	3	7	5	21	5	2	6	3	11	7	3	9	7	21	5	2	9	5	11	X	X	X	X	21	X	X	X	X
12	6	3	5	4	22	8	2	5	3	12	8	5	7	8	22	10	4	9	7	12	X		X		22	X	X	X	X
13	3	2	2	4	23	7	3	7	4	13	3	4	3	5	23	7	4	7	6	13	X		X	X	23	X	X	X	X
41	5	2	4	2	31	5	1	3	1	41	5	5	6	4	31	5	3	5	4	41	X		X	X	31	X	X	X	X
42	5	2	6	2	32	3	3	3	3	42	8	5	8	4	32	3	4	3	4	42	X	X	X	X	32	X		X	X
43	5	3	5	2	33	3	3	3	2	43	5	3	5	2	33	3	4	3	4	43	X	X	X	X	33	X	X	X	X

30 DIAS

PROFUNDIDADE DE BOLSA		NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAAGEM																							
M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L														
11	3	2	5	4	21	6	2	4	4	11	4	2	9	7	21	6	2	6	6	11					21				
12	5	2	4	3	22	7	1	6	2	12	9	4	7	8	22	8	2	7	6	12					22				
13	2	2	3	4	23	2	2	4	3	13	2	3	3	6	23	2	2	4	5	13					23				
41	3	1	3	2	31	3	1	3	1	41	3	3	3	2	31	3	3	3	1	41					31				
42	4	1	5	1	32	3	2	2	2	42	7	4	6	1	32	3	3	2	2	42					32				
43	3	3	5	2	33	2	2	3	2	43	3	3	5	2	33	2	3	3	2	43					33				

60 DIAS

PROFUNDIDADE DE BOLSA		NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAAGEM																							
M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L														
11	3	3	3	5	21	5	2	4	2	11	3	3	3	7	21	6	2	5	5	11	X		X		21				
12	4	2	3	3	22	7	0	4	2	12	8	4	7	8	22	9	2	7	4	12					22				
13	2	2	2	4	23	5	2	4	3	13	4	3	5	6	23	5	2	5	5	13					23				
41	3	2	3	2	31	3	2	3	2	41	4	4	4	4	31	3	4	3	3	41					31				
42	3	1	5	1	32	3	2	3	3	42	5	4	5	3	32	3	3	3	3	42					32				
43	3	3	5	2	33	2	2	3	2	43	3	3	5	2	33	2	2	3	2	43					33				

90 DIAS

PROFUNDIDADE DE BOLSA		NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAAGEM																							
M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L														
11	4	3	5	4	21	5	2	6	3	11	4	3	7	6	21	5	2	7	5	11					21	X	X		
12	5	2	4	3	22	6	0	4	2	12	4	5	6	8	22	6	2	6	6	12	X	X			22	X			
13	3	2	2	3	23	4	3	4	4	13	3	3	3	5	23	4	3	4	5	13					23				
41	3	1	3	2	31	5	2	3	2	41	4	4	5	4	31	5	4	3	4	41					31				
42	5	2	5	2	32	3	2	3	3	42	7	4	6	5	32	3	3	3	3	42			X		32				
43	5	2	5	3	33	3	2	3	1	43	5	3	5	3	33	3	2	3	1	43					33				

Participante 3
MEDIDA INICIAL

	PROFUNDIDADE DE BOLSA					NIVEL DE INSERÇÃO					SANGRAMENTO À SONDA GEM																
	M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	P	M	V	D	L									
11	7	2	6	5	21	3	2	5	5	11	10	2	9	9	21	4	2	8	7	11	X	X	21			X	
12	5	2	6	3	22	4	2	4	4	12	8	2	7	5	22	6	3	4	4	12	X	X	22			X	
13	6	0	5	6	23	7	2	5	5	13	9	0	6	8	23	9	4	7	9	13	X	X	X	23	X		

30 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA					NIVEL DE INSERÇÃO					SANGRAMENTO À SONDA GEM																
	M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	P	M	V	D	L									
11	6	2	6	5	21	2	2	5	4	11	9	2	7	8	21	4	2	9	7	11	X	X	21	X		X	
12	4	2	5	2	22	3	2	6	2	12	6	2	7	5	22	7	2	8	3	12	X		22			X	
13	7	2	5	6	23	8	3	7	6	13	8	2	6	8	23	10	4	8	8	13	X		23	X	X	X	X

60 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA					NIVEL DE INSERÇÃO					SANGRAMENTO À SONDA GEM																
	M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	P	M	V	D	L									
11	4	2	7	5	21	2	2	4	4	11	8	2	9	8	21	4	2	8	7	11	X	X	21			X	X
12	4	2	5	2	22	3	2	5	2	12	6	2	7	4	22	6	3	7	4	12	X	X	22	X		X	
13	6	2	4	4	23	8	2	7	6	13	7	2	4	7	23	9	4	8	8	13	X	X	23	X		X	X

90 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA					NIVEL DE INSERÇÃO					SANGRAMENTO À SONDA GEM																	
	M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	P	M	V	D	L										
11	5	2	6	6	21	2	2	4	4	11	8	2	8	10	21	4	2	7	7	11			X	X	21			X
12	4	2	5	1	22	3	2	7	2	12	7	2	6	3	22	6	2	9	3	12			X		22			
13	7	2	5	5	23	7	2	7	7	13	9	2	6	7	23	9	4	9	10	13	X		X	23	X			X

Participante 4
MEDIDA INICIAL

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAAGEM																				
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L									
11	5	2	7	3	21	4	2	7	3	11	5	2	7	3	21	4	2	7	3	11	X	X	X	X	21	X	X	X	X
12	7	2	8	2	22	6	3	9	2	12	7	2	8	2	22	6	3	9	2	12	X	X	X	X	22	X	X	X	X
13	8	2	5	2	23	10	3	6	3	13	8	2	5	2	23	10	3	6	3	13	X	X	X	X	23	X	X	X	X
41	3	2	5	1	31	4	2	6	3	41	3	2	5	3	31	4	2	6	4	41	X	X	X	X	31	X	X	X	X
42	5	2	6	3	32	5	2	5	3	42	5	2	6	5	32	5	2	5	5	42	X	X	X	X	32	X	X	X	X
43	10	2	8	3	33	4	3	5	3	42	10	2	8	5	33	4	3	5	3	43	X	X	X	X	33	X	X	X	X

30 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAAGEM																				
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L									
11	3	2	4	3	21	3	2	4	2	11	3	2	4	3	21	3	2	4	2	11					21				
12	4	2	5	2	22	3	2	6	2	12	4	2	5	2	22	3	2	6	2	12	X		X		22				
13	5	2	4	2	23	5	2	6	2	13	5	2	4	2	23	5	2	6	2	13			X		23	X			
41	3	3	4	1	31	5	2	4	2	41	3	3	4	3	31	5	2	4	3	41					31	X		X	
42	4	2	5	2	32	2	3	3	2	42	4	4	5	4	32	2	3	3	2	42			X		32	X			
43	5	2	4	2	33	3	2	4	3	43	5	3	7	3	33	3	2	4	3	43	X				33	X		X	

60 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAAGEM																				
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L									
11	3	2	3	3	21	2	2	4	2	11	3	2	3	3	21	2	2	4	2	11					21				
12	3	2	5	2	22	3	3	6	2	12	3	2	5	2	22	3	3	6	2	12					22				
13	3	2	4	2	23	3	2	6	2	13	3	2	4	2	23	3	2	6	2	13			X		23	X		X	
41	4	3	4	1	31	4	2	6	2	41	4	3	4	3	31	6	2	7	3	41					31		X		
42	4	2	6	2	32	6	3	5	2	42	4	4	6	4	32	6	3	5	2	42					32		X	X	
43	4	3	3	2	33	5	2	4	3	43	5	3	5	4	33	5	2	4	3	43					33			X	

90 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAAGEM																				
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L									
11	3	3	4	3	21	3	2	3	2	11	3	3	4	3	21	3	2	3	2	11					21				
12	3	2	5	2	22	4	3	4	3	12	3	2	5	2	22	4	3	4	3	12					22				
13	3	2	4	2	23	5	2	6	2	13	3	2	4	2	23	5	2	6	2	13					23				
41	4	2	4	1	31	4	1	3	2	41	4	2	4	3	31	4	1	3	3	41			X		31	X		X	
42	4	2	4	2	32	4	3	4	2	42	4	5	5	4	32	4	3	4	3	42			X		32				
43	5	3	4	3	33	3	2	4	2	43	6	3	7	4	33	3	2	4	2	43					33				

Participante 5
MEDIDA INICIAL

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDA GEM																				
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L													
11	6	2	5	2	21	6	3	5	3	11	6	2	9	6	21	7	3	6	6	11	X	X	21	X	X	X			
12	5	2	5	3	22	4	2	7	2	12	5	2	5	6	22	4	5	7	5	12	X	X	22	X	X	X	X		
13	2	2	1	1	23	6	4	3	4	13	2	2	1	1	23	6	4	3	7	13	X	X	X	X	23	X	X	X	X
41	5	3	5	1	31	7	5	4	1	41	5	3	5	4	31	7	5	4	3	41	X	X	X	31	X	X	X	X	
42	5	2	6	1	32	6	2	5	1	42	5	2	6	3	32	6	2	5	5	42	X	X	X	X	32	X	X	X	X
43	9	2	3	1	33	4	4	5	3	43	9	2	3	1	33	4	4	5	3	43	X	X	X	33	X	X	X	X	

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDA GEM																			
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L												
11	6	3	5	2	21	5	3	5	3	11	6	3	8	7	21	5	3	7	6	11			21				X	
12	5	2	6	3	22	4	2	7	2	12	6	2	8	7	22	4	2	7	4	12			22					
13	3	2	1	1	23	7	3	3	3	13	3	2	3	1	23	7	3	5	7	13			23					
41	2	3	6	2	31	7	5	4	2	41	2	3	6	4	31	7	6	4	3	41		X	31	X				
42	5	2	5	2	32	5	1	5	2	42	5	2	5	3	32	5	5	5	3	42	X	X	32					
43	7	3	4	2	33	4	5	3	2	43	7	3	4	2	33	4	5	3	3	43	X		33					

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDA GEM																			
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L												
11	5	2	5	4	21	7	3	6	4	11	5	2	7	7	21	7	3	7	5	11			21				X	
12	7	2	5	4	22	5	2	4	3	12	8	3	7	6	22	6	2	4	5	12			22				X	
13	3	2	1	1	23	5	2	4	3	13	3	2	1	1	23	7	2	6	7	13			23				X	
41	6	3	7	2	31	5	5	5	2	41	6	3	6	4	31	8	5	6	2	41	X	X	31	X				
42	4	2	5	2	32	4	3	4	2	42	8	2	4	3	32	7	4	5	4	42	X	X	32	X				
43	4	2	4	2	33	6	4	6	2	43	4	2	4	2	33	6	4	6	2	43	X		33	X			X	

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDA GEM																			
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L												
11	3	8	6	3	21	6	2	5	5	11	3	8	10	7	21	6	2	8	6	11	X	X	21				X	
12	5	2	6	4	22	5	1	6	3	12	5	3	6	7	22	5	2	6	5	12			22				X	
13	3	2	1	1	23	9	3	3	4	13	3	2	1	2	23	9	3	4	7	13			23				X	
41	5	3	6	2	31	6	6	4	6	41	5	3	6	5	31	7	6	4	3	41	X	X	X	X	31			X
42	7	4	5	3	32	6	2	4	2	42	7	4	5	4	32	7	5	4	6	42	X	X	X	X	32			
43	9	3	4	2	33	5	4	5	4	43	9	3	4	2	33	5	4	5	4	43	X	X	X	33				X

Participante 6
MEDIDA INICIAL

	PROFUNDIDADE DE BOLSA					NIVEL DE INSERÇÃO					SANGRAMENTO À SONDAAGEM																		
	M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	P	M	V	D	L											
11	3	1	6	5	21	3	2	5	3	11	3	4	9	7	21	6	2	5	4	11	X	X	X	X	21	X	X	X	X
12	5	2	3	1	22	5	2	5	4	12	5	3	3	1	22	8	3	7	4	12	X	X	X	X	22	X	X	X	X
13	6	2	5	1	23	5	4	6	3	13	6	6	8	7	23	5	7	6	3	13	X		X		23	X	X	X	X

30 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA					NIVEL DE INSERÇÃO					SANGRAMENTO À SONDAAGEM																		
	M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	P	M	V	D	L											
11	3	1	5	4	21	3	2	3	4	11	4	4	9	6	21	6	2	5	4	11	X		X		21	X			
12	5	1	3	4	22	4	2	4	1	12	7	3	5	5	22	7	3	6	3	12	X		X		22				
13	3	3	5	5	23	4	4	4	3	13	0	5	7	7	23	5	6	0	5	13	X				23		X		X

60 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA					NIVEL DE INSERÇÃO					SANGRAMENTO À SONDAAGEM																		
	M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	P	M	V	D	L											
11	4	1	5	4	21	2	2	4	4	11	4	5	8	4	21	4	4	6	5	11	X		X	X	21				X
12	5	1	4	4	22	4	2	4	2	12	7	6	5	3	22	6	4	7	4	12	X		X	X	22				X
13	5	4	5	5	23	4	4	5	3	13	0	7	7	6	23	5	6	0	5	13	X	X	X	X	23		X	X	X

90 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA					NIVEL DE INSERÇÃO					SANGRAMENTO À SONDAAGEM																	
	M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	P	M	V	D	L										
11	4	1	5	4	21	4	2	3	4	11	7	6	9	5	21	6	5	6	5	11	X	X	X	21				X
12	4	1	4	4	22	4	2	5	2	12	8	5	7	3	22	6	5	7	4	12	X	X	X	22				X
13	3	4	5	5	23	4	4	5	4	13	0	7	7	6	23	5	7	5	4	13		X	X	23				X

Participante 7
MEDIDA INICIAL

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDA GEM																	
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L						
41	6	3	6	8	31	7	1	7	8	41	6	4	6	9	31	7	1	7	10	41	X	X	X	31	X	X
42	8	5	6	4	32	8	5	3	1	42	9	5	6	5	32	8	5	3	2	42	X	X	X	32	X	X
43	7	3	6	3	33	3	1	3	2	43	7	3	6	4	33	3	1	3	2	43	X	X		33	X	X

30 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDA GEM																	
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L						
41	5	4	6	1	31	7	2	8	8	41	5	5	6	3	31	7	2	10	9	41	X	X	X	31		X
42	6	3	6	3	32	7	2	3	1	42	6	5	6	5	32	9	2	3	3	42	X	X	X	32		
43	6	3	4	3	33	3	2	2	2	43	6	3	4	4	33	3	2	2	2	43	X	X		33		

60 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDA GEM																		
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L							
41	9	3	5	5	31	5	2	7	8	41	11	4	6	4	31	6	4	9	9	41	X	X	X	X	31	X	X
42	5	3	6	6	32	6	3	5	2	42	5	4	6	4	32	7	3	5	2	42	X	X	X	X	32		
43	5	2	5	5	33	3	2	3	3	43	5	3	5	5	33	3	2	3	3	43	X	X	X	X	33	X	X

90 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDA GEM																	
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L						
41	3	3	5	1	31	4	2	4	7	41	3	6	6	1	31	4	3	6	4	41	X	X		31		
42	6	2	6	2	32	4	2	4	1	42	6	2	6	2	32	6	1	4	2	42	X	X	X	32		
43	6	2	5	2	33	4	2	3	2	43	6	2	3	2	33	4	1	3	2	43	X	X		33		

Participante 8
MEDIDA INICIAL

PROFUNDIDADE DE BOLSA		NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAGEM																							
M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L														
11	6	5	6	2	21	6	4	6	5	11	6	6	6	2	21	6	5	8	5	11	x	x	x	x	21	x	x	x	x
12	6	4	7	5	22	7	4	5	4	12	8	6	9	5	22	7	5	7	5	12	x	x	x	x	22	x	x	x	x
13	7	3	7	5	23	6	4	7	5	13	7	3	7	5	23	6	5	8	7	13	x	x	x	x	23	x	x	x	x
41	6	5	7	3	31	5	4	6	3	41	8	6	8	5	31	7	5	7	5	41	x	x	x	x	31	x	x	x	x
42	6	5	8	3	32	5	5	7	3	42	8	7	10	5	32	6	7	7	5	42	x	x	x	x	32	x	x	x	x
43	7	3	7	6	33	8	4	8	6	43	7	3	7	6	33	8	4	8	6	43	x	x	x	x	33	x	x	x	x

30 DIAS

PROFUNDIDADE DE BOLSA		NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAGEM																							
M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L														
11	6	2	6	3	21	6	3	6	5	11	6	3	6	3	21	8	6	8	6	11					21	X		X	X
12	6	2	7	5	22	7	3	5	4	12	8	5	10	6	22	9	6	8	6	12		X			22		X		
13	5	3	6	5	23	7	4	8	5	13	6	5	7	5	23	8	7	9	7	13					23				
41	7	3	8	3	31	6	4	6	5	41	9	6	9	6	31	9	6	10	7	41		X			31	X			X
42	6	5	8	3	32	6	5	8	4	42	8	7	11	6	32	9	8	10	6	42					32				
43	8	5	8	5	33	8	3	8	6	43	9	5	8	6	33	8	5	8	6	43		X			33				X

60 DIAS

PROFUNDIDADE DE BOLSA		NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAGEM																							
M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L														
11	6	4	6	3	21	6	3	6	5	11	6	5	9	3	21	7	6	8	7	11					21				
12	7	4	7	6	22	7	3	6	6	12	9	6	10	6	22	9	6	8	6	12		X	X	X	22				X
13	7	4	6	6	23	7	3	7	7	13	7	5	6	6	23	8	6	10	6	13	X				23				
41	7	4	8	5	31	6	3	5	5	41	9	6	7	6	31	7	5	8	6	41	X	X	X		31	X	X		
42	5	4	9	4	32	6	6	7	6	42	7	7	10	6	32	8	8	9	7	42		X			32		X		
43	8	4	8	5	33	9	3	8	7	43	8	4	8	5	33	9	3	8	7	43					33	X	X		X

90 DIAS

PROFUNDIDADE DE BOLSA		NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAGEM																							
M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L														
11	6	4	6	3	21	7	4	7	6	11	6	5	6	3	21	8	6	8	6	11					21				X
12	5	4	6	6	22	7	3	6	5	12	7	7	7	6	22	9	4	8	6	12					22	X		X	
13	6	4	6	5	23	6	3	8	4	13	7	5	6	5	23	7	6	10	6	13					23				X
41	7	4	7	3	31	6	4	6	4	41	8	6	8	6	31	7	6	7	6	41	X				31				
42	5	2	8	4	32	5	5	8	4	42	7	6	10	6	32	7	7	10	6	42		X			32		X		X
43	8	3	7	5	33	8	3	8	6	43	8	3	7	5	33	10	5	8	6	43					33	X	X	X	X

Participante 9
MEDIDA INICIAL

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAAGEM																				
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L									
41	5	3	6	5	31	3	5	8	9	41	5	3	6	5	31	3	5	8	9	41	X	X	X	31	X	X	X	X	
42	6	4	8	5	32	7	7	7	5	42	6	4	8	5	32	7	7	7	5	42	X	X	X	X	32	X	X	X	X
43	7	3	7	2	33	5	5	4	2	43	7	3	7	2	33	5	5	4	2	43	X	X	X	33	X	X	X		

30 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAAGEM																			
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L								
41	3	2	5	2	31	4	6	6	2	41	3	2	5	2	31	5	7	8	2	41	X		X	31	X	X	X	
42	4	2	6	2	32	3	3	6	6	42	4	2	7	3	32	7	3	7	6	42			X	32			X	X
43	4	3	5	3	33	5	2	3	3	43	6	3	5	3	33	5	2	3	3	43			X	33				

60 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAAGEM																			
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L								
41	3	2	5	2	31	3	7	6	2	41	3	2	6	4	31	4	8	9	4	41	X	X	X	31	X	X	X	X
42	4	2	6	3	32	4	3	7	6	42	6	2	7	4	32	8	5	9	7	42			X	32			X	
43	3	2	5	2	33	4	2	3	4	43	6	2	5	2	33	5	2	3	3	43			X	33	X		X	

90 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAAGEM																			
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L								
41	3	2	6	2	31	2	6	6	2	41	3	2	7	3	31	3	7	7	4	41				31	X	X	X	X
42	4	2	6	2	32	3	2	5	6	42	5	2	6	3	32	7	4	6	7	42	X		X	32	X		X	
43	4	2	5	2	33	4	2	4	4	43	5	2	5	2	33	4	2	3	4	43				33	X		X	X

Participante 10
MEDIDA INICIAL

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAAGEM																				
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L									
41	6	2	6	3	31	3	1	6	5	41	6	2	6	6	31	3	1	6	5	41	X	X	X	X	31	X	X	X	X
42	3	3	8	4	32	8	4	6	3	42	3	3	8	4	32	10	4	9	6	42	X	X	X	X	32	X	X	X	X
43	9	2	5	5	33	8	2	8	4	43	9	2	5	6	33	8	2	8	7	43	X	X	X	X	33	X	X	X	X

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAAGEM																				
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L									
41	4	2	4	2	31	4	1	3	4	41	6	3	6	6	31	5	3	3	4	41					31	X		X	X
42	3	3	6	3	32	5	3	6	4	42	6	3	6	4	32	8	4	6	6	42				X	32	X		X	X
43	7	1	3	4	33	7	2	6	5	43	7	2	3	5	33	7	2	6	5	43			X	X	33				X

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAAGEM																				
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L									
41	4	2	4	3	31	2	0	3	5	41	6	2	6	5	31	3	2	4	6	41	X	X	X		31	X		X	X
42	2	2	4	2	32	5	2	5	4	42	2	2	5	3	32	8	3	9	8	42				X	32	X		X	X
43	5	1	3	3	33	8	0	6	4	43	5	1	3	5	33	8	1	7	6	43				X	33	X			X

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAAGEM																				
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L									
41	4	3	5	2	31	4	1	3	2	41	6	3	6	5	31	4	3	4	3	41	X			X	31	X		X	
42	3	3	6	2	32	6	3	5	4	42	3	3	6	3	32	7	4	7	8	42			X	X	32	X		X	
43	6	4	2	2	33	6	3	6	4	43	6	5	2	3	33	6	3	7	7	43					33	X		X	X

Participante 11**MEDIDA INICIAL**

PROFUNDIDADE DE BOLSA					NIVEL DE INSERÇÃO					SANGRAMENTO À SONDAGEM																			
M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	P		M	V	D	L	
11	7	6	7	5	21	7	2	8	5	11	8	8	9	8	21	8	3	9	6	11	X	X	X	X	21	X		X	X
12	8	2	8	5	22	8	3	7	6	12	10	5	9	8	22	11	5	8	8	12	X		X		22				
13	6	7	8	6	23	9	7	11	5	13	6	9	8	8	23	9	8	11	8	13	X		X		23				X

30 DIAS

PROFUNDIDADE DE BOLSA					NIVEL DE INSERÇÃO					SANGRAMENTO À SONDAGEM																			
M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	P		M	V	D	L	
11	3	4	4	5	21	4	2	5	4	11	7	8	9	8	21	7	5	9	6	11					21	X		X	X
12	5	1	5	4	22	5	2	4	4	12	10	6	8	8	22	10	6	7	6	12			X		22	X		X	X
13	5	6	4	5	23	5	5	5	4	13	6	9	6	8	23	8	7	7	6	13	X		X		23			X	X

60 DIAS

PROFUNDIDADE DE BOLSA					NIVEL DE INSERÇÃO					SANGRAMENTO À SONDAGEM																			
M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	P		M	V	D	L	
11	4	3	5	4	21	4	2	5	4	11	7	7	10	6	21	7	4	9	6	11					21	X		X	X
12	5	2	6	5	22	5	2	5	4	12	10	6	8	8	22	10	6	8	6	12	X		X	X	22	X		X	
13	5	5	4	5	23	5	5	5	4	13	6	7	6	7	23	7	7	7	6	13			X		23	X		X	X

90 DIAS

PROFUNDIDADE DE BOLSA					NIVEL DE INSERÇÃO					SANGRAMENTO À SONDAGEM																			
M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	P		M	V	D	L	
11	3	4	4	5	21	3	2	6	4	11	7	8	9	7	21	7	4	8	6	11			X		21				
12	5	2	7	4	22	5	2	4	4	12	10	6	10	7	22	10	6	7	7	12					22		X		
13	5	6	4	5	23	8	5	5	4	13	7	9	6	7	23	10	7	7	6	13	X	X	X		23	X		X	

Participante 12**MEDIDA INICIAL**

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAAGEM																			
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L												
41	6	5	9	5	31	5	5	8	6	41	8	7	7	9	31	5	6	8	7	41	X	X	X	X	31		X	X
42	7	7	5	7	32	7	5	5	3	42	9	9	8	7	32	8	6	6	5	42	X	X	X	X	32			X
43	5	3	4	5	33	7	2	7	4	43	6	3	6	5	33	7	2	8	5	43	X	X	X	X	33			X

30 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAAGEM																				
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L													
41	3	3	6	2	31	5	3	5	4	41	7	6	9	6	31	7	5	7	7	41	X			X	31	X		X	X
42	7	6	9	3	32	5	2	4	2	42	10	8	9	6	32	7	4	6	5	42	X	X	X	X	32			X	
43	5	3	4	6	33	6	1	5	5	43	8	4	8	7	33	7	7	6	6	43	X			X	33			X	

60 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAAGEM																				
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L													
41	4	2	6	1	31	6	3	5	2	41	7	5	9	6	31	7	4	6	6	41	X	X	X	X	31	X		X	X
42	9	7	10	7	32	5	3	4	2	42	11	8	11	8	32	7	4	6	5	42	X	X		X	32			X	
43	5	3	5	3	33	5	3	5	4	43	8	4	8	6	33	6	3	6	5	43		X		X	33	X	X	X	

90 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAAGEM																				
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L													
41	3	2	5	2	31	4	3	5	1	41	6	6	8	6	31	6	4	6	6	41	X			X	31	X		X	X
42	8	8	10	5	32	4	2	4	1	42	8	11	10	6	32	6	4	7	6	42	X			X	32			X	
43	5	3	5	3	33	5	3	5	3	43	8	5	7	6	33	6	4	6	5	43			X	33	X	X	X		

Participante 13**MEDIDA INICIAL**

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDA GEM																				
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	L	M	V	D	L													
41	3	2	5	4	31	4	2	5	3	41	7	6	5	6	31	6	6	7	6	41	X	X	X	X	31	X	X	X	X
42	5	3	4	3	32	5	3	4	2	42	8	6	6	5	32	7	5	7	5	42	X		X	X	32	X	X	X	X
43	5	5	5	2	33	6	2	6	5	43	5	6	5	2	33	8	5	8	7	43	X		X	X	33	X	X	X	X

30 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDA GEM																				
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L									
41	3	2	4	3	31	4	2	4	2	41	6	5	6	6	31	6	4	7	5	41		X							X
42	4	2	5	3	32	4	3	3	2	42	7	5	7	6	32	7	4	5	5	42		X							X
43	4	4	4	2	33	5	3	3	1	43	6	4	5	5	33	7	5	3	3	43				X	33	X			

60 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDA GEM																				
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L									
41	4	2	4	3	31	3	2	4	3	41	7	6	6	6	31	5	5	7	6	41									X
42	3	2	5	2	32	4	2	3	2	42	6	5	6	5	32	7	5	5	5	42	X		X						
43	4	4	4	2	33	7	2	3	5	43	5	6	4	4	33	8	6	3	6	43									X

Não concluiu o estudo.

Participante 14**MEDIDA INICIAL**

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAGEM																				
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L													
	41	8	4	6	3	31	6	3	8	3	41	8	4	6	3	31	6	3	8	3	41	X	X	X	X	31	X	X	X
42	8	4	8	5	32	9	3	6	6	42	8	4	8	5	32	9	3	6	8	42	X	X	X	X	32	X	X	X	X
43	6	5	7	3	33	9	4	6	5	43	6	5	7	3	33	9	4	6	5	43	X	X	X	X	33	X	X	X	X

30 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAGEM																				
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L													
41	4	4	6	2	31	5	2	6	1	41	4	4	6	3	31	5	2	6	1	41		X	X	X	31				X
42	6	7	7	4	32	6	2	5	5	42	6	7	7	6	32	6	2	5	7	42	X	X	X	X	32			X	X
43	8	5	5	1	33	3	3	3	3	43	8	5	5	1	33	4	4	3	3	43	X	X	X	X	33	X			X

60 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA				NIVEL DE INSERÇÃO				SANGRAMENTO À SONDAGEM																				
	M	V	D	P	M	V	D	L	M	V	D	P	M	V	D	L													
41	4	3	4	2	31	4	2	6	1	41	4	3	4	2	31	4	2	6	1	41			X	31					
42	6	5	7	4	32	8	2	4	6	42	6	5	7	5	32	8	2	4	7	42	X	X	X	X	32	X			X
43	6	5	5	1	33	5	3	3	3	43	6	5	5	2	33	5	3	3	3	43	X		X	X	33			X	X

Não concluiu o estudo.

Participante 15
MEDIDA INICIAL

	PROFUNDIDADE DE BOLSA					NIVEL DE INSERÇÃO					SANGRAMENTO À SONDA GEM					SANGRAMENTO À SONDA GEM													
	M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	L		M	V	D	P	M	V	D	L						
41	5	3	8	3	31	5	4	7	5	41	5	6	8	5	31	5	7	7	8	41	X	X	X	X	31	X	X	X	X
42	8	3	7	3	32	7	4	6	2	42	8	5	7	4	32	7	6	6	4	42	X	X	X	X	32	X	X	X	X
43	8	3	4	4	33	7	3	6	3	43	8	3	4	4	33	7	5	6	3	43	X	X	X	X	33	X	X	X	X

30 DIAS

	PROFUNDIDADE DE BOLSA					NIVEL DE INSERÇÃO					SANGRAMENTO À SONDA GEM					SANGRAMENTO À SONDA GEM													
	M	V	D	P		M	V	D	L		M	V	D	L		M	V	D	P	M	V	D	L						
41	5	3	4	3	31	5	3	3	2	41	5	6	5	5	31	7	7	3	5	41					31				
42	7	3	6	2	32	4	3	4	2	42	7	5	6	4	32	5	4	4	4	42				X	32	X			X
43	7	3	5	3	33	3	4	5	3	43	7	3	5	3	33	3	4	5	3	43				X	33				X

Não concluiu o estudo.