

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS (UNIFAL-MG)

ALICE ENGEL NAVES FREIRE

**UTILIZAÇÃO DE TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA E
LASERTERAPIA NO TRATAMENTO DE PERIODONTITE CRÔNICA:
ESTUDO CLÍNICO**

ALFENAS-MG

2019

ALICE ENGEL NAVES FREIRE

**UTILIZAÇÃO DE TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA E
LASERTERAPIA NO TRATAMENTO DE PERIODONTITE
CRÔNICA: ESTUDO CLÍNICO**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre do Programa de Pós-graduação em Ciências Odontológicas da Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG.
Orientador: Prof. Dr. Noé Vital Ribeiro Junior
Co-orientadora: Prof. Dra. Suzane Cristina Pigossi

ALFENAS-MG

2019

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas

Freire, Alice Engel Naves.
F866u Utilização de terapia fotodinâmica antimicrobiana e laserterapia no tratamento de periodontite crônica: estudo clínico. / Alice Engel Naves Freire – Alfenas/MG, 2019.
78 f. : il. -

Orientador: Noé Vital Ribeiro Júnior
Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Federal de Alfenas, 2019.
Bibliografia.

1. Periodontite. 2. Terapia com Luz de Baixa Intensidade. 3. Terapia a Laser. I. Ribeiro Júnior, Noé Vital. II. Título.
CDD-617.632

Ficha Catalográfica elaborada por Fátima dos Reis Goiatá
Bibliotecária-Documentalista CRB/6-425



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG
Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 - Alfenas/MG. CEP 37130-001



ALICE ENGEL NAVES FREIRE

UTILIZAÇÃO DE TERAPIA FOTODINÂMICA E LASERTERAPIA NO TRATAMEN-
TO DE PERIODONTITE CRÔNICA. ESTUDO CLÍNICO

A Banca Examinadora, abaixo assinada, aprova a
Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para a obtenção do título de Mestre em
Ciências Odontológicas pela Universidade
Federal de Alfenas. Área de concentração:
Odontologia.

Aprovada em: 15/04/2019

Prof. Dr. Noé Vital Ribeiro Júnior
Instituição: Universidade Federal de Alfenas
UNIFAL-MG

Assinatura:

Prof. Dr. Leandro Araújo Fernandes
Instituição: Universidade Federal de Alfenas
UNIFAL-MG

Assinatura:

Prof. Dr. Guilherme José Pimentel Lopes de
Oliveira
Instituição: Universidade Federal de Uberlândia
UFU

Assinatura:

Dedico este trabalho as pessoas mais presentes em minha vida:

Meu pai, que foi mestre, me mostrou o caminho por onde trilhar e andou ao meu lado sempre.

*Minha mãe, minha rainha, meu exemplo de fortaleza, de bondade e amor e que sempre me
impulsiona em direção as vitórias dos meus desafios.*

Meu grande amor Marcelo, por estar ao meu lado em todos os momentos de minha vida.

Meus Filhos, meus maiores presentes!!!! Amo vocês!!!!

Aos meus pacientes, que são o motivo para o meu aprendizado.

AGRADECIMENTOS

Durante esse dois anos só tenho a agradecer a todos que passaram pelo meu caminho e que com certeza deixaram um pouco de si. Os momentos de alegria serviram para me permitir acreditar na beleza da vida, e os de sofrimento, serviram para um crescimento pessoal único. É muito difícil transformar sentimentos em palavras, mas serei eternamente grata a vocês, pessoas imprescindíveis para a realização e conclusão deste trabalho.

Primeiramente, agradeço a Deus, por estar sempre ao meu lado, me iluminando e me conduzindo para o caminho do bem.

Aos meus pais, **Deodato e Angela**, meu infinito agradecimento. Sempre acreditaram em mim, isso só me fortaleceu e me fez tentar, não ser A MELHOR, mas a fazer o melhor de mim. Obrigada pelo amor incondicional!

A meu querido esposo, **Marcelo**, por ser tão importante em minha vida. Sempre a meu lado. Devido a seu companheirismo, amizade, paciência, compreensão, apoio, alegria e amor, este trabalho pôde ser concretizado. Obrigada por ter feito do meu sonho o nosso sonho!

Meus filhos, **Marcelo e Guilherme**, obrigada por terem paciência, aguentarem o meu nervosismo, durante esses anos em que me dediquei ao mestrado e aceitarem os momentos de ausência. Vocês me inspiram a querer ser uma pessoa melhor e a correr ainda mais atrás dos meus sonhos. Amo vocês!!!

À minha amiga **Tháisa** e companheira de jornada, que graças a este ciclo, pudemos nos reencontrar e fortalecer ainda mais os nossos laços.

À minha fiel escudeira, que segurou a barra no consultório, durante estes dois anos, em que muitas vezes tive que me ausentar, minha secretária **Janaína**.

Agradeço ao Prof. Dr. **Noé Vital Ribeiro Júnior**, por me dar mais um voto de confiança e acreditar em minha capacidade. Só tenho a agradecer aos seus ensinamentos (pessoais e acadêmicos), orientações, paciência e por sua dedicação a profissão não descuidando de sua família.

À Profa. **Dra Suzane Cristina Pigossi**, que mesmo chegando sem me conhecer, abriu as portas, como uma mãe abre os braços para receber um filho. Você não foi somente orientadora, “co-orientadora”, professora, mas, em alguns momentos, conselheira, confidente, e amiga. Pode ter certeza que nunca mais esquecerei os números das curetas e o

uso correto de cada uma. Você foi e será referência profissional e pessoal para meu crescimento. Obrigada por estar a meu lado e acreditar em mim!

Ao Prof. Dr. **Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira**, que também sem me conhecer, me acolheu em umas das várias fases difíceis do meu trabalho: a “*bendita*” estatística. Agradeço também a disposição em aceitar fazer parte da banca examinadora no Projeto de Defesa do meu mestrado.

Ao prof. Dr. **Leandro Araújo Fernandes**, pelas contribuições realizadas a esse trabalho durante o exame de qualificação.

À Profa. Dra. **Marina Lara de Carli**, que sempre esteve disponível em me ajudar com seu jeitinho meigo e carinhoso.

Aos pacientes da Faculdade de Odontologia da clínica de Periodontia da UNIFAL, que participaram espontaneamente deste trabalho. Por causa deles é que esta dissertação se concretizou. Vocês merecem meu eterno agradecimento!

Aos meus amigos do mestrado, pelos momentos divididos juntos, especialmente à **Vanessa**. Aos poucos nos tornamos mais que amigas... Obrigada por dividir comigo as angústias e alegrias e ouvir minhas bobagens. Foi bom poder contar com você!

Às Funcionárias da Clínica de Periodontia, Ana Paula, sempre sorridente, sempre disposta a ajudar, principalmente com as fichas dos pacientes. D. Luzia e Soraia, também muito prestativas. O meu muito Obrigada!

Finalmente, gostaria de agradecer à Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL) por abrir as portas para que eu pudesse realizar DISSERTAÇÃO DE MESTRADO.

RESUMO

A periodontite é uma doença inflamatória crônica e polimicrobiana caracterizada por inflamação gengival, formação de bolsa e/ou recessão gengival e reabsorção óssea alveolar. O tratamento periodontal é focado na redução ou eliminação do biofilme microbiano supragengival e subgengival com o objetivo de prevenir a progressão da doença. No entanto, a eficácia da raspagem e alisamento radicular (RAR) pode ser comprometida pela presença de bolsas profundas e envolvimento de furca que dificultam o acesso dos instrumentos para remover completamente os depósitos de biofilme da superfície radicular. Neste contexto, modalidades terapêuticas antibacterianas alternativas, tais como terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFA) e a terapia com laser de baixa intensidade (LBI) têm sido propostas para melhorar a eficácia do tratamento periodontal. Entretanto, estudos clínicos avaliando a eficiência de ambos os tratamentos mostraram resultados não-definitivos e parcialmente contraditórios em relação aos seus efeitos clínicos e microbiológicos. Com base nisso, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos clínicos da TFA e do LBI após o protocolo de desinfecção total da boca em uma única sessão (DTB) no tratamento da periodontite. Foi realizado um ensaio clínico controlado randomizado, com boca dividida, em 20 pacientes apresentando pelo menos dois dentes unirradiculares contralaterais com profundidade de sondagem (PD) ≥ 5 mm e sangramento à sondagem (SS) em dentes unirradiculares. Todos os pacientes foram submetidos ao DTB, em que a RAR foi completada em uma sessão associada ao uso de anti-sépticos. Em seguida, os sítios selecionados receberam aleatoriamente: (1) TFA (azul de metileno como fotossensibilizador ativado pelo laser diodo vermelho e infravermelho) ou (2) LBI (laser diodo vermelho e infravermelho). Os parâmetros clínicos foram avaliados no início, 30 dias e 3 meses após as terapias. Ambos os grupos de tratamento promoveram uma redução significativa do SS e PS após 3 meses da terapia periodontal, no entanto não foram observadas diferenças entre os grupos em relação aos parâmetros clínicos avaliados. Em conclusão, a TFA e LBI promoveram melhorias nos parâmetros clínicos periodontais após o protocolo de DTB; no entanto, não foram encontradas diferenças distintas entre as duas modalidades de tratamento neste estudo.

Palavras-chave: Periodontite. Terapia com Luz de Baixa Intensidade. Terapia a laser.

ABSTRACT

Periodontitis is a chronic and polymicrobial inflammatory disease characterized by gingival inflammation, pocket formation and/or gingival recession and alveolar bone destruction. The periodontitis therapy is focused in the reduction or elimination of the supragingival and subgingival microbial biofilm to prevent the disease progression. The scaling and root planing (SRP) effectiveness can be compromised by the presence of pocket depth and furcation involvement that difficult the instruments access to completely remove the biofilms deposits from the root surface. In this context, alternative antibacterial therapeutic modalities such as antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) and low laser level therapy (LLLT) have been proposed to improve the effectiveness of periodontal treatment. However, clinical studies evaluation the efficiency of both treatment showed nondefinitive and in part contradictory results with regards its clinical and microbiological effects. Based on that, the aim of this study was evaluate the clinical effects of aPDT and LLLT after the one-stage full-mouth disinfection protocol in the periodontitis treatment. A split-mouth, randomized controlled clinical trial was conducted in 20 patients presenting at least two contralateral single-rooted teeth with probing pocket depth (PD) ≥ 5 mm with bleeding on probing (BOP) in single-rooted teeth. All patients were submmited to one-stage full-mouth disinfection protocol (OSFMD) wherein SRP were completed in once session associated with antiseptics. After that, the selected sites randomly received: (1) aPDT (methylene blue as a photosensitizer activated by red and infrared diodo laser), or (2) LLLT (red and infrared diodo laser). Clinical parameters were assessed at baseline and 3 months post-therapies. Both treatment groups promoted a significant reduction of SS and PS after 3 months of periodontal therapy, however, no differences were observed between the groups in regard to the clinical parameters evaluated. In conclusion, aPDT and LLLT therapy promoted improvements in periodontal clinical parameters after OSFMD protocol; however no distinct differences were found between both treatment modalities in this study.

Keywords: Periodontitis. Photodynamic Therapy. Low-Level Light Therapy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Sequência terapêutica no grupo teste. A: Profundidade de sondagem inicial na mesial do dente 21; B-D: Raspagem e alisamento radicular utilizando brocas de diamante em baixa velocidade; E: Irrigação subgengival com gel de clorexidina a 1%; F: Aplicação do fotossensibilizador (metileno a 0,005%) no bolso, utilizando uma agulha romba; G: Aplicação do laser de diodo no interior da bolsa periodontal; H: Aspecto clínico após 7 dias do procedimento clínico..... 38
- Figura 2 - Dados de média e desvio padrão da profundidade de sondagem de todos os grupos e períodos de avaliação. ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ – Teste de Anova para amostras repetidas complementado pelo teste de Tukey..... 39
- Figura 3 - Dados de média e desvio padrão do número de sítios com presença de sangramento a sondagem em todos os grupos e períodos de avaliação. ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ – Teste de Anova para amostras repetidas complementado pelo teste de Tukey..... 40
- Figura 4 - Dados da mediana e dos quartis 1 e 3 em gráfico do tipo box-plot do nível da Margem gengival em todos os grupos e períodos de avaliação..... 41
- Figura 5 - Dados de média e desvio padrão do nível clínico de inserção em todos os grupos e períodos de avaliação..... 42

LISTA DE ABREVIATURAS

- PC** - Periodontite Crônica;
- DP** - Doença Periodontal;
- RAR** - Raspagem e alisamento radicular;
- Aa** - *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
- Pg** - *Porphyromonas Gingivalis*;
- Tf** - *Tanerella forsyhia*;
- Td** - *Treponema denticola*;
- Pi** - *Prevotella intermedia*;
- Fn** - *Fusobacterium nucleatum*;
- MP** - Microorganismos periodontopatogênicos;
- DTB** - Desinfecção total da boca;
- FMD** - Full mouth disinfection;
- PS** - Profundidade de sondagem;
- LBI** - Laser de Baixa intensidade;
- ATP** - Trifosfato de adenosina;
- TNF α** - Necrose tumoral alfa
- IL-1 β** - Interleucina - 1 β ;
- MMP-8** - Metaproteinase da matriz 8;
- TFA** - Terapia fotodinâmica antimicrobiana;
- FS** - Fotossensibilizador;
- GCF** - Flúido gengival crevicular;
- ECRs** - Ensaios clínicos Randomizados;
- NCI** - Nível clínico de inserção;
- IL-17** - Interleucina 17;

- BL** - Bioluminescência;
- VCC** - Viáveis de colônia;
- MB** - Azul de metileno;
- ICG** - Indocianina verde;
- OFD** - Debridamento de retalho aberto;
- IP** - Índice de placa;
- US** - Ultrassom;
- SS** - Sangramento à sondagem
- PCR** - Cadeia de polimerase em tempo em tempo real;
- NSPT** - Terapia cirúrgica não convencional
- ATO** - Azul de toluidina O
- MB** - Azul de metileno
- ISM** - Índice de Sangramento Marginal
- NMG** - Nível da margem gengival

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	Doença Periodontal	16
2.2	Laser Terapia em Baixa Intensidade.....	19
2.3	Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana	24
3	OBJETIVO	34
4	MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1	Protocolo de tratamento.....	35
4.2	Parâmetros Clínicos Periodontais avaliados	37
4.3	Análise estatística.....	37
5	RESULTADOS	39
6	DISCUSSÃO	43
7	CONCLUSÃO	47
	REFERÊNCIAS	48
	APÊNDICE A	57
	ANEXOS	74

1 INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença inflamatória crônica, multifatorial e microbiana que se caracteriza pela destruição do ligamento periodontal e do osso alveolar, associada à inflamação gengival, formação de bolsas e / ou recessão gengival (THEODORO et al., 2017).

O principal fator etiológico da periodontite é a presença de bacilos gram-negativos anaeróbios residentes no biofilme aderido à superfície do dente (HAFFAJEE ;SOCRANSKY, 1994). A presença de bactérias periodontopatogênicas como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*), *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), *Treponema denticola* (*Td*) e *Tannerella forsythia* (*Tf*) causa alteração da hemostasia e respostas imunológicas destrutivas levando a ruptura periodontal e, eventualmente, a perda dentária (BEREZOW ;DARVEAU, 2011). Associado a isso, vários fatores de risco do hospedeiro podem influenciar o início, a progressão e a extensão da periodontite, incluindo idade, tabagismo, doenças sistêmicas, distúrbios do sistema imunológico e alterações hormonais (HEITZ-MAYFIELD, 2005). Com base nisso, a periodontite tem como foco a redução ou eliminação do biofilme microbiano supragengival e subgengival, bem como a eliminação dos fatores que favorecem sua deposição, para prevenir a progressão da doença (BERAKDAR et al., 2012). Uma redução do biofilme subgengival pode ser alcançada pela raspagem e aplainamento radicular (RAR), onde a superfície radicular é debridada com instrumentos manuais que permitem a descontaminação das bolsas periodontais e facilita a reinserção periodontal (CUGINI et al., 2000). Entretanto, a efetividade da RAR pode ser comprometida pela presença de bolsas profundas, envolvimento de furca e presença de curvaturas de raiz e invaginações que dificultam o acesso dos instrumentais para remover completamente o biofilme e depósitos de cálculo da superfície radicular (WENNSTROM et al., 2011). Além disso, os patógenos periodontais têm a capacidade de invadir os tecidos moles circundantes não sendo eliminados na instrumentação mecânica (AHAD et al., 2016). Dessa forma, mesmo com a terapia, alguns pacientes ainda apresentam perda de inserção progressiva provavelmente associada à persistência de patógenos no sítio periodontal (DEL PELOSO RIBEIRO et al., 2008). Várias opções de tratamento estão disponíveis para apoiar a eficácia do RAR, incluindo o uso de antibióticos sistêmicos, no entanto, as cepas resistentes tornam seu controverso e devem ser indicados em casos de periodontite severa (VAN WINKELHOFF ;WINKEL, 2009; ARDILA et al., 2010).

Portanto, modalidades terapêuticas antibacterianas alternativas, como a terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFA), têm sido sugeridas para melhorar a eficácia do tratamento periodontal. O mecanismo de TFA consiste no uso de fotossensibilizadores (por exemplo, azul de toluidina O (ATO), azul de metileno (MB) e verde de malaquita) que atinjam diretamente as bactérias gram-negativas e gram-positivas sem afetar as células do hospedeiro (AZARIPOUR et al., 2018). Este fotossensibilizador é ativado pela luz de um comprimento de onda específico e reage com o oxigênio, produzindo um estado altamente reativo de oxigênio, conhecido como oxigênio singlete, que é citotóxico para os microrganismos (JORI et al., 2006). Desta forma, a TFA assegura a redução do desafio microbiano mesmo em locais de difícil acesso. Além disso, a TFA possui outras vantagens, incluindo fácil aplicação, ausência de efeito colateral e ausência de seleção de bactérias resistentes em aplicações repetidas (AHAD et al., 2016).

Estudos *in vitro* mostraram remoção completa de bactérias anaeróbias e redução na atividade de lipopolissacarídeos e proteases após a aplicação de TFA (KOMERIK et al., 2000; PFITZNER et al., 2004). Além disso, existem vários estudos em animais que também demonstraram que a TFA é eficaz na redução da perda óssea na periodontite (DE ALMEIDA et al., 2007; QIN et al., 2008). Em relação aos estudos clínicos, alguns estudos mostraram uma redução na porcentagem de sangramento à sondagem (SS) e profundidade de sondagem (PS) em locais tratados com TFA (BERAKDAR et al., 2012; ALWAELI et al., 2015; AHAD et al., 2016), enquanto outros estudos não mostraram vantagens clínicas com o uso de TFA (POLANSKY et al., 2009; THEODORO et al., 2012).

Recentemente, Azaripour et al. (2018), em uma revisão sistemática com metanálise, mostraram que a adjunto da TFA para RAR fornece um efeito modesto, mas significativo, na redução da PS e no ganho de inserção clínica no tratamento da periodontite crônica (PC)(AZARIPOUR et al., 2018).O uso isolado de lasers como adjuvante à abordagem mecânica também tem sido proposto na terapia periodontal (AYKOL et al., 2011; CRISPINO et al., 2015). Entre as aplicações de laser, a terapia a laser de baixa intensidade (LBI) é recomendada com base em seus efeitos anti-inflamatórios, redutores da dor e na aceleração da cicatrização de feridas (AYKOL et al., 2011). A LBI pode acelerar a cicatrização de feridas estimulando a síntese de colágeno, a angiogênese e a liberação do fator de crescimento (MARQUES et al., 2004; SILVEIRA et al., 2007). Além disso, os efeitos bactericidas e desintoxicantes do laser de diodo durante o tratamento periodontal não cirúrgico foram documentados (MORITZ et al., 1998; HARRIS ;YESSIK, 2004). Aykol et al. (2011) mostraram que o uso do laser de diodo

adjunto ao RAR resultou em uma melhora significativamente maior no índice de sangramento marginal (ISM), nível clínico de inserção (NCI) e PS em comparação com o RAR sozinha (AYKOL et al., 2011). Da mesma forma, Crispino et al. (2015) observou que ambos RAR com laser diodo ou RAR isolada foram eficazes na melhora do ISM, índice de placa (IP) e PS, mas o uso de laser de diodo promoveu resultados clínicos mais evidentes (CRISPINO et al., 2015). Entretanto, outros estudos não demonstraram superioridade da associação com laser de diodo e RAR sobre RAR isoladamente em termos de inflamação gengival e parâmetros microbiológicos (CARUSO et al., 2008; DUKIC et al., 2013).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Doença Periodontal

A Doença Periodontal (DP) é uma condição inflamatória crônica desencadeada e mantida por estímulo microbiano, especialmente por bactérias Gram-negativas anaeróbicas (HAFFAJEE ;SOCRANSKY, 1994). A presença de bactérias Gram-negativas no biofilme subgengival é considerada um fator necessário, mas não suficiente para a etiologia da doença periodontal destrutiva, sendo o dano tecidual observado clinicamente, em sua maior parte, consequência da resposta imune do hospedeiro (FLEMMIG, 1999). Considera-se atualmente que esta interação microbiota-hospedeiro é determinada em parte pela carga genética do indivíduo e em parte pelas influências ambientais, como má higiene bucal, tabagismo, medicação imunossupressora e estresse, sendo de natureza dinâmica (MEALEY, 2000; JOHNSON ;SLACH, 2001).

Os microrganismos *Pg*, *Tf* e *Td* estão incluídos no complexo vermelho de Socransky et al., 1998), e se tornam prevalentes no biofilme subgengival em estágios mais avançados da DP, aumentando em número e proporção de acordo com a profundidade de sondagem e quantidade de sítios com inflamação gengival (MINEOKA et al., 2008). Ademais, outros microrganismos também foram associados a DP como *Aa*, *Prevotella intermedia* (*Pi*), *Fusobacterium nucleatum* (*Fn*), *Eubacterium nodatum*, *Streptococcus intermedius* e *Spirochetas* (QUIRYNEN et al., 1999).

No entanto, embora a infecção por microrganismos periodontopatógenos (MP) seja essencial para o início da DP, a resposta do hospedeiro tem sido intensamente estudada visando um melhor entendimento do processo patogênico (MADIANOS et al., 2005). A resposta do hospedeiro envolve uma série de citocinas e mediadores inflamatórios, produzidas pelas células de defesa do hospedeiro em reação a estímulos antigênicos, que possuem uma ampla gama de funções sobrepostas. Essas citocinas são proteínas solúveis que, paradoxalmente, resultam em dano tecidual máximo, levando à manifestação clínica da doença (MISTRY et al., 2016).

Nesse contexto, a meta do tratamento periodontal inicial é restaurar a compatibilidade biológica das superfícies radiculares periodontalmente doentes e retardar o processo da doença. Para isso, o tratamento periodontal não cirúrgico que envolve a RAR das superfícies radiculares é a base para qualquer plano de tratamento da DP e persiste como modalidade “padrão-ouro” (FANG et al., 2016). A remoção do biofilme e dos depósitos de cálculos subgengivais através da RAR expõe o cemento, a detina radicular e o epitélio da

bolsa a uma nova colonização menos patogênica. Essa nova colonização está associada à redução da concentração dos produtos bacterianos e dos mediadores pró-inflamatórios após a RAR que resultam em um PH do biofilme mais neutro favorecendo a colonização de espécies aeróbicas.

A RAR também garante uma diminuição na profundidade da bolsa, como resultado da resolução da inflamação, diminuição do edema e readaptação do epitélio juncional (LINDHE, 1999). Reforça-se ainda que, embora a RAR se concentre na instrumentação subgengival, o papel do paciente no controle do biofilme supragengival por meio de uma higiene bucal meticulosa é essencial para o sucesso de qualquer terapia periodontal (BAKER, 1995). Ademais, a terapia periodontal de suporte ou cuidados de manutenção supervisionada profissionalmente, que sucede qualquer que seja o tratamento periodontal realizado, é de suma importância para manutenção do sucesso do tratamento periodontal em longo prazo (HEITZ-MAYFIELD et al., 2002).

A modalidade tradicional da terapia não cirúrgica é convencionalmente realizada por quadrantes ou sextantes, com uma ou 2 semanas de intervalo entre as sessões. Entretanto, a maioria dos MP não são apenas membros da flora subgengival, mas também colonizam as mucosas, a língua e as amígdalas, sendo comumente encontrados na saliva (PETIT et al., 1994; DANSER et al., 1996; VON TROIL-LINDEN et al., 1996). Dessa forma, os MP podem ser transmitidos desses diferentes nichos para o ambiente subgengival, levando à reinfecção dos sítios instrumentados, antes do término da terapia realizada. Estudos demonstraram que a presença de MP (persistentes ou restabelecidos após o tratamento) está associada a um resultado clínico negativo do tratamento periodontal (RENVERT et al., 1996; HAFFAJEE et al., 1997; CUGINI et al., 2000). Nesta perspectiva, em 1995, Quirynen et al. propuseram o protocolo de desinfecção total da boca em uma única sessão (DTB) (no inglês *one-stage full-mouth disinfection (FMD)*). O protocolo DTB consistia em RAR supra e subgengival da boca toda, em um período de 24 h (2 sessões) com o objetivo de promover a erradicação, ou pelo menos supressão, dos MP em um período muito curto de tempo de todos os habitats da orofaringe (membranas mucosas, língua, amígdalas, saliva). A abordagem DTB tem como objetivo prevenir/retardar a contaminação cruzada das bolsas periodontais tratadas por bactérias de habitats não tratados (QUIRYNEN et al., 1995).

Em 2000, eles propuseram novamente a abordagem DTB em 24 horas sem o uso de antissépticos. Posteriormente, um grande grupo de estudos demonstrou que a DTB resultou em uma melhora significativamente maior nos desfechos clínicos (como redução

da PS e ganhos no NCI) para tratamento da DP (VANDEKERCKHOVE et al., 1996; BOLLEN et al., 1998; MONGARDINI et al., 1999; QUIRYNEN et al., 2000). Além disso, vários outros estudos apoiaram essas observações clínicas baseadas em dados microbiológicos em que uma redução significativa adicional de periodontopatógenos foi observada na DTB (BOLLEN et al., 1996; BOLLEN et al., 1998; QUIRYNEN et al., 1999). Segundo Quiryne et al. (1999), o grupo DTB demonstrou uma redução significativa na proporção de espiroquetas e organismos móveis na flora subgengival e no número de unidades formadoras de colônia (UFC) por mL de bactérias com pigmento preto na mucosa e na saliva (QUIRYNEN et al., 1999). Por outro lado, vários relatos não indicaram diferenças significativas para qualquer modalidade terapêutica no tratamento em longo prazo da DP (KNOFLER et al., 2007; DEL PELOSO RIBEIRO et al., 2008; SWIERKOT et al., 2009; ZIJNGE et al., 2010). Uma revisão sistemática com meta-análise, incluindo 13 artigos, demonstrou a DTB foi melhor do que a RAR feita em quadrantes em relação à redução da PS e o ganho no NI em bolsas moderadas. Dessa forma, os autores recomendaram a DTB como primeira escolha para o tratamento da DP com base nos benefícios clínicos adicionais proporcionados por esse protocolo em relação à RAR feita em quadrantes (FANG et al., 2016). Portanto, o protocolo de DTB tem sido promovido como um caminho mais eficiente de tratar periodontite crônica.

Em relação à eficácia do uso de agentes antimicrobianos associados à DTB, Quiryne et al. (2006) em uma análise comparativa entre RAR feita em quadrantes (grupo controle) e a DTB associada ou não ao uso de clorexidina demonstrou que as 3 estratégias de tratamento resultaram em melhorias significativas para todos os parâmetros clínicos, no entanto os pacientes submetidos a DTB reagiram sempre de forma significativamente mais favorável que o grupo controle, com uma redução adicional da PS de $\pm 1,5$ mm e um ganho adicional no NCI de ± 2 mm para bolsas com 7 mm de PS. Do ponto de vista microbiológico, tanto os pacientes que fizeram ou não o uso da clorexidina apresentaram melhorias adicionais quando comparados ao grupo controle, tanto na redução de espiroquetas e organismos móveis, como no número de UFC/ml dos principais patógenos periodontais, especialmente quando o amostras de placa subgengival foram consideradas. No entanto, diferenças entre os pacientes que fizeram ou não o uso da clorexidina foram insignificantes sugerindo que os benefícios clínicos e microbiológicos adicionais do protocolo DTB também podem ser obtidos sem o uso concomitante da clorexidina (QUIRYNEN et al., 2006).

O cálculo dental é considerado um dos principais fatores retentivos do biofilme sendo encontrado em cerca de 86% das superfícies radiculares (BRAYER et al., 1989). Segundo Brayer et al. (1989), cerca de pelo menos 10% da superfície radicular dos dentes acometidos pela DP estava coberta por cálculo cuja extensão apical pôde muitas vezes ser encontrada nas profundidades de defeitos intra ósseos (BRAYER et al., 1989). Waerhaug 1978 demonstrou que em dentes com PS maior que 5 mm, a remoção completa foi alcançada em apenas 11% das superfícies avaliadas (WAERHAUG, 1978). Dessa forma, a remoção completa do cálculo, especialmente através do tratamento periodontal não cirúrgico, é extremamente difícil de executar devido à existência de limitações de acesso em áreas de furcas, concavidades, sulcos, sítios distais de molares e bolsas profundas. Nesses casos, o desbridamento cirúrgico associado ou não a terapias regenerativas com materiais enxertivos e terapias antimicrobianas são propostos como tratamento complementar. O desbridamento cirúrgico (OFD) garante a visualização completa de toda a extensão do defeito ósseo facilitando a RAR em defeitos ósseos extensos e lesões de furca. Em um revisão sistemática comparando a terapia periodontal não cirúrgica e o desbridamento cirúrgico no tratamento da DP demonstrou-se que em bolsas profundas (> 6mm), a terapia cirúrgica resultou em maior redução na PS e maior ganho no NCI que a terapia não cirúrgica, enquanto em bolsas rasas (1 a 3mm) houve maior perda de inserção clínica após a cirurgia em comparação a RAR convencional (HEITZ-MAYFIELD et al., 2002). Todavia, o procedimento cirúrgico pode provocar desconfortos pós-operatórios ao paciente e problemas estéticos devido à ocorrência de recessão gengival após a cicatrização. Dessa forma, devido a morbidade do procedimento cirúrgico e o aumento da resistência bacteriana a antibiótico, o surgimento de alternativas para o tratamento periodontal convencional têm sido propostas (REN et al., 2017).

2.2 Laser Terapia em Baixa Intensidade

Como discutido previamente, o tratamento periodontal não cirúrgico por meio de RAR continua a ser a abordagem mais eficaz para eliminar o biofilme aderido na superfície radicular. Entretanto, como uma abordagem invasiva, a RAR convencional cria uma ferida no tecido periodontal já inflamado e a restauração desse tecido depende em grande parte de respostas celulares e moleculares favoráveis (REN et al., 2017). Assim, o uso do laser de alta e baixa potência tem sido proposto para fortalecer os efeitos do tratamento periodontal

não cirúrgico. A palavra “LASER” (amplificação de luz por emissão estimulada de radiação) vem do acrônimo para “*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*” e consiste em um sistema que usa dispositivos que transfiguram luz de frequências variadas em um único feixe intenso e não divergente (BANSAL et al., 2019). Para que essa luz produza um efeito clínico é necessária que a mesma seja absorvida pelo tecido (primeira lei de fotobiologia de Grotthus-Draper) uma vez que a luz que é refletida, transmitida ou dispersada não produz nenhum efeito biológico. Essa energia absorvida é medida em Joules/cm² e é conhecida como densidade de energia ou fluência.

Os lasers de alta intensidade utilizada no tratamento periodontal, incluindo os lasers de diodo, que tipicamente operam no comprimento de onda de 810 a 980 nanômetros (nm), os lasers Nd: YAG (800 nm a 1.100 nm), os lasers de erbio: Er: YAG e Er, Cr: YSGG (2940 nm e 2780 nm respectivamente) e os lasers de CO₂ (9.300 nm a 10.600 nm) foram introduzidos por seus potenciais benefícios na ablação de cálculos, debridamento de bolsas e efeitos bactericidas (LIU et al., 1999; SCHWARZ et al., 2001). No entanto, considerando que esses lasers térmicos podem causar danos à superfície da raiz durante o corte e ablação (COBB et al., 2012), o uso do laser de baixa intensidade (LBI) tem sido recomendado na terapia periodontal por seu papel fotoquímico anti-inflamatório, bioestimulador e analgésico.

O LBI atua dentro dos domínios de baixa potência (dentro da faixa mW), dosagem baixa de energia (10^{-2} - 10^2 J / cm²) e comprimentos de onda apropriados (600-1000 nm) sendo direcionado principalmente para os tecidos moles sem causar mudanças de temperatura perceptíveis ou efeitos adversos (POSTEN et al., 2005). Além de ser uma terapia não invasiva e indolor, pode ser indicada para qualquer tipo de paciente, incluindo aqueles que não podem usar medicamentos corticosteroides, tais como pacientes hipertensos e diabéticos (ABDULJABBAR et al., 2017). Os tipos mais comuns de LBI são o laser Helium–neon (He-Ne) e os lasers de diodo (laser GaAlAs, laser InGaAlP, etc.) sendo ambos indicados principalmente para cuidados pós-cirúrgicos, estimulação da remodelação óssea, restauração neural, alívio da dor orofacial e no tratamento da DP (SUN ;TUNER, 2004). Os lasers de diodo, cada vez mais populares comercialmente, têm sido utilizados como adjuvantes a RAR, mesmo não sendo eficazes para a remoção de cálculos das superfícies das raízes, devido a seus efeitos bactericidas e desintoxicantes. Dessa forma o laser de diodo ajuda a reduzir a microbiota subgingival, proporcionando, assim, local para uma nova inserção de tecido conjuntivo. Também ajuda na promoção da hemostase, tem efeitos desintoxicantes e melhora a cicatrização (MORITZ et al., 1997).

O LBI pode ainda ser aplicado nos tecidos moles da cavidade oral nos casos de herpes, estomatite aftosa recorrente (afta), ulcerações traumáticas, síndrome da ardência bucal, prevenção e tratamento da mucosite (ABDULJABBAR et al., 2017). Além disso, o laser constitui um método alternativo na terapia de traumatismo dos dentes e tecidos moles, proporcionando um maior conforto ao paciente num curto espaço de tempo após o trauma dental (ABDULJABBAR et al., 2017). A terapia com LBI também produz benefício aos pacientes portadores da síndrome de ardência bucal, sem apresentar qualquer efeito colateral indesejável (KATO et al., 2010). Além disso, o laser apresenta um bom prognóstico no processo de regeneração nervosa sendo considerado um tratamento alternativo eficaz, principalmente para uso pediátrico (LADALARDO et al., 2004) (FONTANA ;BAGNATO, 2013).

Segundo a lei de Arndt-Schultz, as reações biológicas desejáveis devem ser desencadeadas dentro de uma janela terapêutica sendo que doses abaixo dessa faixa não são suficientes para fazer a diferença, e doses acima dessa faixa podem ter efeitos inibitórios (HUANG et al., 2009). A camada tecidual a ser atingida depende do tipo de laser, da potência, do comprimento de onda e do tempo de irradiação. Quanto menor o comprimento de onda, maior sua ação e poder de penetração. Sendo assim, lasers com comprimentos de onda no intervalo do vermelho e infravermelho (comprimentos de onda entre 600 e 1000 nm) exibem menos absorção pela água e cromóforos teciduais (hemoglobina e melanina), portanto penetram mais profundamente no tecido (5-10 mm) tornando o uso do LBI uma estratégia de tratamento promissora para feridas de tecidos moles (WALSH, 1997; HUANG et al., 2009). Ademais, fornecem uma saída de baixa energia que mantém o tecido em temperatura abaixo de 36,5°C, não provocando efeitos térmicos ou danos aos tecidos como mutações e carcinogênese (GOMES HENRIQUES et al., 2014).

Atuando em nível celular, o LBI provoca modificações bioquímicas, bioelétricas e bioenergéticas, resultando em aumento do metabolismo, da proliferação e maturação celular. A absorção molecular da luz laser leva a estimulação de fotorreceptores na cadeia respiratória mitocondrial, aumentando os níveis de adenosinatrifosfato (ATP) celular e posteriormente, facilitando a proliferação de fibroblastos, liberação de fatores de crescimento e síntese de colágeno (SUN ;TUNER, 2004). Dessa forma, o laser age estimulando a atividade celular, conduzindo à liberação de fatores de crescimento por macrófagos, proliferação de queratinócitos, aumento da população e degranulação de mastócitos e angiogênese. Esses efeitos podem levar a uma aceleração no processo de cicatrização de feridas devido, em parte, à redução na duração da inflamação aguda,

resultando numa reparação mais rápida. Ademais, a Laserterapia mostrou aumento efetivo da microcirculação local, estimulando a angiogênese (primordial para migração celular) e reduzindo a fase inflamatória (BRASSOLATTI et al., 2016). O emprego do LBI ainda auxilia no controle/eliminação da dor na primeira aplicação devido a possível liberação de β -endorfina, nas terminações nervosas da lesão, ao mesmo tempo em que promove a bioestimulação dos tecidos, fazendo com que a lesão se repare num intervalo de tempo mais rápido (LOPES et al., 2019).

Estudos *in vitro* e em animais mostraram que o LBI suprime a inflamação no tecido periodontal modulando a resposta imune local e reduzindo a produção e liberação de certas citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina-1 β (IL-1 β) e prostaglandina E₂ (SAKURAI et al., 2000; SAFAVI et al., 2008; LIM et al., 2015). Além disso, constatou-se que o LBI melhora a microcirculação local por meio da angiogênese e vasodilatação, aliviando o edema e a inflamação tecidual (SCHAFFER et al., 2000). Kreisler et al., 2002 demonstrou ainda que LBI promoveu um considerável aumento na proliferação de fibroblastos humanos *in vitro* após 24 horas da irradiação com um decréscimo da mesma após 48 e 72 horas (KREISLER et al., 2002).

No entanto, existem diferenças nos resultados dos ensaios clínicos que investigaram os benefícios adicionais do LBI no tratamento periodontal não cirúrgico. Zare et al. (2014) em um estudo clínico randomizado incluiu 21 pacientes adultos com periodontite moderada a grave que foram divididos aleatoriamente em dois grupos: o primeiro recebeu apenas RAR e o segundo recebeu RAR e a terapia com laser de diodo de 940 nm. Após 2 meses, todos os índices periodontais avaliados melhoraram em ambos os grupos não havendo diferença entre os grupos exceto para o SS, que foi menor no grupo laser (ZARE et al., 2014). Makhlof et al. (2012) incluiu 16 pacientes com pelo menos três dentes em cada quadrante com PS de 4-6 mm em seu estudo. Após RAR, os quadrantes foram aleatoriamente designados para 10 sessões com LBI (830 nm, 100 mW, 3 J/cm²). Os resultados mostraram que, quando comparados aos locais tratados somente com RAR, aqueles tratados com LBI apresentaram maiores reduções na PS em 5 semanas e 3 meses (curto prazo), mas não aos 6 meses (longo prazo). Além disso, os locais tratados com LBI tiveram um aumento estatisticamente significativo na densidade óssea radiográfica média ao comparar dados de 6 e 12 meses e desde o início até aos 12 meses. Houve também uma tendência para reduzir os níveis de IL-1 β , mas sem diferença entre os grupos (MAKHLOUF et al., 2012).

Aykol et al. (2011) realizou um estudo clínico com 36 pacientes sistemicamente saudáveis que foram divididos em dois grupos. O grupo teste (n=18) recebeu terapia com

laser de diodo GaAlAs (808 nm, 0.25 W) como adjuvante da terapia periodontal não cirúrgica e o grupo controle (n=18) recebeu apenas RAR. Ambos os grupos foram subdivididos em fumante e não fumante para investigar os efeitos do cigarro no tratamento. Em todos os momentos, o grupo LBI mostrou uma melhora significativa no ISM, NI e PS em comparação com o grupo controle. Houve melhorias clinicamente significativas nos níveis de PS e SS submetidos a terapia com LBI em comparação aos fumantes em que o laser não foi aplicado. Os níveis do fator de crescimento transformador- β 1 e a razão entre os níveis da metaloproteinase de matriz 1 e do inibidor tecidual de metaloproteinase 1 diminuíram significativamente em ambos os grupos 1, 3 e 6 meses após a terapia periodontal. Os níveis do fator de crescimento de fibroblastos diminuíram significativamente em ambos os grupos no primeiro mês após o tratamento e aumentaram no terceiro e no sexto mês (AYKOL et al., 2011). Resultados clínicos satisfatórios também foram observados por Alzoman et al. (2016) em 32 pacientes que também foram divididos em dois grupos: grupo teste submetido ao LBI (laser diodo GaAlAs, 685 nm, 800 mW, 1.6J/cm²) e grupo controle submetido a RAR. Melhoras significativas foram observadas no ISM, PS, NCI e SS para o grupo submetido ao LBI dois meses após a terapia. Adicionalmente, a porcentagem de sítios positivos para *Pg* no grupo teste diminuiu de 80% para 20% após a aplicação do laser. Para o grupo controle não foram observadas alterações em relação a presença de *Pg* antes e após a terapia (ALZOMAN ;DIAB, 2016).

Em um modelo de estudo de boca dividida, Gündoğar et al. (2016) incluiu vinte e cinco adultos sistemicamente saudáveis e não fumantes com periodontite crônica que tinham pelo menos dois pré-molares bilaterais com PS de $7 \geq x \geq 5$. No grupo teste, o LBI (laser diodo GaAlAs, 980 nm, 7.64J/cm) foi aplicado logo após a RAR, 1, 3 e 7 dias após o tratamento. No primeiro mês, os níveis de PS eram significativamente menores no grupo teste. No terceiro e sexto mês, PS, NCI e SS também foram significativamente menores no grupo teste, no entanto não foram observadas diferenças entre o grupo controle e doente entre as citocinas pró e anti-inflamatórias analisadas nesse estudo (GUNDOGAR et al., 2016). Recentemente, Petrović et al. (2018) investigou o efeito do LBI como adjuvante no tratamento periodontal em 60 pacientes que foram divididos em dois grupos. O grupo LBI (980 nm, 0.2 W, 6 J/cm²) apresentou redução significativa na PS e SS com ganho de inserção clínica após 30 dias do tratamento. Ademais, uma redução significativa nos periodontopatógenos *Tf*, *Td*, *Pg*, *Aa* e *Pi* foram observados no grupo submetido ao LBI (PETROVIC et al., 2018).

Calderin et al. (2013) avaliou 27 pacientes com periodontite crônica que foram divididos aleatoriamente em três grupos de nove pacientes cada, para serem submetidos a RAR, RAR seguido de uma sessão LBI ou RAR seguido de aplicações repetidas de LBI (cinco vezes em 2 semanas). Para a sessão de fototerapia, um laser de diodo ($\lambda = 670$ nm, 200 mW, 60 s/ dente) foi aplicado no sulco gengival. Diferentemente dos estudos anteriores, os resultados demonstraram que o uso do LBI utilizado em doses únicas ou repetidas, não produz redução significativa nos parâmetros clínicos avaliados em comparação com a RAR sozinha. Em relação ao níveis de citocinas no fluido, múltiplas sessões de LBI mostraram uma tendência mais rápida e maior de reduzir os mediadores pró-inflamatórios e a relação RANKL/OPG (CALDERIN et al., 2013). Semelhantemente, Lai et al. (2009) incluiu em um estudo clínico dezesseis pacientes com PS maior ou igual a 5 mm e defeitos ósseos comparáveis em ambos os lados da boca. Após RAR, sítios doentes foram selecionados aleatoriamente e irradiados com um LBI He-Ne (potência de saída de 0,2 mW) por 10 min por um total de oito vezes em um período de 3 meses. Os sítios controle não receberam tratamento adicional além da RAR. Após 12 meses não houve diferenças estatisticamente significativas em quaisquer parâmetros clínicos ou achados radiográficos entre os locais de teste e controle sugerindo que o uso do laser de baixa potência He-Ne como adjuvante da terapia periodontal não-cirúrgica em pacientes com DP não pareceu proporcionar benefício clínico adicional nesse modelo de estudo (LAI et al., 2009). Pamuk et al. (2017) também não observou diferenças significativas nos parâmetros clínicos periodontais após a aplicação do LBI (diodo laser, 940 nm, 3.41 J/cm²) em comparação com a RAR sozinha (PAMUK et al., 2017).

Por fim, uma revisão sistemática com meta-análise recente incluindo 8 publicações demonstrou que a RAR associada ao LBI demonstrou benefícios adicionais significativos a curto prazo em relação à RAR sozinha em relação a PS e ao nível de IL-1 β no fluido gengival. No entanto, o LBI não apresentou efeitos adicionais significativos a médio prazo (3 e 6 meses) em termos de parâmetros clínicos e densidade óssea alveolar. Dessa forma, esses achados indicaram que o LBI apresentou apenas benefícios adicionais a curto prazo após a RAR convencional. Seus efeitos a longo prazo permanecem obscuros devido a fraquezas metodológicas substanciais e um número insuficiente de estudos atuais (REN et al., 2017).

2.3 Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana

Atualmente, novas abordagens direcionadas ao desenvolvimento de tratamentos antimicrobianos que produzam menores efeitos prejudiciais e adversos aos pacientes têm sido investigadas. A administração de medicamentos, tanto sistêmica quanto tópica pode levar, entre outras consequências, a desordens gastrintestinais e à resistência bacteriana (SIGUSCH et al., 2010). Na verdade, a disseminação de bactérias multirresistentes é uma das maiores ameaças à saúde pública e tem aumentado devido ao uso excessivo de antibióticos. Ademais, a estrutura do biofilme da placa dentária confere resistência significativa a espécies bacterianas contra antibióticos. Na administração sistêmica, a disponibilidade de concentração insuficiente do fármaco no líquido gengival, a perturbação da microflora intestinal e o desenvolvimento de cepas resistentes a antibióticos são as principais desvantagens (AHAD et al., 2016). Nesse contexto, a Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (TFA) (do inglês, photodynamic therapy - PDT) têm sido proposta como uma modalidade de tratamento alternativa à terapia antimicrobiana convencional. A TFA consiste em utilizar uma substância corante foto ativável não tóxica, chamada fotossensibilizador (FS), que é ativada pela luz em um comprimento de onda adequado. Os FS como o azul de toluidina, o azul de metileno (MB), e o verde malaquita, absorvem a luz de um comprimento de onda específico e podem ser aplicados tanto topicamente quanto sistemicamente (ISSA ;MANELA-AZULAY, 2010). Na presença de oxigênio, essa ativação resulta em uma transferência de elétrons às moléculas adjacentes levando a formação de espécies reativas de oxigênio (do inglês, reactive oxygen species – ROS) que são capazes de deteriorar o DNA e a membrana celular e assim induzir a morte celular das bactérias (SIGUSCH et al., 2010). Estas espécies citotóxicas podem danificar as membranas plasmáticas e DNA, resultando em morte celular. As membranas celulares são destruídas por múltiplos mecanismos, como peroxidação lipídica, inativação do sistema de transporte de membrana e inibição das atividades enzimáticas da membrana plasmática. Os compostos fenotiazínicos (por exemplo, azul de toluidina e azul de metileno), que possuem uma carga positiva, podem se direcionar diretamente as bactérias gram- negativas e positivas.

As moléculas que foram excitadas pela luz podem emitir energia na forma fluorescente (emissão de fótons) e retornar ao seu estado original ou podem transformar-se na espécie reativa *triplet*, continuando na cadeia de reações químicas. As moléculas em estado *triplet* têm capacidade de reagir com substratos biológicos e formar radicais livres (reação tipo I) ou podem transferir a energia recebida ao oxigênio da célula para a formação do oxigênio singleto, que é reativo e causa a morte celular (reação tipo II) (SILVEIRA et al., 2007). Os dois processos podem induzir a morte celular e a destruição do tecido doente. O

oxigênio singleto é uma forma altamente reativa de oxigênio e é considerado o principal mediador do dano fotoquímico causado aos microrganismos por muitos fotossensibilizadores (FORMIGA FILHO et al., 2015).

A TFA tem se tornado uma estratégia promissora na odontologia, pois proporciona um tratamento atraumático e não invasivo das lesões infecciosas, bem como a diminuição do tempo de reparo e do número de recidivas das mesmas (ALWAELI et al., 2015). A TFA apresenta a vantagem de não induzir resistência microbiana e pode ser utilizada de maneira associada ou não a outras terapias convencionais. Além disso, diminui o número de microrganismos viáveis, com menor incidência de efeitos colaterais, e pode ser aplicada em pacientes resistentes à terapia antimicrobiana, com distúrbios gastrintestinais ou ainda em pacientes não colaboradores (ALWAELI et al., 2015). Assim, a TFA parece reduzir significativamente a inflamação sem antibióticos e sem intervenção cirúrgica, proporcionando a máxima segurança terapêutica. Como a TFA utiliza luz laser a frio para a ativação do fotossensibilizador, é seguro para tecidos orais e dentários. Sendo assim, a absorção preferencial de fotossensibilizadores por bactérias, a direção precisa da luz do laser usando fibras ópticas, o efeito de amplo espectro e nenhum desenvolvimento de resistência em aplicações repetidas são as principais vantagens da TFA no tratamento periodontal (ALWAELI et al., 2015).

O tratamento do paciente tem como protocolo a administração do corante fotossensível e após a concentração do corante atingir o máximo possível no tecido lesado, o tecido é então exposto à radiação visível. Geralmente a irradiação é fornecida por um laser que atinge o local com comprimento de onda específico por determinado período de tempo (FORMIGA FILHO et al., 2015). Os requisitos mais importantes para o adequado emprego da TFA é que luz suficiente atinja os sítios-alvo e que a intensidade da luz seja apropriada (SIBATA et al., 2000; AZARIPOUR et al., 2018). É importante destacar também que a morte da célula bacteriana pode ser rápida, não sendo necessário manter elevadas concentrações do agente químico sobre as lesões por longos intervalos, como ocorre com o uso de antibióticos. Outro aspecto pertinente é que o uso do corante ou da luz isoladamente não apresenta efeito significativo sobre a viabilidade dos microrganismos, o que significa que a terapia pode ser delimitada à área da lesão, por aplicação tópica cuidadosa do fotossensibilizador na região desejada e restrição da irradiação por meio de técnica de aplicação ponto a ponto (ZANIN et al., 2006).

A TFA tem sido aplicada usando várias combinações de lasers e agentes FS. O azul de metileno (cloreto de 3,7-bis (dimetilamino) fenazationio cloreto de tetrametilitionina) foi

o corante fotossensibilizante mais vulgarmente utilizado nos ensaios clínicos (BASSIR et al., 2013). O azul de toluidina e o azul de metileno têm características químicas e físico-químicas semelhantes e foram utilizados anteriormente para detectar tumores da mucosa ou epitélios atípicos, pois não mancham a mucosa normal. Eles são os agentes FS de escolha para TFA devido a sua carga catiônica pronunciada que os ajuda a se ligar à membrana externa das bactérias Gram-negativas e penetrar nas células bacterianas, demonstrando um alto grau de seletividade para matar microrganismos em comparação com células hospedeiras de mamífero (OLSEN et al., 2017). Estes corantes podem ser utilizados em várias concentrações (1 mg/mL a 10 mg/mL) com um tempo de permanência de 1 a 5 minutos na bolsa periodontal. Após um período de residência de 1 a 3 minutos, o excesso de FS deve ser removido para que não atue como um escudo óptico durante a irradiação com laser (BETSY et al., 2014). Em relação ao laser, lasers de diodo entre o comprimento de onda de 635nm e 670 nm são os mais comumente usados, embora comprimentos de onda de 808 nm e 940 nm tenham sido usados em alguns estudos. Utilizam-se aplicadores de fibra óptica com vários diâmetros, variando de 200 a 750 μm . O tempo de aplicação do laser geralmente é de 60s, embora os tempos de aplicação de 30s e 150s também tenham sido relatados. Energia laser entre 3 J/cm² e 320 J/cm² são comumente utilizadas (LUI et al., 2011).

Na periodontia, a TFA pode ser utilizada como um método adjuvante ao tratamento convencional das desordens periodontais, uma vez que promove diminuição da população bacteriana presente nas superfícies radiculares e nas bolsas periodontais, garantindo maiores chances de reparo do organismo (DE OLIVEIRA et al., 2007). Estudo *in vitro* mostrou a eliminação completa de bactérias anaeróbicas, como a *Pg*, *Fn* e a *Capnocytophaga gingivalis* após a TFA (PFITZNER et al., 2004). Além disso, outros autores relataram uma redução na atividade de fatores de virulência, como lipopolissacarídeos e proteases após TFA (ZANIN et al., 2006). Entretanto, uma revisão sistemática com meta-análise recente com 5 estudos clínicos randomizados (ECRs) incluídos comparando a RAR associada a TFA ou ao uso de antibiótico sistêmico não demonstrou benefício adicional do uso da TFA em longo prazo (12 a 48 semanas) (AZARIPOUR et al., 2018). Considerando os efeitos da TFA adjunta em relação à antibioticoterapia notou-se um ganho significativo NCI para a TFA em comparação a antibioticoterapia. Porém, segundo os autores, ainda permanece discutível se a TFA é mais efetiva quando comparado à antibioticoterapia adjuvante no tratamento da DP, dado que a evidência científica é fraca.

A eficácia da TFA como adjuvante no tratamento da DP ainda é controverso. Ahad et al. (2016) comparou os efeitos do uso de TFA associado à RAR com a RAR sozinha no tratamento de bolsas periodontais profundas ($\leq 6\text{mm}$) no modelo boca dividida em 30 pacientes com DP. Cloreto de fenotiazina foi utilizado como fotossensibilizante juntamente com aplicação de luz laser no comprimento de onda de 660 nm com potência máxima de 100 mW/cm^2 . Os parâmetros clínicos periodontais (IP, ISM, PS e NCI) foram coletados e comparados durante três meses. Todos os parâmetros clínicos melhoraram significativamente em ambos os grupos após 1 e 3 meses. No intervalo de um mês, houve diferença estatisticamente significativa entre grupos ($P < 0,05$) em termos de ISM ($0,85 \pm 0,41$ no teste vs $0,54 \pm 0,47$ no grupo de controle) e PS ($1,77 \pm 0,86$ no teste vs $1,3 \pm 0,95$ no grupo controle). Aos 3 meses de intervalo, nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada entre os grupos teste e controle, exceto em termos de ISM ($0,97 \pm 0,45$ no teste vs $0,73 \pm 0,42$ no grupo controle) sugerindo que a TFA parece desempenhar um papel adicional na redução da inflamação gengival quando usado juntamente com RAR não cirúrgica de bolsas periodontais profundas (AHAD et al., 2016). De maneira semelhante, Mistry et al. (2016) comparou os efeitos do uso de TFA associado à RAR com apenas RAR em um modelo boca dividida em 30 pacientes com DP. MB 1% associado ao laser diodo ($\lambda = 810\text{ nm}$) foi utilizado para a TFA. Diferenças significativas foram observadas entre os grupos apenas para os parâmetros clínicos periodontais PS e ISM após 1 e 3 meses. Em relação aos níveis interleucina-17 (IL-17) no fluido gengival crevicular (FGC), uma diminuição significativa nos níveis IL-17 foi observada em ambos os grupos após 3 meses, porém sem diferença significativa entre eles (MISTRY et al., 2016). No ensaio clínico de Teymouri et al., (2016), três quadrantes foram estudados em 12 pacientes com DP. Os parâmetros clínicos foram gravados e amostras de FCG foram obtidas. Após a primeira fase do tratamento periodontal, um dos três quadrantes foi determinado como grupo controle, um foi tratado por laser de diodo (810 nm), e um foi submetido a TFA utilizando azul de toluidina. Os parâmetros clínicos foram avaliados após 2 e 6 semanas. Observou-se uma redução significativa ao longo do tempo nos níveis de Interleucina-1 β (IL-1 β) e IL-17 no FCG, no NI e PS nas três modalidades de tratamento. Ademais, o laser diodo e a TFA diminuíram significativamente a média de SS ao longo do tempo nesse estudo em relação a RAR (TEYMOURI et al., 2016).

Berakdar et al. (2012) incluiu um total de 22 pacientes com DP tratados em um modelo boca dividida em que dois dentes pertenciam ao grupo controle (RAR) e dois dentes ao grupo teste (RAR e TFA). A TFA foi realizada utilizando azul de metileno

0.005% ativado com luz laser com comprimento de onda de 670 nm e potência máxima 150 mW por 60 segundos. O número de dentes com IS diminuiu de maneira significativa em ambos os grupos. Após 6 meses observou-se um ganho de inserção e redução na PS sutil porém significativamente maior no grupo teste em comparação ao grupo controle (BERAKDAR et al., 2012). Resultados semelhantes foram observados por Betsy et al. (2014) em um ensaio clínico em que 90 pacientes com DP não tratada foram aleatoriamente divididos em um grupo que recebeu RAR e TFA (grupo teste) e somente RAR (grupo controle). Foi utilizado azul de metileno em uma concentração de 10 mg/mL associado ao laser diodo operando a 655 nm com uma potência máxima de 1W. Os parâmetros clínicos e halitose foram registrados por 6 meses. A PS e o NI mostraram uma redução estatisticamente significativa no grupo teste na avaliação aos 3 meses e 6 meses em comparação com o grupo controle. Uma melhoria estatisticamente significativa no IG e IS foi observada para o grupo teste após 2 semanas e 30 dias, enquanto a melhora no IG e IS aos 3 meses e no IP em 2 semanas foi menor para o grupo teste. Além disso, uma diferença significativa foi detectada para o grupo teste após 30 dias em termos de halitose que não persistiu por muito tempo (BETSY et al., 2014). Betsy et al. (2016) avaliou ainda a percepção dos pacientes sobre a TFA no tratamento da DP durante seis meses de avaliação. A percepção dos pacientes em termos de alterações no sangramento gengival, dor nas gengivas durante a mastigação, mau hálito e gengivas sensíveis juntamente com dor durante o procedimento e aceitação do paciente foram registrados. Nenhuma mudança estatisticamente significativa foi observada entre os dois grupos em termos de dor durante o procedimento e aceitação do paciente. Os pacientes perceberam benefícios em curto prazo de uma única sessão de TFA devido à redução do sangramento nas gengivas, halitose e dor durante a mastigação após o tratamento (JOSEPH BETSY. J et al., 2016).

Christodoulides et al. (2008) realizou um estudo clínico com 24 pacientes em que 12 pacientes foram submetidos a RAR e 12 pacientes foram submetidos a TFA associada a RAR. A TFA foi realizada utilizando laser diodo com comprimento de onda em 670 nm e potência máxima 75 mW. Foram avaliados os parâmetros clínicos periodontais além de uma análise microbiológica dos periodontopatógenos: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Parvimonas micra*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens*, e *Capnocytophaga spp.* Aos 3 e 6 meses após o tratamento, não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos com relação aos parâmetros clínicos PS e NCI bem como na análise microbiológica Aos 3 e 6 meses,

uma melhora significativa no ISM foi observada no grupo de teste (CHRISTODOULIDES et al., 2008). Talebi et al. (2016) também realizou uma análise microbiológica em 18 pacientes com DP. Quatro quadrantes por pacientes foram tratados aleatoriamente com RAR, laser de diodo (810nm de comprimento de onda e potência máxima de 1,5 W), RAR e TFA (com diodo laser 808 nm, 0,5 W) e RAR e laser (com laser de diodo 808 nm, 1 W). A presença das espécies bacterianas nas áreas tratadas foi avaliada antes do tratamento, 1 e 3 meses depois. Na análise qualitativa, as espécies de *Fusobacterium nucleatum* e *Treponema denticola* foram eliminados após 30 dias em todas as modalidades de tratamento. A TFA foi mais efetiva na diminuição das espécies *Prevotella intermedia* do que a RAR, enquanto as espécies de *Tannerella forsythensis* aumentaram em todos os tratamentos. Além disso, as espécies de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* diminuíram em todos os tratamentos e as espécies de *Porphyromonas gingivalis* aumentaram em todos os tratamentos após 1 e 3 meses (TALEBI et al., 2016).

No estudo de Theodoro et al. (2012), 33 pacientes com DP foram alocados aleatoriamente em um desenho de boca dividida para um grupo de tratamento que recebeu RAR, um que recebeu ATO (100µg/mL) e outro que recebeu irrigação com ATO e irradiação de laser de baixa intensidade (laser GaAlAs, com comprimento de onda de 660 nm de potência máxima de 30 mW). Os parâmetros clínicos periodontais foram medidos no início do estudo e após 60, 90 e 180 dias. Adicionalmente, amostras de placa subgingival foram coletadas para análise microbiológica. A presença de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* e *Prevotella nigrescens* foram analisadas. Todos os grupos de tratamento mostraram uma melhoria em todos os parâmetros clínicos, e uma redução significativa na proporção de locais positivos para periodontopatógenos em 60, 90 e 180 dias em comparação com o valor basal. Nenhum dos parâmetros periodontais apresentou diferença significativa entre os grupos. Aos 180 dias, o tratamento com TFA levou a uma redução significativa na porcentagem de locais positivos para todas as bactérias em comparação com a RAR sozinha. Sendo assim, nesse estudo a TFA como adjuvante do tratamento periodontal produziu reduções estatisticamente significativas em alguns dos principais patógenos periodontais, mas não produziu nenhum benefício estatisticamente significativo em termos de desfecho clínico (THEODORO et al., 2012).

Alwaeli et al. (2015) incluiu 136 sítios em 16 pacientes sendo que dois quadrantes atribuídos aleatoriamente foram tratados com RAR e os outros dois foram tratados com RAR e TFA (laser diodo, comprimento de onda de 660 nm e potência máxima de 100 mW).

Os parâmetros clínicos de PS, SS e NCI foram avaliados no início e após 3, 6 e 12 meses. Não houve diferenças significativas entre os dois grupos no início do estudo. Redução significativa na PS e SS e ganho de inserção clínica foi observada após 3, 6 e 12 meses em ambos os grupos. Além disso, houve redução e ganho significativamente maiores para a RAR associada à TFA em comparação com a RAR sozinha em todos os três momentos. Nenhum efeito adverso de TFA foi observado. Os dados desse estudo demonstram melhora significativa em todos os parâmetros clínicos avaliados há pelo menos um ano e sugerem que a TFA como terapia adjunta à RAR representa um conceito terapêutico promissor para a periodontite persistente (ALWAELI et al., 2015). Por outro lado, Balata et al. (2013) avaliou vinte e dois pacientes no modelo boca dividida em que o grupo controle foi submetido à desbridamento ultrassônico de boca completa e o grupo teste recebeu o mesmo tratamento associado à TFA (azul de metileno a 0,005% e laser de baixa potência - AsGaAl com comprimento de onda 660 nm e potência máxima de 100 mW). Os parâmetros clínicos periodontais foram coletados antes, 1, 3 e 6 meses após o tratamento. Observou-se melhora no SS, PS e NI após o tratamento, em ambos os grupos, mas sem diferença entre eles. Após 6 meses, a PS diminuiu de $5,11 \pm 0,56$ mm para $2,83 \pm 0,47$ mm no grupo teste e de $5,15 \pm 0,46$ mm para $2,83 \pm 0,40$ mm no grupo controle. O NCI alterou, após 6 meses, de $5,49 \pm 0,76$ mm para $3,41 \pm 0,84$ mm no grupo teste e de $5,53 \pm 0,54$ para $3,39 \pm 0,51$ mm no grupo controle. Dessa forma, nesse estudo, ambas as abordagens resultaram em melhorias clínicas significativas no tratamento da DP, no entanto a TFA não proporcionou nenhum benefício adicional àqueles obtidos com o desbridamento ultrassônico de boca completa usado isoladamente (BALATA et al., 2013).

Muller Campanille et al. (2015) comparou a eficácia clínica de sessões únicas e múltiplas de TFA no tratamento de bolsas residuais. Para isso, vinte e oito pacientes sistemicamente saudáveis em manutenção periodontal com bolsas residuais (PS ≥ 5 mm, NCI ≥ 2 mm e SS) foram incluídos. Após o desbridamento ultrassônico, os sítios foram aleatoriamente divididos para receber TFA duas vezes em 1 semana (grupo A), TFA administrado apenas uma vez (grupo B) ou tratamento simulado sem ativar o laser (grupo C). O azul de metileno foi aplicado e irradiado com laser diodo a um comprimento de onda de 670 nm com potência máxima de 280 mW. Análise microbiológica também foi realizada dos microorganismos *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia* e *Parvimonas micra*. A PS inicial foi de $5,9 \pm 0,9$, $6,3 \pm 1,3$ e $6,3 \pm 1,5$ mm nos grupos A, B e C, respectivamente, sendo as diferenças não significativas. PS foi significativamente reduzida em todos os

grupos. No 3º mês, a PS foi significativamente menor nos grupos A ($2,9 \pm 1,1$ mm; $p = 0,04$) e B ($2,8 \pm 1,1$ mm; $p = 0,03$) em relação ao grupo C ($3,5 \pm 1,2$ mm). No mês 6, nenhum dos locais do grupo A tinha bolsas persistentes, enquanto dois locais no grupo B e quatro locais no grupo C permaneceram nesta categoria. As frequências de detecção dos microrganismos estudados em > 1.000 e > 100.000 células/mL não se alteraram significativamente desde o início até os meses 3 ou 6 em qualquer grupo. Um decréscimo global significativo foi observado desde o início até ao mês 6 para a proteína C-reativa, amilóide A do soro, fibrinogénio, procalcitonina e α -2 macroglobulina. Ao olhar para os grupos separadamente, a proteína C-reativa foi significativamente menor apenas se o laser tivesse sido ativado duas vezes. Outras diferenças entre os grupos não foram significativas concluindo que a aplicação única ou múltipla da TFA parecem apresentar um desempenho semelhante entre elas porém superior em relação a RAR (MULLER CAMPANILE et al., 2015).

Petelin et al. (2015) comparou (1) o efeito do uso isolado do debridamento com ultrassom, (2) a RAR isolada com instrumentos manuais e (3) debridamento com ultrassom seguido de repetidas aplicações de TFA (1, 3 e 7º dia após o debridamento, utilizando cloreto de fenotiazina ativado com laser de comprimento de onda 660 nm e potência máxima de 60 mW/cm²). A PS, SS e NCI foram monitorados ao longo de 12 meses. A presença de cinco patógenos periodontais (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*) também foram determinadas. Todos os três tratamentos resultaram em melhora clínica significativa. Aplicação adicional de TFA não resultou em melhorias adicionais em termos de redução de PS e NI. No entanto, isso resultou em maior redução de SS em 3 e 12 meses em comparação com o ultrassom sozinho ou RAR. A TFA também reduziu significativamente a proporção de sítios ativos após 6 meses para *Treponema denticola* em comparação com o ultrassom e RAR. Além disso, a TFA também resultou em uma maior redução de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola* em bolsas médias (4-6 mm) e de *Treponema denticola* em bolsas profundas (> 6 mm) em comparação com o desbridamento mecânico sozinho (PETELIN et al., 2015).

Um estudo recente realizado por Dalvi et al. (2019) avaliou em 20 indivíduos, a eficácia de uma única sessão de TFA usando a combinação de laser de diodo (comprimento de onda de 810 nm e potência máxima de 100 mW) e o fotossensibilizante verde de indocianina (1 mg/mL) no tratamento da DP. Os parâmetros clínicos periodontais foram avaliados no início e após 3 meses e demonstraram uma melhora clínica significativa para ambos os grupos. O grupo teste apresentou uma melhora significativa para o ganho de

inserção clínica, nível gengival e ISM em comparação ao grupo controle (DALVI et al., 2019).

Ressalta-se que os resultados conflitantes nos estudos avaliando a eficácia da TFA podem ser justificados devido às diferentes metodologias e protocolos utilizados nos estudos clínicos. Vários fatores podem influenciar a TFA como uma característica e concentração do fotossensibilizador usado, duração da pré-irradiação, tempo de irradiação, dispositivos de aplicação de luz, comprimentos de onda e potência de saída de luz. Assim, essas discordâncias entre os estudos podem influenciar os desfechos clínicos e evitar comparações diretas entre as análises. Para auxiliar na tomada de decisão clínica, Azaripour et al. (2018), realizou recentemente uma revisão sistemática com meta-análise avaliando os efeitos da TFA adjunto com a RAR em comparação com RAR sozinha em pacientes DP. Os resultados demonstraram que a TFA resulta em benefícios significativos como complemento à RAR com relação à redução da PS e ganho de inserção após 3 e 6 meses (AZARIPOUR et al., 2018).

3 OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi comparar os efeitos da aplicação da terapia fotodinâmica antimicrobiana e do laser de baixa intensidade nos parâmetros clínicos periodontais após o protocolo de desinfecção total da boca em um estágio no tratamento da periodontite.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi um estudo clínico randomizado, cego e de centro único, com duração de 3 meses, que utilizou o modelo de boca dividida. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Alfenas (CAAE 77385417.0.0000.51442) (Anexo A) e foi realizado seguindo os requisitos da Declaração da Associação Médica Mundial de Helsinki. Todos os pacientes receberam uma descrição detalhada do tratamento proposto e assinaram um termo de consentimento antes de sua inclusão no estudo (Anexo B). A versão em inglês do trabalho que foi submetido para publicação está no Apêndice A. Vinte pacientes (11 mulheres e 9 homens) diagnosticados com periodontite foram incluídos neste estudo realizado durante um período de 1 ano (Fevereiro de 2018 a Fevereiro de 2019) na clínica de Periodontia do Departamento de Clínica e Cirurgia da Universidade Federal de Alfenas, Minas Gerais, Brasil. Os pacientes foram recrutados após um exame de triagem que incluiu história médica e odontológica completa, exame intraoral, sondagem periodontal de boca toda e radiografias. A variável primária desse estudo foi o NCI nível clínico de inserção que foi avaliado por meio de análises clínicas. Foi utilizado os dados do nível clínico de inserção do estudo de Gündoğar et al. (2016) (GUNDOGAR et al., 2016) que avaliou o efeito da LBI sobre o tratamento da periodontite crônica em pacientes saudáveis. Levando-se em consideração a diferença de 1mm no parâmetro de NCI como clinicamente relevante, sabendo-se que o desvio padrão esperado para esse tipo de análise será de aproximadamente 0.45, o tamanho de amostra de 18 pacientes foi determinado suficiente para obter um poder β do estudo de 0.90 e o poder α de 0.05.

Entre os critérios de inclusão estavam sujeitos com periodontite moderada não tratada (Fase II, Grau B de acordo com os critérios da classificação internacional de 2017 (CATON et al., 2018)) com pelo menos dois dentes unirradulares contralaterais com PS ≥ 5 mm, NI ≥ 3 mm e sinais radiográficos de perda óssea. Os critérios de exclusão foram gravidez, tabagismo atual e nos últimos 10 anos, uso de enxaguantes bucais antimicrobianos nos últimos 2 meses, aparelhos ortodônticos, condições sistêmicas que pudessem afetar a progressão da periodontite e uso prolongado medicamentos anti-inflamatórios e imunossupressores.

4.1 Protocolo de tratamento

Todos os pacientes incluídos no estudo receberam informações sobre a etiologia da doença periodontal e instruções para manter o controle adequado da placa, incluindo

limpeza interdental com fio dental e escovas interdentais. Os pacientes foram tratados com o “protocolo de desinfecção de boca cheia em um estágio” (QUIRYNEN et al., 1995), no qual a RAR foi realizada em uma única sessão associada a anti-sépticos. A RAR foi realizada sob anestesia local, utilizando pontas diamantadas de baixa velocidade (Periodont, KG Sorensen, São Paulo, Brasil) (Figura 1A-D) e instrumentos manuais periodontais (curetas de Gracey, Hu-Friedy, Chicago, IL, EUA). Associado a RAR, escovação do dorso da língua com 1% de gel de clorexidina por 1 min, bochecho com solução de clorexidina a 0,2% por 2 min e irrigação subgengival de todos os sítios (3x em 10 min) com gel de clorexidina a 1% (Figura 1E) foram realizados em todos os pacientes.

Após esses procedimentos, pelo menos um dente unirradicular, com PS \geq 5 mm de acordo com os critérios de inclusão, em diferentes quadrantes, foi aleatoriamente designado por sorteio para receber TFA (grupo teste) ou LBI (grupo controle). No grupo de teste, os sítios periodontais incluídos foram irrigados com 1ml do líquido fotossensibilizador (corante azul de metileno na concentração de 0,005%) utilizando uma agulha romba. A irrigação foi realizada a partir da extremidade apical da bolsa movendo-se coronalmente para evitar o aprisionamento de bolhas de ar (BALATA et al., 2013) (Figura 1F). Após três minutos, todas as bolsas foram cuidadosamente lavadas com solução salina estéril para remover o excesso de fotossensibilizador (CHRISTODOULIDES et al., 2008). Imediatamente após o enxágue, o laser de diodo (Therapy - Plus, DMC ®, São Carlos, Brasil) vermelho (comprimento de onda de 660 nm, potência de 100 mW, tamanho de ponto 600 μ m e densidade de energia de 60 J/cm²) e infravermelho (comprimento de onda de 808 nm, potência de 250 mW, densidade de energia 140 J/cm²) em fluxo contínuo foram acionados simultaneamente no interior da bolsa periodontal. O laser diodo foi equipado com uma ponta de fibra óptica inserida na base da bolsa periodontal e movimentada circunferencialmente em torno do dente por 1 minuto (seis locais por dente (mesio-facial, médio-facial, disto-facial, mesiolingual, médio-lingual e disto-lingual) por 10s) (Figura 1G).

No grupo controle, após a finalização do protocolo de DTB, o laser de diodo (Therapy - Plus, DMC ®, São Carlos, Brasil) vermelho (comprimento de onda de 660 nm, potência de 100 mW, tamanho de ponto 600 μ m e densidade de energia de 60 J / cm²) e infravermelho (comprimento de onda de 808 nm, potência de 250 mW, densidade de energia 140 J / cm²) foram aplicados no interior da bolsa periodontal simultaneamente. O laser diodo foi equipado com uma ponta de fibra óptica colocada na profundidade da bolsa e movimentada circunferencialmente em torno do dente por 1 minuto (seis locais

por dente (mesio-facial, médio-facial, disto-facial, mesiolingual, médio-lingual e disto-lingual) por 10s). Os pacientes foram instruídos a enxaguar duas vezes ao dia com clorexidina 0,12% por 15 dias. Após 7 dias do procedimento, a irrigação subgingival de todas as bolsas (3x em 10 min) com gel de clorexidina a 1% foi repetida (Figura 1H).

4.2 Parâmetros Clínicos Periodontais avaliados

Os parâmetros clínicos periodontais foram avaliados em seis sítios (mesio-facial, médio-facial, disto-facial, mesiolingual, médio-lingual e disto-lingual) de cada dente incluídos na análise no baseline (imediatamente antes das terapias), 4 e 12 semanas após as terapias por um experiente periodontista mascarado (AENF) que não esteve envolvido na fase de tratamento. Todos os parâmetros foram medidos usando uma sonda periodontal UNC-15 (Hu-Friedy, Chicago, IL, EUA). Avaliaram-se os seguintes parâmetros clínicos: nível da margem gengival ((NMG); medida da junção amelocementária à margem gengival livre); PS (medida da margem gengival livre ao fundo da bolsa periodontal), NCI (medida da parte inferior da bolsa periodontal até a junção cimento esmalte) e SS. O SS foi determinado em termos da presença (+) ou ausência (-) de sangramento durante os 15s após a inserção da primeira sonda na bolsa.

4.3 Análise estatística

Os dados dos parâmetros clínicos periodontais incluindo número de sítios positivos ao SS, PS, NMG e NCI foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk que confirmou a adesão dos dados ao teorema da distribuição central em relação ao SS, a PS e ao NCI e rejeitou essa adesão em relação ao parâmetro do NMG. Em relação a análise de SS, PS e do NCI, a comparação entre os grupos foi executada por meio do teste t-pareado enquanto que a comparação dentro de cada grupo variando-se os períodos experimentais foi executado por meio do teste paramétrico de anova para amostras repetidas complementado pelo teste de Tukey. Em relação a análise do NMG, a comparação entre os grupos foi executada por meio do teste de Wilcoxon, enquanto que a comparação dentro de cada grupo variando-se os períodos experimentais executada por meio da aplicação do teste não-paramétrico de Friedman complementado pelo teste de Dunn. O software GraphPadPrism 6 (San Diego, CA, USA) foi utilizado para análise estatística desse estudo e todos os testes estatístico foram aplicados ao nível de significância de 5%.

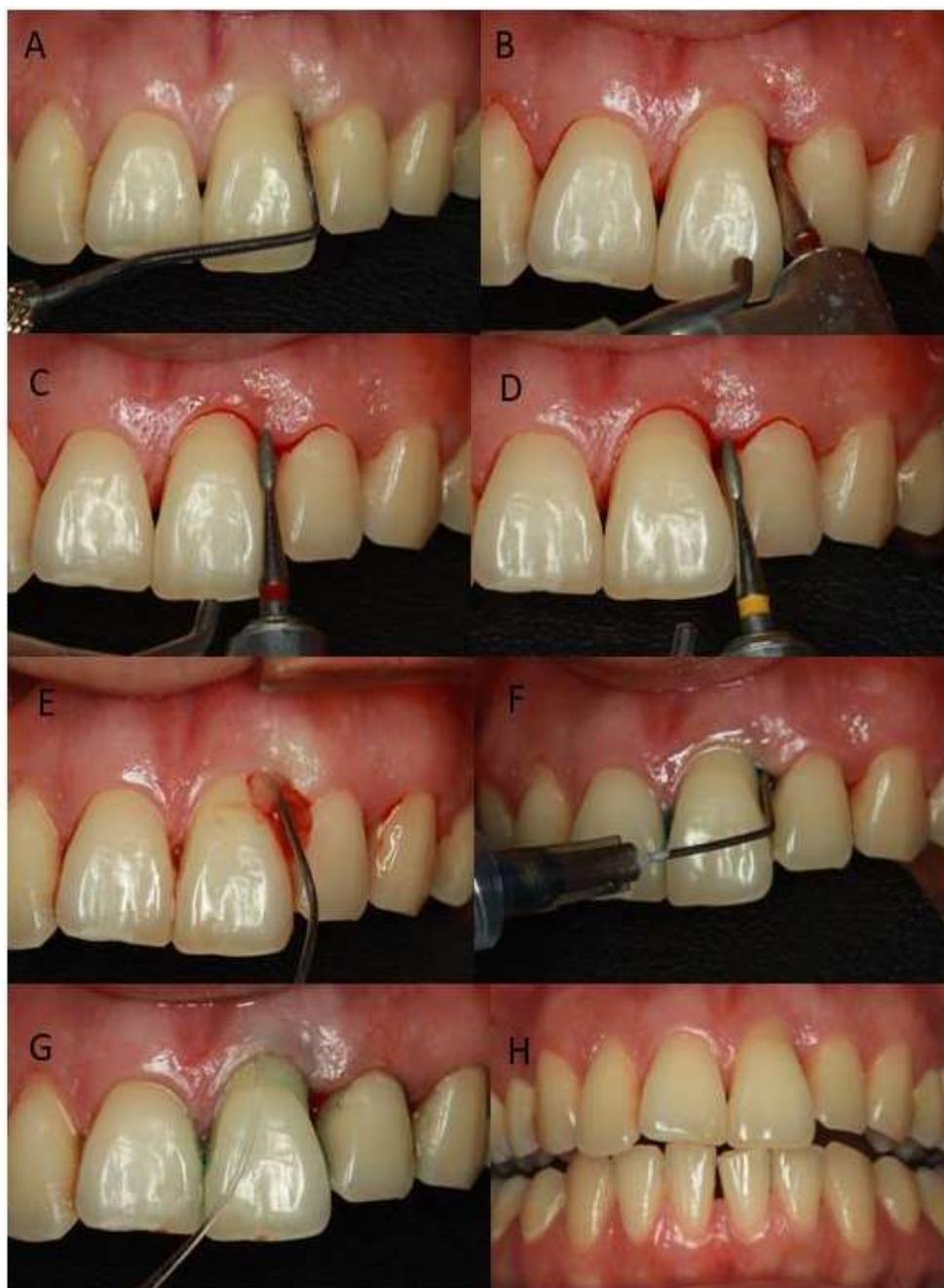


Figura 1 - Sequência terapêutica no grupo teste. A: Profundidade de sondagem inicial na mesial do dente 21; B-D: Raspagem e alisamento radicular utilizando brocas de diamante em baixa velocidade; E: Irrigação subgingival com gel de clorexidina a 1%; F: Aplicação do fotossensibilizador (azul de metileno a 0,005%) na bolsa, utilizando uma agulha romba; G: Aplicação do laser de diodo no interior da bolsa periodontal; H: Aspecto clínico após 7 dias do procedimento clínico.

Fonte: da autora

5 RESULTADOS

Nenhum dos pacientes participantes da pesquisa foram excluídos do estudo. Portanto, a amostra foi composta de 11 mulheres e 9 homens, totalizando 20 pacientes com média de idade de 52.30 (\pm 9.43) anos. Na figura 2 foram demonstrados a média e o desvio padrão da PS no baseline e após 30 e 90 dias em ambos os grupos teste e controle. Em relação a PS, foi observado uma redução significativa na PS entre o baseline e após 90 dias do tratamento para ambos os grupos LBI (2.96 ± 0.90 3.00 ± 0.91 e 1.81 ± 0.50); TFA (2.62 ± 0.38 ; 2.52 ± 0.53 e 1.97 ± 0.67). Ademais, no grupo controle, também foi observado uma redução significativa entre os períodos de 30 e 90 dias.

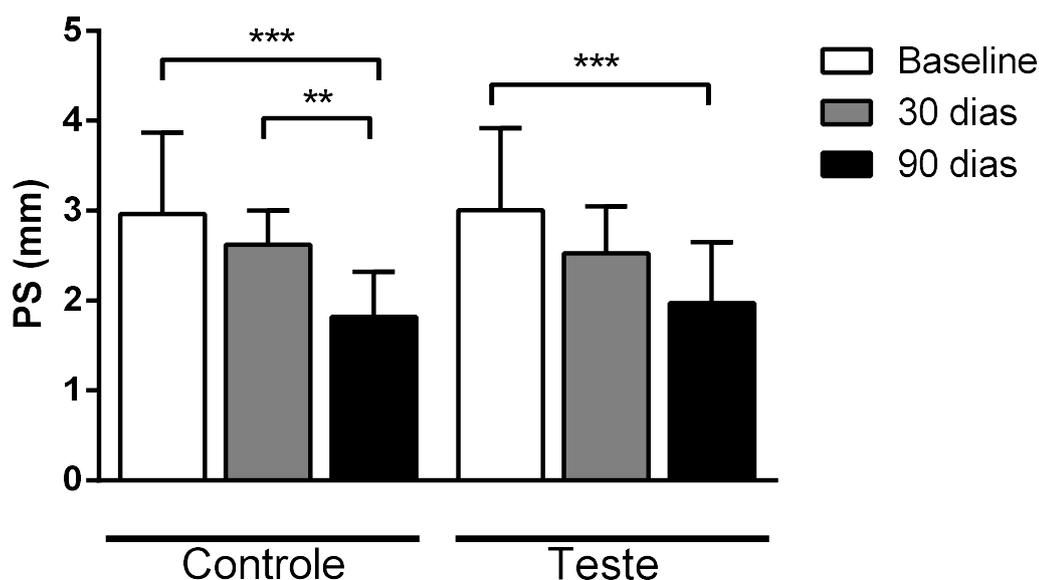


Figura 2 – Dados de média e desvio padrão da profundidade de sondagem de todos os grupos e períodos de avaliação. ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ – Teste de Anova para amostras repetidas complementado pelo teste de Tukey. Fonte: da autora

Na figura 3 foram demonstrados a média e o desvio padrão do número de sítios com presença de sangramento à sondagem no baseline e após 30 e 90 dias em ambos os

grupos teste e controle. Em relação ao SS, foi observado uma redução significativa no SS entre o baseline e após 30 e 90 dias do tratamento para ambos os grupos (Controle: 20.30 ± 11.38 (Baseline); 7.90 ± 8.36 (30 dias) e 2.00 ± 3.26 (90 dias); Teste: 18.80 ± 11.25 (Baseline); 8.65 ± 9.76 (30 dias) e 4.15 ± 4.73 (90 dias)).

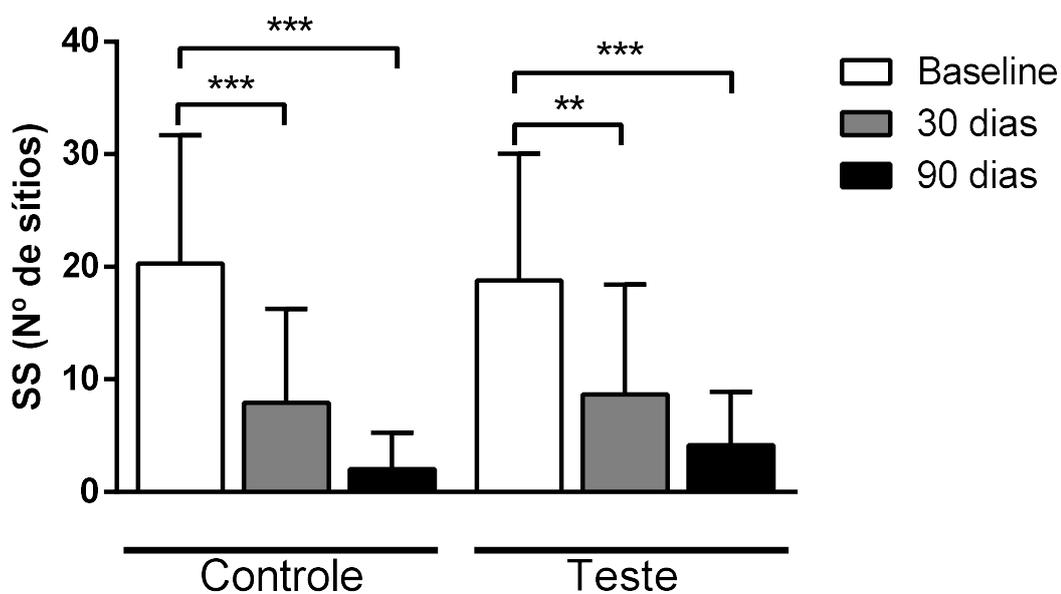


Figura 3 – Dados de média e desvio padrão do número de sítios com presença de sangramento a sondagem em todos os grupos e períodos de avaliação. ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ – Teste de Anova para amostras repetidas complementado pelo Teste de Tukey.
Fonte: Software GraphPadPrism 6

Na figura 4 foram demonstrados os dados da mediana e dos quartis 1 e 3 do NMG em todos os grupos e períodos de avaliação. Não houve diferença significativa entre os grupos ou períodos analisados para esse parâmetro clínico (Controle: $0.80 (0.63) \pm 0.68$

(Baseline); $0.80(0.62) \pm 0.57$ (30 dias) e $0.99 (0.89) \pm 0.68$ (90 dias); Teste: $1.33 (1.00) \pm 1.11$ (Baseline); $1.33 (1.03) \pm 0.86$ (30 dias) e $1.13 (0.90) \pm 1.07$ (90 dias)).

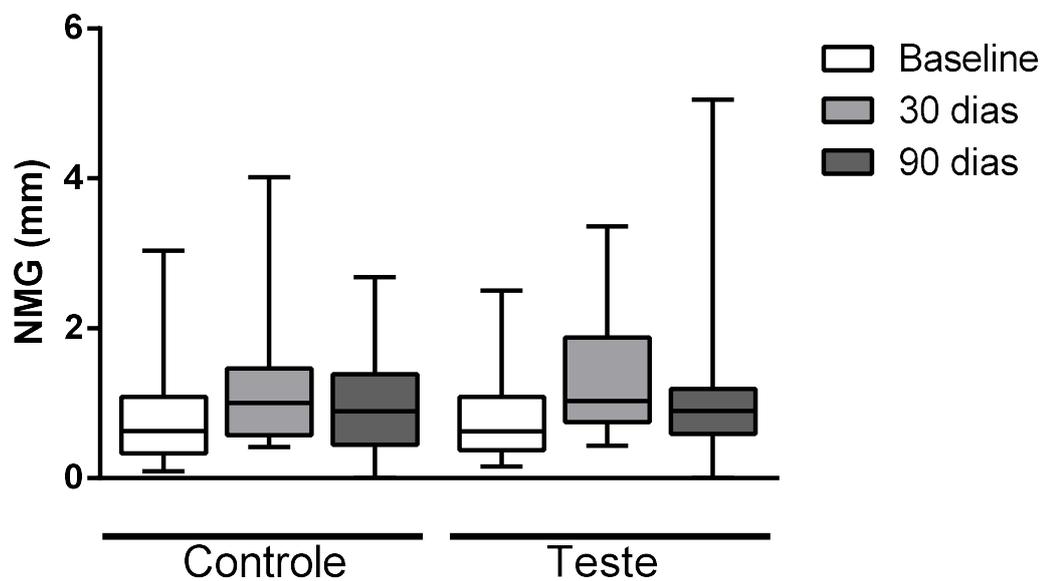


Figura 4 – Dados da mediana e dos quartis 1 e 3 do tipo box-plot do nível da margem gengival gengival em todos os grupos e períodos de avaliação.

Fonte: Software GraphPadPrism 6

Na figura 5 foram demonstrados a média e o desvio padrão do NCI no baseline e após 30 e 90 dias em ambos os grupos teste e controle. Houve uma diminuição mínima porém gradativa do NCI ao longo dos períodos em ambos os grupos, no entanto sem diferença estatística entre os períodos analisados e os grupos (Controle: 3.74 ± 1.31 (Baseline); 3.83 ± 1.28 (30 dias) e 2.78 ± 0.88 (90 dias); Teste: 3.35 ± 0.93 (Baseline); 3.60 ± 1.17 (30 dias) e 3.05 ± 1.33 (90 dias))

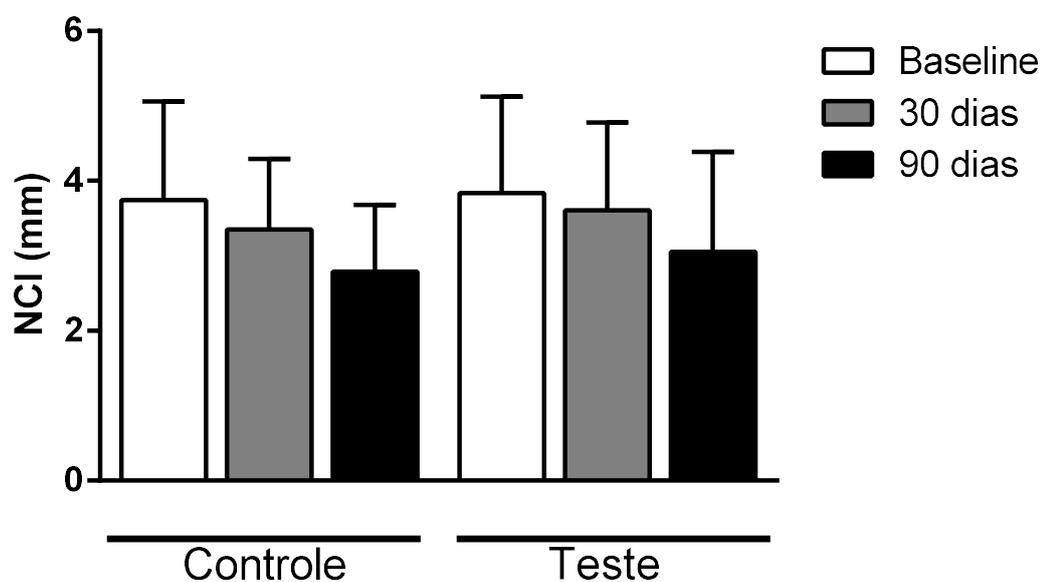


Figura 5 – Dados de média e desvio padrão do nível clínico de inserção em todos os grupos e períodos de avaliação
Fonte: Software GraphPadPrism 6

6 DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi comparar o uso de TFA ou LBI adjunto ao protocolo de desinfecção total da boca em uma única sessão em dentes unirradiculares utilizando o modelo de estudo boca dividida. O desenho de boca dividida foi utilizado neste estudo para eliminar a variância intersubjetiva que é um desafio no modelo de estudo paralelo, mesmo com correspondência perfeita entre os indivíduos de ambos os grupos analisados (REN et al., 2017). Outra vantagem é que, no modelo boca dividida, um tamanho de amostra menor costuma ser necessário para obter o mesmo poder estatístico, facilitando assim sua execução (ANTCZAK-BOUCKOMS et al., 1990). Além disso, as duas terapias testadas neste estudo foram aplicadas somente em dentes unirradiculares visando eliminar fatores relacionados ao dente que possam interferir no processo de cicatrização tecidual durante o tratamento periodontal não cirúrgico (CAMPOS et al., 2013). É sabido que as bolsas periodontais em dentes multi-radiculares com / sem envolvimento de furca responderam de forma menos favorável à RAR do que as bolsas em dentes unirradiculares (PIHLSTROM et al., 1984).

Até onde sabemos, nenhum estudo publicado avaliou o uso de TFA ou LBI associado ao protocolo DTB. O DTB foi proposto por Quirynen et al. (1995) visando a supressão dos periopatógenos em um período muito curto de tempo de todos os habitats da orofaringe (membranas mucosas, língua, amígdalas, saliva) (QUIRYNEN et al., 1995). Neste protocolo, a RAR de todos os quadrantes dentro em uma única sessão foi recomendada em conjunto com o uso de anti-sépticos. Deste modo, o DTB pode prevenir / retardar a contaminação cruzada das bolsas periodontais tratadas por bactérias presentes em habitats não tratados. Fang et al. (2016) em uma revisão sistemática com metanálise, mostraram que a DTB traz benefícios clínicos modestos adicionais na redução do PS e no NI em relação à realização da RAR em quadrantes (FANG et al., 2016). Além disso, menos tempo foi necessário para completar o tratamento no protocolo DTB aumentando a aceitação do paciente ao tratamento periodontal não cirúrgico. Com base nessas vantagens, o protocolo DTB, incluindo a aplicação de clorexidina a todos os habitats orais, foi utilizado neste estudo para a realização do tratamento periodontal não cirúrgico.

Os resultados do presente estudo mostraram melhorias na PS e SS em ambos os grupos de tratamentos após 30 e 90 dias, no entanto não houve diferença entre os grupos de TFA ou LBI em nenhum dos parâmetros clínicos avaliados. É sugerido que o uso do fotossensibilizante (corante azul de metileno a 0,005%) não parece promover ganhos adicionais nos parâmetros clínicos periodontais em relação ao uso de LBI sozinho. Os

resultados apresentados por Teymouri et al. (2016) suportam os resultados obtidos neste estudo, mostrando uma melhora nos três grupos de tratamento (TFA, LBI e RAR sozinho) nos parâmetros clínicos PS e NCI, sem diferenças estatisticamente significantes na análise intergrupo. Além disso, o LBI e a TFA associados a RAR diminuíram significativamente a média do SS em comparação com o RAR sozinho, mas sem diferenças entre eles (TEYMOURI et al., 2016). Além disso, vários estudos clínicos não encontraram nenhum benefício estatisticamente significativo na PS e NCI que favoreça o grupo submetido à RAR com a TFA em comparação com a RAR sozinha (THEODORO et al., 2012; BALATA et al., 2013; AHAD et al., 2016; MISTRY et al., 2016). Os efeitos da RAR isolada no tratamento da periodontite foram bem documentados e incluem redução clínica da inflamação, redução da DP, ganho de inserção clínica e mudanças microbianas para uma flora subgingival menos patogênica (BADERSTEN et al., 1984; BADERSTEN et al., 1987).

Por outro lado, outros estudos que avaliaram a eficiência da TFA como um adjuvante à RAR mostraram maiores reduções da PS e ganhos significativos de inserção clínica em comparação com a RAR sozinha no tratamento da periodontite (BERAKDAR et al., 2012; CAMPOS et al., 2013; CORREA et al., 2016). De fato, Campos et al. (2013) durante o tratamento de bolsas residuais em dentes unirradiculares utilizando laser de diodo (comprimento de onda de 660 nm, potência de 60 mW e densidade de energia de 129 J/cm²), juntamente com azul de metileno como fotossensibilizador (10 mg / ml) resultou em maior redução na PS e ganho de NCI no grupo TFA associado a RAR em comparação com a RAR sozinha após 3 meses de acompanhamento. Além disso, os locais tratados pela abordagem combinada resultaram em uma redução significativa no número de bolsas com PS <5 mm sem SS em comparação com os locais tratados apenas por RAR (CAMPOS et al., 2013). Em uma abordagem semelhante, Correa et al. (2016) mostraram maior redução na PS, ganho de NCI e uma redução estatisticamente significativa nos níveis de *A.a* na TFA associada RAR em comparação com a RAR sozinha (CORREA et al., 2016). Berakdar et al. (2012) compararam a TFA (laser diodo em um comprimento de onda de 670 nm e uma potência máxima de 150 mW e azul de metileno (0,005%)) com RAR isolada no tratamento periodontal inicial e mostraram que uma maior redução na PS foi obtida na RAR com TFA após seis meses (BERAKDAR et al., 2012).

Provavelmente, esse efeito benéfico da TFA como adjuvante à RAR é resultado dos efeitos fotodestrutivos das espécies reativas de oxigênio associadas à ação de modulação da LBI (THEODORO et al., 2017). Essas espécies citotóxicas podem danificar as membranas plasmáticas e o DNA, resultando na morte celular (AHAD et al., 2016). O azul

de metileno, comumente utilizado como fotossensibilizador, tem uma carga catiônica pronunciada que o ajuda a se ligar à membrana das bactérias Gram-negativas com um alto grau de seletividade (JOSEPH et al., 2017). Estudos in vitro mostraram remoção completa de bactérias anaeróbias e redução na atividade de lipopolissacarídeos e proteases após a aplicação de TFA (KOMERIK et al., 2000; PFITZNER et al., 2004). Além disso, estudos clínicos demonstraram uma redução dos periodontopatógenos após a terapia com TFA (THEODORO et al., 2012; KOLBE et al., 2014). Por conseguinte, a abordagem da TFA está indicada para o tratamento de bolsas profundas e lesões de furca que são menos acessíveis para o debridamento mecânico e apresentam microorganismos mais anaeróbicos em comparação com bolsas rasas (AHAD et al., 2016). No entanto, o uso de azul de metileno em associação com laser vermelho e infravermelho em uma única aplicação não promoveu ganhos periodontais adicionais no presente estudo. Sugere-se que o curto tempo de exposição à luz pode ser uma das razões para a falta de efeito da TFA no presente estudo, uma vez que alguns autores sugeriram que a aplicação múltipla da TFA é mais eficaz do que um único tratamento (LULIC et al., 2009; MULLER CAMPANILE et al., 2015; THEODORO et al., 2017).

A aplicação simultânea do laser vermelho e infravermelho durante a TFA proposto neste estudo visa não só ativar o fotossensibilizador utilizando o laser vermelho, mas também aumentar a reparação tecidual pela ação do laser infravermelho. A curetagem com laser infravermelho garante a remoção completa do epitélio da bolsa, sem necrose tecidual (ROMANOS et al., 2004). Além disso, o LBI pode promover a cicatrização de feridas acelerando a síntese de colágeno, aumentando os níveis de citocinas antiinflamatórias, a síntese de ATP e a proliferação de fibroblastos (ENWEMEKA et al., 2004). Aikol et al. (2011) avaliaram a eficácia da terapia com laser de diodo (comprimento de onda de 808 nm e densidade de energia 4 J/cm²) como adjuvante à RAR e demonstraram que o grupo LBI apresentou significativamente mais melhora nos índices de sangramento marginal (SM), NCI e PS em comparação com a RAR sozinha (AYKOL et al., 2011). Da mesma forma, Alzoman et al. (2016) observaram que a irradiação com laser de diodo (685 nm e 1,6 J/cm²) de bolsas periodontais ativas promoveu melhorias estatisticamente significativas na PS, NCI e ISM em comparação com a RAR sozinha. Além disso, a porcentagem de sítios positivos para *P. gingivalis* no grupo LBI diminuiu de 80% (12/15) para 20% (3/15) após a irradiação com laser, enquanto nenhuma alteração significativa foi observada no grupo RAR isolada (ALZOMAN ;DIAB, 2016). Gündoğar et al. (2016) testaram aplicações múltiplas do LBI (980 nm de comprimento de onda e 7,64 J/cm²) em pré-molares com bolsas profundas e

também mostraram que NCI, PS e ISM foram significativamente menores no grupo RAR + LBI do que no grupo RAR no terceiro e sexto meses (GUNDOGAR et al., 2016). No entanto, outros estudos demonstraram não haver vantagens no uso da LBI associada à RAR (DUKIC et al., 2013; PAMUK et al., 2017). Uma meta-análise recente concluiu que a RAR associada ao LBI demonstrou benefícios significativos a curto prazo em relação à monoterapia com RAR na melhoria da PS e o nível de interleucina-1 β no fluido crevicular gengival. No entanto, a LBI não apresentou efeitos adicionais significativos em médio prazo (3 e 6 meses) em termos de parâmetros clínicos e densidade óssea alveolar (REN et al., 2017).

O presente estudo apresenta algumas limitações metodológicas. Os dados contraditórios relatados em diferentes ensaios clínicos envolvendo TFA e LBI estão associados aos diferentes parâmetros de laser utilizados no protocolo de estudos que resultam em diferentes níveis de densidade de energia e, conseqüentemente, diferentes graus de efeito no tecido alvo (PAMUK et al., 2017). Devido à falta de estudos adequados, não há concordância quanto aos parâmetros adequados de tratamento para a terapia a laser. Assim, nós testamos neste estudo a aplicação do laser vermelho e infravermelho simultaneamente para avaliar sua eficiência. Além disso, a ausência de um grupo isolado de RAR e um curto período de acompanhamento (90 dias) também foram consideradas limitações do presente estudo.

7 CONCLUSÃO

Dentro das limitações deste estudo, pode-se concluir que a TFA e LBI promoveu melhorias nos parâmetros clínicos periodontais após o protocolo de DTB; entretanto, não foram encontradas diferenças distintas entre as duas modalidades de tratamento em relação ao ganho de inserção clínica, o controle da inflamação e a eliminação das bolsas periodontais.

REFERÊNCIAS

- ABDULJABBAR, T. et al. Antimicrobial photodynamic therapy adjuvant to non-surgical periodontal therapy in patients with diabetes mellitus: A meta-analysis. **Photodiagnosis Photodyn Ther**, v. 17, p. 138-146, Mar 2017.
- AHAD, A. et al. Effect of Antimicrobial Photodynamic Therapy as an Adjunct to Nonsurgical Treatment of Deep Periodontal Pockets: A Clinical Study. **J Lasers Med Sci**, v. 7, n. 4, p. 220-226, Fall 2016.
- ALWAEELI, H. A.; AL-KHATEEB, S. N.; AL-SADI, A. Long-term clinical effect of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in periodontal treatment: a randomized clinical trial. **Lasers Med Sci**, v. 30, n. 2, p. 801-7, Feb 2015.
- ALZOMAN, H. A.; DIAB, H. M. Effect of gallium aluminium arsenide diode laser therapy on *Porphyromonas gingivalis* in chronic periodontitis: a randomized controlled trial. **Int J Dent Hyg**, v. 14, n. 4, p. 261-266, Nov 2016.
- ANTCZAK-BOUCKOMS, A. A.; TULLOCH, J. F.; BERKEY, C. S. Split-mouth and cross-over designs in dental research. **J Clin Periodontol**, v. 17, n. 7 Pt 1, p. 446-453, Aug 1990.
- ARDILA, C. M.; LOPEZ, M. A.; GUZMAN, I. C. High resistance against clindamycin, metronidazole and amoxicillin in *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* isolates of periodontal disease. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, v. 15, n. 6, p. e947-951, Nov 1 2010.
- AYKOL, G. et al. The effect of low-level laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment. **J Periodontol**, v. 82, n. 3, p. 481-488, Mar 2011.
- AZARIPOUR, A. et al. Efficacy of photodynamic therapy as adjunct treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. **Lasers Med Sci**, v. 33, n. 2, p. 407-423, Feb 2018.
- BADERSTEN, A.; NILVEUS, R.; EGELBERG, J. Effect of nonsurgical periodontal therapy. II. Severely advanced periodontitis. **J Clin Periodontol**, v. 11, n. 1, p. 63-76, Jan 1984.
- BADERSTEN, A.; NIVEUS, R.; EGELBERG, J. 4-year observations of basic periodontal therapy. **J Clin Periodontol**, v. 14, n. 8, p. 438-444, Sep 1987.
- BAKER, K. A. The role of dental professionals and the patient in plaque control. **Periodontol 2000**, v. 8, p. 108-113, Jun 1995.
- BALATA, M. L. et al. Photodynamic therapy associated with full-mouth ultrasonic debridement in the treatment of severe chronic periodontitis: a randomized-controlled clinical trial. **J Appl Oral Sci**, v. 21, n. 2, p. 208-214, Mar-Apr 2013.

BANSAL, V. et al. A clinico-microbiologic study comparing the efficacy of locally delivered chlorhexidine chip and diode LASER as an adjunct to non-surgical periodontal therapy. **J Oral Biol Craniofac Res**, v. 9, n. 1, p. 67-72, Jan-Mar 2019.

BASSIR, S. H. et al. Photoactivated disinfection using light-emitting diode as an adjunct in the management of chronic periodontitis: a pilot double-blind split-mouth randomized clinical trial. **J Clin Periodontol**, v. 40, n. 1, p. 65-72, Jan 2013.

BERAKDAR, M. et al. Comparison between scaling-root-planing (SRP) and SRP/photodynamic therapy: six-month study. **Head Face Med**, v. 8, p. 12, Apr 5 2012.

BEREZOW, A. B.; DARVEAU, R. P. Microbial shift and periodontitis. **Periodontol 2000**, v. 55, n. 1, p. 36-47, Feb 2011.

BETSY, J. et al. Efficacy of antimicrobial photodynamic therapy in the management of chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. **J Clin Periodontol**, v. 41, n. 6, p. 573-581, Jun 2014.

BOLLEN, C. M. et al. The effect of a one-stage full-mouth disinfection on different intra-oral niches. Clinical and microbiological observations. **J Clin Periodontol**, v. 25, n. 1, p. 56-66, Jan 1998.

BOLLEN, C. M. et al. Full- versus partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections. A pilot study: long-term microbiological observations. **J Clin Periodontol**, v. 23, n. 10, p. 960-970, Oct 1996.

BRASSOLATTI, P. et al. Comparative effects of two different doses of low-level laser therapy on wound healing third-degree burns in rats. **Microsc Res Tech**, v. 79, n. 4, p. 313-320, Apr 2016.

BRAYER, W. K. et al. Scaling and root planing effectiveness: the effect of root surface access and operator experience. **J Periodontol**, v. 60, n. 1, p. 67-72, Jan 1989.

CALDERIN, S.; GARCIA-NUNEZ, J. A.; GOMEZ, C. Short-term clinical and osteoimmunological effects of scaling and root planing complemented by simple or repeated laser phototherapy in chronic periodontitis. **Lasers Med Sci**, v. 28, n. 1, p. 157-166, Jan 2013.

CAMPOS, G. N. et al. The adjunctive effect of photodynamic therapy for residual pockets in single-rooted teeth: a randomized controlled clinical trial. **Lasers Med Sci**, v. 28, n. 1, p. 317-324, Jan 2013.

CARUSO, U. et al. Use of diode laser 980 nm as adjunctive therapy in the treatment of chronic periodontitis. A randomized controlled clinical trial. **New Microbiol**, v. 31, n. 4, p. 513-518, Oct 2008.

CATON, J. G. et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. **J Periodontol**, v. 89 Suppl 1, p. S1-S8, Jun 2018.

- CHRISTODOULIDES, N. et al. Photodynamic therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a randomized, controlled clinical trial. **J Periodontol**, v. 79, n. 9, p. 1638-1644, Sep 2008.
- COBB, C. M. et al. Diode laser offers minimal benefit for periodontal therapy. **Compend Contin Educ Dent**, v. 33, n. 4, p. e67-73, Apr 2012.
- CORREA, M. G. et al. Short-term microbiological effects of photodynamic therapy in non-surgical periodontal treatment of residual pockets: A split-mouth RCT. **Lasers Surg Med**, v. 48, n. 10, p. 944-950, Dec 2016.
- CRISPINO, A. et al. Effectiveness of a diode laser in addition to non-surgical periodontal therapy: study of intervention. **Ann Stomatol (Roma)**, v. 6, n. 1, p. 15-20, Jan-Mar 2015.
- CUGINI, M. A. et al. The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases: 12-month results. **J Clin Periodontol**, v. 27, n. 1, p. 30-36, Jan 2000.
- DALVI, S. A.; HANNA, R.; GATTANI, D. R. Utilisation of Antimicrobial Photodynamic Therapy as an Adjunctive Tool for Open Flap Debridement in the Management of Chronic Periodontitis: A Randomized Controlled Clinical Trial. **Photodiagnosis Photodyn Ther**, Jan 23 2019.
- DANSER, M. M. et al. The effect of periodontal treatment on periodontal bacteria on the oral mucous membranes. **J Periodontol**, v. 67, n. 5, p. 478-485, May 1996.
- DE ALMEIDA, J. M. et al. Influence of photodynamic therapy on the development of ligature-induced periodontitis in rats. **J Periodontol**, v. 78, n. 3, p. 566-575, Mar 2007.
- DE OLIVEIRA, R. R. et al. 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, Jun 2007.
- DEL PELOSO RIBEIRO, E. et al. Periodontal debridement as a therapeutic approach for severe chronic periodontitis: a clinical, microbiological and immunological study. **J Clin Periodontol**, v. 35, n. 9, p. 789-798, Sep 2008.
- DUKIC, W. et al. Clinical effectiveness of diode laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a randomized clinical study. **J Periodontol**, v. 84, n. 8, p. 1111-1117, Aug 2013.
- ENWEMEKA, C. S. et al. The efficacy of low-power lasers in tissue repair and pain control: a meta-analysis study. **Photomed Laser Surg**, v. 22, n. 4, p. 323-329, Aug 2004.
- FANG, H. et al. Comparison of full-mouth disinfection and quadrant-wise scaling in the treatment of adult chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. **J Periodontol Res**, v. 51, n. 4, p. 417-430, Aug 2016.
- FLEMMIG, T. F. Periodontitis. **Ann Periodontol**, v. 4, n. 1, p. 32-38, Dec 1999.

FONTANA, C. R.; BAGNATO, V. S. Low-level laser therapy in pediatric Bell's palsy: case report in a three-year-old child. **J Altern Complement Med**, v. 19, n. 4, p. 376-382, Apr 2013.

FORMIGA FILHO, A. L. et al. In Vitro Evaluation of Antimicrobial Photodynamic Therapy Associated with Hydroalcoholic Extracts of *Schinopsis brasiliensis* Engl.: New Therapeutic Perspectives. **Photomed Laser Surg**, v. 33, n. 5, p. 240-245, May 2015.

GOMES HENRIQUES, A. C. et al. Low-level laser therapy promotes proliferation and invasion of oral squamous cell carcinoma cells. **Lasers Med Sci**, v. 29, n. 4, p. 1385-1395, Jul 2014.

GUNDOGAR, H. et al. The effect of low-level laser therapy on non-surgical periodontal treatment: a randomized controlled, single-blind, split-mouth clinical trial. **Lasers Med Sci**, v. 31, n. 9, p. 1767-1773, Dec 2016.

HAFFAJEE, A. D. et al. The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. **J Clin Periodontol**, v. 24, n. 5, p. 324-334, May 1997.

HAFFAJEE, A. D.; SOCRANSKY, S. S. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. **Periodontol 2000**, v. 5, p. 78-111, Jun 1994.

HARRIS, D. M.; YESSIK, M. Therapeutic ratio quantifies laser antiseptics: ablation of *Porphyromonas gingivalis* with dental lasers. **Lasers Surg Med**, v. 35, n. 3, p. 206-213, 2004.

HEITZ-MAYFIELD, L. J. Disease progression: identification of high-risk groups and individuals for periodontitis. **J Clin Periodontol**, v. 32 Suppl 6, p. 196-209, 2005.

HEITZ-MAYFIELD, L. J. et al. A systematic review of the effect of surgical debridement vs non-surgical debridement for the treatment of chronic periodontitis. **J Clin Periodontol**, v. 29 Suppl 3, p. 92-102; discussion 160-2, 2002.

HUANG, Y. Y. et al. Biphasic dose response in low level light therapy. **Dose Response**, v. 7, n. 4, p. 358-383, Sep 1 2009.

ISSA, M. C.; MANELA-AZULAY, M. Photodynamic therapy: a review of the literature and image documentation. **An Bras Dermatol**, v. 85, n. 4, p. 501-511, Jul-Aug 2010.

JOHNSON, G. K.; SLACH, N. A. Impact of tobacco use on periodontal status. **J Dent Educ**, v. 65, n. 4, p. 313-321, Apr 2001.

JORI, G. et al. Photodynamic therapy in the treatment of microbial infections: basic principles and perspective applications. **Lasers Surg Med**, v. 38, n. 5, p. 468-481, Jun 2006.

JOSEPH, B. et al. Is Antimicrobial Photodynamic Therapy Effective as an Adjunct to Scaling and Root Planing in Patients with Chronic Periodontitis? A Systematic Review. **Biomolecules**, v. 7, n. 4, Nov 24 2017.

- JOSEPH BETSY. J et al. Patients' perceptions of antimicrobial photodynamic therapy in the management of chronic periodontitis. **Photodiagnosis Photodyn Ther**, v. 14 p. 84-90, 2016.
- KATO, I. T. et al. Low-level laser therapy in burning mouth syndrome patients: a pilot study. **Photomed Laser Surg**, v. 28, n. 6, p. 835-839, Dec 2010.
- KNOFLER, G. U.; PURSCHWITZ, R. E.; JENTSCH, H. F. Clinical evaluation of partial- and full-mouth scaling in the treatment of chronic periodontitis. **J Periodontol**, v. 78, n. 11, p. 2135-2142, Nov 2007.
- KOLBE, M. F. et al. Photodynamic therapy during supportive periodontal care: clinical, microbiologic, immunoinflammatory, and patient-centered performance in a split-mouth randomized clinical trial. **J Periodontol**, v. 85, n. 8, p. e277-286, Aug 2014.
- KOMERIK, N.; WILSON, M.; POOLE, S. The effect of photodynamic action on two virulence factors of gram-negative bacteria. **Photochem Photobiol**, v. 72, n. 5, p. 676-680, Nov 2000.
- KREISLER, M. et al. Low level 809-nm diode laser-induced in vitro stimulation of the proliferation of human gingival fibroblasts. **Lasers Surg Med**, v. 30, n. 5, p. 365-369, 2002.
- LADALARDO, T. C. et al. Laser therapy in the treatment of dentine hypersensitivity. **Braz Dent J**, v. 15, n. 2, p. 144-150, 2004.
- LAI, S. M. et al. Clinical and radiographic investigation of the adjunctive effects of a low-power He-Ne laser in the treatment of moderate to advanced periodontal disease: a pilot study. **Photomed Laser Surg**, v. 27, n. 2, p. 287-93, Apr 2009.
- LIM, W. et al. Anti-inflammatory effect of 635 nm irradiations on in vitro direct/indirect irradiation model. **J Oral Pathol Med**, v. 44, n. 2, p. 94-102, Feb 2015.
- LINDHE, J. **Tratado de periodontia clínica e implantologia oral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.
- LIU, C. M. et al. Comparison of Nd:YAG laser versus scaling and root planing in periodontal therapy. **J Periodontol**, v. 70, n. 11, p. 1276-1282, Nov 1999.
- LOPES, L. P. B. et al. Effect of photobiomodulation therapy on postoperative pain after endodontic treatment: a randomized, controlled, clinical study. **Clin Oral Investig**, v. 23, n. 1, p. 285-292, Jan 2019.
- LUI, J.; CORBET, E. F.; JIN, L. Combined photodynamic and low-level laser therapies as an adjunct to nonsurgical treatment of chronic periodontitis. **J Periodontal Res**, v. 46, n. 1, p. 89-96, Feb 2011.
- LULIC, M. et al. One-year outcomes of repeated adjunctive photodynamic therapy during periodontal maintenance: a proof-of-principle randomized-controlled clinical trial. **J Clin Periodontol**, v. 36, n. 8, p. 661-666, Aug 2009.

- MADIANOS, P. N.; BOBETSIS, Y. A.; KINANE, D. F. Generation of inflammatory stimuli: how bacteria set up inflammatory responses in the gingiva. **J Clin Periodontol**, v. 32 Suppl 6, p. 57-71, 2005.
- MAKHLOUF, M. et al. Effect of adjunctive low level laser therapy (LLLT) on nonsurgical treatment of chronic periodontitis. **Photomed Laser Surg**, v. 30, n. 3, p. 160-166, Mar 2012.
- MARQUES, M. M. et al. Effect of low-power laser irradiation on protein synthesis and ultrastructure of human gingival fibroblasts. **Lasers Surg Med**, v. 34, n. 3, p. 260-265, 2004.
- MEALEY, B. L. Diabetes and periodontal disease: two sides of a coin. **Compend Contin Educ Dent**, v. 21, n. 11, p. 943-946, 948, 950, passim; quiz 956, Nov 2000.
- MINEOKA, T. et al. Site-specific development of periodontal disease is associated with increased levels of Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola, and Tannerella forsythia in subgingival plaque. **J Periodontol**, v. 79, n. 4, p. 670-676, Apr 2008.
- MISTRY, A. et al. Effect of Combined Therapy Using Diode Laser and Photodynamic Therapy on Levels of IL-17 in Gingival Crevicular Fluid in Patients With Chronic Periodontitis. **J Lasers Med Sci**, v. 7, n. 4, p. 250-255, Fall 2016.
- MONGARDINI, C. et al. One stage full- versus partial-mouth disinfection in the treatment of chronic adult or generalized early-onset periodontitis. I. Long-term clinical observations. **J Periodontol**, v. 70, n. 6, p. 632-645, Jun 1999.
- MORITZ, A. et al. Bacterial reduction in periodontal pockets through irradiation with a diode laser: a pilot study. **J Clin Laser Med Surg**, v. 15, n. 1, p. 33-37, Feb 1997.
- MORITZ, A. et al. Treatment of periodontal pockets with a diode laser. **Lasers Surg Med**, v. 22, n. 5, p. 302-311, 1998.
- MULLER CAMPANILE, V. S. et al. Single or repeated antimicrobial photodynamic therapy as adjunct to ultrasonic debridement in residual periodontal pockets: clinical, microbiological, and local biological effects. **Lasers Med Sci**, v. 30, n. 1, p. 27-34, Jan 2015.
- OLSEN, C. E. et al. Development of resistance to photodynamic therapy (PDT) in human breast cancer cells is photosensitizer-dependent: Possible mechanisms and approaches for overcoming PDT-resistance. **Biochem Pharmacol**, v. 144, p. 63-77, Nov 15 2017.
- PAMUK, F. et al. The effect of low-level laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment on gingival crevicular fluid levels of transforming growth factor-beta 1, tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor 1 in smoking and non-smoking chronic periodontitis patients: A split-mouth, randomized control study. **J Periodontal Res**, v. 52, n. 5, p. 872-882, Oct 2017.

- PETELIN, M. et al. Effect of repeated adjunctive antimicrobial photodynamic therapy on subgingival periodontal pathogens in the treatment of chronic periodontitis. **Lasers Med Sci**, v. 30, n. 6, p. 1647-1656, Aug 2015.
- PETIT, M. D. et al. Prevalence of periodontitis and suspected periodontal pathogens in families of adult periodontitis patients. **J Clin Periodontol**, v. 21, n. 2, p. 76-85, Feb 1994.
- PETROVIC, M. S. et al. Clinical, microbiological and cytomorphometric evaluation of low-level laser therapy as an adjunct to periodontal therapy in patients with chronic periodontitis. **Int J Dent Hyg**, v. 16, n. 2, p. e120-e127, May 2018.
- PFITZNER, A. et al. Killing of periodontopathogenic bacteria by photodynamic therapy. **J Periodontol**, v. 75, n. 10, p. 1343-1349, Oct 2004.
- PIHLSTROM, B. L.; OLIPHANT, T. H.; MCHUGH, R. B. Molar and nonmolar teeth compared over 6 1/2 years following two methods of periodontal therapy. **J Periodontol**, v. 55, n. 9, p. 499-504, Sep 1984.
- POLANSKY, R. et al. Clinical effectiveness of photodynamic therapy in the treatment of periodontitis. **J Clin Periodontol**, v. 36, n. 7, p. 575-580, Jul 2009.
- POSTEN, W. et al. Low-level laser therapy for wound healing: mechanism and efficacy. **Dermatol Surg**, v. 31, n. 3, p. 334-340, Mar 2005.
- QIN, Y. L. et al. Comparison of toluidine blue-mediated photodynamic therapy and conventional scaling treatment for periodontitis in rats. **J Periodontol Res**, v. 43, n. 2, p. 162-167, Apr 2008.
- QUIRYNEN, M. et al. Full- vs. partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections: short-term clinical and microbiological observations. **J Dent Res**, v. 74, n. 8, p. 1459-1467, Aug 1995.
- QUIRYNEN, M. et al. The role of chlorhexidine in the one-stage full-mouth disinfection treatment of patients with advanced adult periodontitis. Long-term clinical and microbiological observations. **J Clin Periodontol**, v. 27, n. 8, p. 578-589, Aug 2000.
- QUIRYNEN, M. et al. One stage full- versus partial-mouth disinfection in the treatment of chronic adult or generalized early-onset periodontitis. II. Long-term impact on microbial load. **J Periodontol**, v. 70, n. 6, p. 646-656, Jun 1999.
- QUIRYNEN, M.; TEUGHEL, W.; VAN STEENBERGHE, D. Impact of antiseptics on one-stage, full-mouth disinfection. **J Clin Periodontol**, v. 33, n. 1, p. 49-52, Jan 2006.
- REN, C. et al. The effectiveness of low-level laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a meta-analysis. **J Periodontol Res**, v. 52, n. 1, p. 8-20, Feb 2017.
- RENVERT, S.; DAHLEN, G.; WIKSTROM, M. Treatment of periodontal disease based on microbiological diagnosis. Relation between microbiological and clinical parameters during 5 years. **J Periodontol**, v. 67, n. 6, p. 562-571, Jun 1996.

ROMANOS, G. E. et al. Removal of epithelium in periodontal pockets following diode (980 nm) laser application in the animal model: an in vitro study. **Photomed Laser Surg**, v. 22, n. 3, p. 177-183, Jun 2004.

SAFAVI, S. M. et al. Effects of low-level He-Ne laser irradiation on the gene expression of IL-1beta, TNF-alpha, IFN-gamma, TGF-beta, bFGF, and PDGF in rat's gingiva. **Lasers Med Sci**, v. 23, n. 3, p. 331-335, Jul 2008.

SAKURAI, Y.; YAMAGUCHI, M.; ABIKO, Y. Inhibitory effect of low-level laser irradiation on LPS-stimulated prostaglandin E2 production and cyclooxygenase-2 in human gingival fibroblasts. **Eur J Oral Sci**, v. 108, n. 1, p. 29-34, Feb 2000.

SCHAFFER, M. et al. Effects of 780 nm diode laser irradiation on blood microcirculation: preliminary findings on time-dependent T1-weighted contrast-enhanced magnetic resonance imaging (MRI). **J Photochem Photobiol B**, v. 54, n. 1, p. 55-60, Jan 2000.

SCHWARZ, F. et al. Periodontal treatment with an Er: YAG laser compared to scaling and root planing. A controlled clinical study. **J Periodontol**, v. 72, n. 3, p. 361-367, Mar 2001.

SIBATA, C. H. et al. Photodynamic therapy: a new concept in medical treatment. **Braz J Med Biol Res**, v. 33, n. 8, p. 869-880, Aug 2000.

SIGUSCH, B. W. et al. Full-mouth antimicrobial photodynamic therapy in Fusobacterium nucleatum-infected periodontitis patients. **J Periodontol**, v. 81, n. 7, p. 975-981, Jul 2010.

SILVEIRA, P. C.; STRECK, E. L.; PINHO, R. A. Evaluation of mitochondrial respiratory chain activity in wound healing by low-level laser therapy. **J Photochem Photobiol B**, v. 86, n. 3, p. 279-282, Mar 1 2007.

SOCRANSKY, S. S. et al. Microbial complexes in subgingival plaque. **J Clin Periodontol**, v. 25, n. 2, p. 134-144, Feb 1998.

SUN, G.; TUNER, J. Low-level laser therapy in dentistry. **Dent Clin North Am**, v. 48, n. 4, p. 1061-1076, viii, Oct 2004.

SWIERKOT, K. et al. One-stage full-mouth disinfection versus quadrant and full-mouth root planing. **J Clin Periodontol**, v. 36, n. 3, p. 240-249, Mar 2009.

TALEBI, M. et al. Microbiological Efficacy of Photodynamic Therapy as an Adjunct to Non-surgical Periodontal Treatment: A Clinical Trial. **J Lasers Med Sci**, v. 7, n. 2, p. 126-130, Spring 2016.

TEYMOURI, F.; FARHAD, S. Z.; GOLESTANEH, H. The Effect of Photodynamic Therapy and Diode Laser as Adjunctive Periodontal Therapy on the Inflammatory Mediators Levels in Gingival Crevicular Fluid and Clinical Periodontal Status. **J Dent (Shiraz)**, v. 17, n. 3, p. 226-232, Sep 2016.

THEODORO, L. H. et al. Comparison of repeated applications of aPDT with amoxicillin and metronidazole in the treatment of chronic periodontitis: A short-term study. **J Photochem Photobiol B**, v. 174, p. 364-369, Sep 2017.

THEODORO, L. H. et al. Clinical and microbiological effects of photodynamic therapy associated with nonsurgical periodontal treatment. A 6-month follow-up. **Lasers Med Sci**, v. 27, n. 4, p. 687-693, Jul 2012.

VAN WINKELHOFF, A. J.; WINKEL, E. G. Antibiotics in periodontics: right or wrong? **J Periodontol**, v. 80, n. 10, p. 1555-8, Oct 2009.

VANDEKERCKHOVE, B. N. et al. Full- versus partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections. Long-term clinical observations of a pilot study. **J Periodontol**, v. 67, n. 12, p. 1251-1259, Dec 1996.

VON TROIL-LINDEN, B. et al. Source of suspected periodontal pathogens re-emerging after periodontal treatment. **J Clin Periodontol**, v. 23, n. 6, p. 601-607, Jun 1996.

WAERHAUG, J. Healing of the dento-epithelial junction following subgingival plaque control. II: As observed on extracted teeth. **J Periodontol**, v. 49, n. 3, p. 119-134, Mar 1978.

WALSH, L. J. The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 1. Soft tissue applications. **Aust Dent J**, v. 42, n. 4, p. 247-254, Aug 1997.

WENNSTROM, J. L.; DAHLEN, G.; RAMBERG, P. Subgingival debridement of periodontal pockets by air polishing in comparison with ultrasonic instrumentation during maintenance therapy. **J Clin Periodontol**, v. 38, n. 9, p. 820-827, Sep 2011.

ZANIN, I. C. et al. Photosensitization of in vitro biofilms by toluidine blue O combined with a light-emitting diode. **Eur J Oral Sci**, v. 114, n. 1, p. 64-69, Feb 2006.

ZARE, D. et al. Evaluation of the effects of diode (980 nm) laser on gingival inflammation after nonsurgical periodontal therapy. **J Lasers Med Sci**, v. 5, n. 1, p. 27-31, Winter 2014.

ZIJNGE, V. et al. The recolonization hypothesis in a full-mouth or multiple-session treatment protocol: a blinded, randomized clinical trial. **J Clin Periodontol**, v. 37, n. 6, p. 518-525, Jun 2010.

APÊNDICE A**Comparison between Antimicrobial Photodynamic Therapy and Low-level laser therapy on non-surgical periodontal treatment: A Clinical Study***

Alice Engel Naves Freire¹ Thaisa Macedo Iuns Carrera¹, Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira², Suzane Cristina Pigossi¹, Noé Vital Ribeiro Júnior¹

1 Department of Clinics and Surgery, School of Dentistry, Alfenas Federal University; Gabriel Monteiro St, 700, Center, 37130-001, Alfenas-MG

2 Department of Periodontology, School of Dentistry, Uberlandia Federal University (UFU), Uberlandia, Minas Gerais, Brazil.

**Artigo submetido no periódico "Lasers in Medical Science"*

Correspondence: Dra. Suzane Cristina Pigossi, Alfenas Federal University (Unifal-MG), Department of Clinics and Surgery – Gabriel Monteiro da Silvia St, 700 Center, CEP 37130-001, Alfenas, Minas Gerais, Brazil. E-mail: supigossi@ymail.com

ABSTRACT

Periodontitis is a chronic and polymicrobial inflammatory disease characterized by gingival inflammation, pocket formation and/or gingival recession and alveolar bone destruction. The periodontitis therapy is focused in the reduction or elimination of the supragingival and subgingival microbial biofilm to prevent the disease progression. The scaling and root planing (SRP) effectiveness can be compromised by the presence of pocket depth and furcation involvement that difficult the instruments access to completely remove the biofilms deposits from the root surface. In this context, alternative antibacterial therapeutic modalities such as antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) and low laser level therapy (LLLT) have been proposed to improve the effectiveness of periodontal treatment. However, clinical studies evaluation the efficiency of both treatment showed nondefinitive and in part contradictory results with regards its clinical and microbiological effects. Based on that, the aim of this study was evaluate the clinical effects of aPDT and LLLT after the one-stage full-mouth disinfection protocol in the periodontitis treatment. A split-mouth, randomized controlled clinical trial was conducted in 20 patients presenting at least two contralateral single-rooted teeth with probing pocket depth (PD) ≥ 5 mm with bleeding on probing (BOP) in single-rooted teeth. All patients were submmited to one-stage full-mouth disinfection protocol (OSFMD) wherein SRP were completed in once session associated with antiseptics. After that, the selected sites randomly received: (1) aPDT (methylene blue as a photosensitizer activated by red and infrared diodo laser), or (2) LLLT (red and infrared diodo laser). Clinical parameters were assessed at baseline and 3 months post-therapies. Both treatment groups promoted a significant reduction of SS and PS after 3 months of periodontal therapy, however, no differences were observed between the groups in regard to the clinical parameters evaluated. In conclusion, aPDT and LLLT therapy promoted improvements in periodontal clinical parameters after OSFMD protocol; however no distinct differences were found between both treatment modalities in this study.

Keywords: Periodontitis; Photodynamic Therapy; Low-Level Light Therapy.

INTRODUCTION

Periodontitis is a chronic, multifactorial and polymicrobial inflammatory disease which is characterized by periodontal ligament and alveolar bone destruction, associated with gingival inflammation, pocket formation and/or gingival recession [1]. The main etiological factor of periodontitis is the presence of anaerobic gram-negative bacilli residing in the biofilm adhered to the tooth surface [2]. The presence of periodontopathogenic bacteria such as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Treponema denticola* (Td) and *Tannerella forsythia* (Tf) causes disturbed hemostasis and destructive immunological host responses that causes periodontal breakdown and eventually tooth loss [3]. Associated with that, various host risk factors can influence the initiation, progression and extension of periodontitis including age, cigarette smoking, systemic diseases, immune system disorders and hormonal changes [4].

Based on that, the periodontitis therapy is focused in the reduction or elimination of the supragingival and subgingival microbial biofilm, as well as eliminating the factors that favour its deposition, to prevent the disease progression [5]. An reduction of the subgingival biofilm can be achieved by the scaling and root planing (SRP) where root surface is debrided with hand instruments that allows the sufficient cleaning of the periodontal pockets and facilitates periodontal reattachment [6]. However, the SRP effectiveness can be compromised by the presence of pocket depth, furcation involvement, and presence of root curvatures and invaginated that difficult the instruments access to completely remove the biofilms and calculus deposits from the root surface [7]. Additionally, periodontal pathogens have the ability to invade the surrounding soft tissues and cannot be eliminated by mechanical instrumentation [8]. In this way, even with therapy, some patients still have attachment loss probably associated with the persistence of pathogens in the periodontal site [9].

Several treatment options are available to support the efficacy of SRP including the use of systemic antibiotics, however the antibiotic-resistant strains make the adjunct use of antibiotics controversial and should be saved for cases of severe periodontitis [10,11]. Therefore, alternative antibacterial therapeutic modalities such as antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) have been suggested to improve the effectiveness of periodontal treatment. The aPDT mechanism consisting in the use of a photosensitizers (e.g. toluidine blue O, methylene blue and malachite green) that directly target in both gram-negative and gram-positive bacteria without affect host cells[12]. This photosensitizer is

activated by light of a specific wavelength and reacts with oxygen producing a highly reactive state of oxygen, known as singlet oxygen, which are cytotoxic to microorganisms [13]. In this way, the aPDT ensured reduction in microbial challenge which remains even after the RAR in difficult access sites. Moreover, aPDT has other advantages including easy application, absence of collateral effect and no selection of resistant bacterial on repeated application [8]. *In vitro* studies showed complete removal of anaerobic bacteria and a reduction in the lipopolysaccharides and proteases activity after aPDT [14,15]. Additionally, there are several studies in animals that have also demonstrated that aPDT is effective in reducing bone loss in periodontitis [16-18]. In regard to clinical studies, some studies have shown a reduction in the percentage of bleeding on probing (BOP) and PD in sites treated with aPDT [8,19,5] whereas other studies have not shown clinical advantages with the use of aPDT [20-22]. Recently, Azaripour et al. [12] in a systematic review with meta-analysis showed that aPDT adjunct to SRP provides a modest but significant effect in PD reduction and CAL gain in treatment of chronic periodontitis.

The isolated use of low level laser therapy (LLLT) as an adjunctive to mechanical approach has also been proposed in the periodontal therapy [23,24]. Different types of infrared lasers, including neodymium:yttrium-aluminum-garnet (Nd:YAG), erbium:yttrium-aluminum-garnet (Er:YAG), carbon dioxide (CO₂) and diode lasers have been used in the periodontal diseases treatment [25]. The use of infrared lasers adjunct to the RAR is recommended based on its pain-reducing, anti-inflammatory effects and wound healing promoter [23]. The infrared laser can accelerate the wound healing by stimulate collagen synthesis, angiogenesis and growth factor release [26,27]. Its suggested that infrared lasers accelerate periodontal wound healing and regeneration by promoting the debridement and decontamination of diseased tissues [28]. Additionally, the bactericidal and detoxifying effects of the diode laser during non-surgical periodontal treatment have been documented [29,30]. Aykol et al.[23] showed that the use of diodo laser adjunct to SRP resulted in a significantly more improvement in sulcus bleeding index, clinical attachment level (CAL), and probing depth (PD) levels compared to the SRP alone. Similarly, Crispino et al. [24] observed that both RAR with diodo laser or SRP alone were effective in improving gingival index (GI), plaque index (PI) and PD but the diode laser use promoted more evident clinical results. However, others studies did not demonstrate significant superiority of the association with diodo laser and SRP over SRP alone in terms of gingival inflammation and microbiologic parameters [31,32].

The aim of this study was evaluate the clinical effects of aPDT and LLLT after the one-stage full-mouth disinfection protocol in the periodontitis treatment.

MATERIAL AND METHODS

Study population

The present study was a single center, blinded, randomized clinical trial of 3 months in duration which used a split-mouth design. This study was approved by the Ethical Committee of Alfenas Federal University (CAAE 77385417.0.0000.51442) and performed following the requirements of the World Medical Association Declaration of Helsinki. All patients received a detailed description of the proposed treatment and signed a consent form in advance of their inclusion in the study. Twenty patients (11 females and 9 males) diagnosed with chronic periodontitis were included in this study conducted over a period of 1 year (February 2018– February 2019) at outpatient unit of Departament of Clinic and Surgery, Alfenas Federal University, Minas Gerais, Brazil. The patients were recruited after a screening examination that included a full medical and dental history, intraoral examination, full-mouth periodontal probing and radiographs. The primary variable of this study was the CAL that was assessed by clinical analysis. Data from the CAL of the study by Gündoğar et al. (2016) (GUNDOGAR et al., 2016) that evaluated the effect of LLLT on the treatment of chronic periodontitis in healthy patients was utilized to power calculation. Taking into account the difference of 1mm in the CAL as clinically relevant and knowing that the expected standard deviation for this type of analysis will be approximately 0.45, the sample size of 18 patients was determined sufficient to obtain a β power study of 0.90 and the α power of 0.05.

Among inclusion criteria were subject with untreated moderate periodontitis (Stage II, Grade B according to the criteria of the 2017 international classification[33]) with at least two contralateral single-rooted teeth with PD \geq 5 mm, CAL \geq 3 mm, BOP and radiographic signs of bone loss. Exclusion criteria were pregnancy, current smoking and smoking within the past 10 years, use of mouth rinses containing antimicrobials in the preceding 2 months, orthodontic appliances, systemic conditions that could affect the progression of periodontitis, orthodontic appliances, and use of long-term administration of anti-inflammatory and immunosuppressive medications.

Treatment protocol

All the patients included in the study received information about the etiology of periodontal disease and instructions for maintaining adequate plaque control, including interdental cleaning with dental floss and interdental toothbrushes. The patients were treated using the one-stage full-mouth disinfection protocol (OSFMD) [34] wherein SRP were completed in once session associated with antiseptics. SRP was performed under local anaesthesia using low speed diamond tips (Periodont, KG Sorensen, São Paulo, Brazil) (Figure 1A-D) and periodontal hand instruments (Gracey curettes, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA). Associated with SRP, tongue brushing with 1% chlorhexidine gel for 1 min, mouth rinsing with 0.2% chlorhexidine solution for 2 min and subgingival irrigation of all pockets (3x in 10 min) with 1% chlorhexidine gel (Figure 1E) were performed in all included patients.

After these procedures, at least one single-rooted teeth, with PD \geq 5 mm according to the inclusion criteria in different quadrants, were randomly assigned by coin toss to receive aPDT + SRP (test grup) or LLLT + SRP (control group). In the test group, the periodontal included sites were irrigated with 1ml of the photosensitizer liquid (0.005% methylene blue dye) using a blunt needle, starting from the apical end of the pocket and moving coronally to avoid entrapment of air bubbles [35] (Figure 1F). Three minutes later all pockets were thoroughly rinsed with sterile saline to remove the excess photosensitizer [36]. Immediately after rinsing, the diode laser (Therapy – Plus, DMC[®], São Carlos, Brazil) red (wavelength of 660 nm, power 100 mW, spot size 600 μ m and and energy density of 60 J/cm²) and infrared (wavelength of 808 nm, power 2500 mW, spot size 600 μ m and energy density of 140 J/cm²) were applied simultaneously inside the periodontal pocket. The laser was equipped with a probe tip that was placed at the pocket depth and moved circumferentially around the tooth for 1 minute (six site per tooth (mesio-facial, mid-facial, disto-facial, mesiolingual, mid-lingual, and disto-lingual) for 10s) (Figure 1G) [36]. In the control group, only the diode laser (Therapy – Plus, DMC[®], São Carlos, Brazil) red (wavelength of 660 nm, power 100 mW, spot size 600 μ m and and energy density of 60 J/cm²) and infrared (wavelength of 808 nm, power 2500 mW, spot size 600 μ m and energy density of 140 J/cm²) were applied simultaneously inside the periodontal pocket after the FMD protocol. Finally, the patients were instructed to rinse 2x daily with 0.12% chlorhexidine for 15 days After 7 days of the procedure, the subgingival irrigation of all pockets (3x in 10 min) with 1% chlorhexidine gel was repeated (Figure 1H).

Clinical Measurements

Clinical findings were taken on six sites (mesio-facial, mid-facial, disto-facial, mesiolingual, mid-lingual, and disto-lingual) of each tooth included in the analysis at the baseline visit (immediately before the therapies), 4 and 12 weeks after the therapies by an experienced masked periodontist (AENF) who was not involved in the treatment phase. All parameters were measured using a UNC-15 periodontal probe (Hu-Friedy, Chicago, IL, USA). The following clinical parameters were evaluated: gingival level (GL; measured from cemento-enamel junction to free gingival margin), PD (measured from free gingival margin to the bottom of periodontal pocket), CAL (measured from the bottom of periodontal pocket to the cemento-enamel junction) and BOP. BOP was determined in terms of the presence (+) or absence (–) of bleeding during the 15s after the first probe insertion in the pocket.

Statistical analysis

The periodontal clinical parameters data including BOP positive sites, PD, CAL and GL were submitted to the Shapiro-Wilk normality test, which confirmed the adherence of the data to the central distribution theorem in relation to BOP, PD and CAL and rejected this adherence to the GL parameter. Regarding BOP, PD and CAL analysis, the comparison between the groups was performed using the t-paired test while the comparison within each group in the different experimental periods was performed using the ANOVA parametric test for repeated samples supplemented by the Tukey test. Regarding the GL analysis, the comparison between the groups was performed using the Wilcoxon test, whereas the comparison within each group, varying the experimental periods, was performed by applying the non-parametric Friedman test complemented by the Dunn test. The GraphPad Prism 6 software (San Diego, CA, USA) was used for statistical analysis of this study and all statistical tests were applied at a significance level of 5%.

RESULTS

No patients were excluded from the study. Thus, the sample was composed of 14 women and 9 men, totaling 20 patients with a mean age of 52.30 (\pm 9.43). In relation to PD, a significant reduction was observed between the baseline and after 90 days of treatment for both groups (Control: 2.96 \pm 0.90 (Baseline), 3.00 \pm 0.91 (30 days) and 1.81 \pm 0.50 (90 days) ; Test: 2.62 \pm 0.38 (Baseline), 2.52 \pm 0.53 (30 days) and 1.97 \pm 0.67 (90 days)) (Figure 2). In addition, in the control group, a significant reduction was also observed between the

periods of 30 and 90 days. Similarly, a significant reduction in BOP was observed between baseline and after 30 and 90 days of treatment for both groups (Control: 20.30 ± 11.38 (Baseline), 7.90 ± 8.36 (30 days) and 2.00 ± 3.26 (90 days); Test: 18.80 ± 11.25 (Baseline); 8.65 ± 9.76 (30 days) and 4.15 ± 4.73 (90 days)) (Figure 3). On the other hand, no significant difference between the groups and periods analyzed for GL parameter (Control: $0.80 (0.63) \pm 0.68$ (Baseline); $0.80 (0.62) \pm 0.57$ (30 days) and $0.99 (0.89) \pm 0.68$ (90 days); : $1.33 (1.00) \hat{A} \pm 1.11$ (Baseline), $1.33 (1.03) \hat{A} \pm 0.86$ (30 days) and $1.13 (0.90) \hat{A} \pm 1.07$ (90 days)) (Figure 4). For CAL, a minimal but gradual decrease of the CAL was observed over the periods in both groups, however, with no statistical difference between them (Control: 3.74 ± 1.31 (Baseline), 3.83 ± 1.28 (30 days) and 2.78 ± 0.88 (90 days) Test 3.35 ± 0.93 (Baseline) 3.60 ± 1.17 (30 days) and 3.05 ± 1.33 (90 days)) (Figure 5).

DISCUSSION

The aim of this study was compare the use of aPDT or LLLT as an adjunct to one-stage full-mouth disinfection protocol in single-rooted teeth using a split-mouth design. The split-mouth design was used in this study to eliminate intersubject variance that is a challenging in parallel design even with perfect matching [37]. A smaller sample size is also required to achieve equal test power in split-mouth design facilitating its execution [38]. In addition, the both therapies tested in this study were applied only in single-rooted teeth aiming at eliminated tooth related factors that may interfere in the tissue healing process during non-surgical periodontal treatment [39]. Its known that periodontal pockets in multi-rooted teeth with/without furcation involvements responded less favorably to SRP than pockets at non-molar teeth [40].

To the best of our knowledge, no published study has evaluated the use of aPDT or LLLT associated with OSFMD protocol. The OSFMD was proposed by Quirynen et al. [41] aiming at periopathogens suppression in a very short time span from all oropharyngeal habitats (mucous membranes, tongue, tonsils, saliva). In this protocol, the completion of all debridement within a short time frame was recommended together with the use of a strong antiseptic. In this way, the OSFMD can prevent/retard a cross-contamination of the treated periodontal pockets by bacteria from untreated habitats. Fang et al. [42] in a sistematic review with meta-analysis showed that OSFMD provides modest additional clinical benefits over perform scaling and root planing according to jaw quadrant in PS reduction and CAL gain. Moreover, less time was required to complete treatment in OSFMD protocol

increasing patient acceptance to the non-surgical periodontal treatment. Based on these advantages, the OSFMD protocol, including the application of chlorhexidine to all oral habitats, was used in this study to performed the non-surgical periodontal treatment.

The results of the present study showed improvements in BOP and PD after both treatments, but there was no difference between aPDT or LLLT groups in any of the clinical parameters assessed. Its suggested that the use of photosensitizer liquid (0.005% methylene blue dye) did not seem to promote additional gains in clinical periodontal parameters in regard to LLLT use alone. The results showed by Teymouri et al. [43] support the results obtained in this study, showing an improvement in the three treatment groups (aPDT, LLLT and SRP alone) in PS and CAL clinical parameters without statistically significant differences in intergroup analysis. Moreover, LLLT and aPDT significantly decreased the BOP average in comparison to SRP alone but without differences between them. Additionally, various clinical studies [8,35,44,20] did not find any statistically significant benefit in PD and CAL changes, favoring the group submitted to SRP with aPDT in comparison to SRP alone. The effects SRP alone in the treatment of periodontitis have been well documented and include clinical inflammation reduction, PD reduction, clinical attachment gain and microbial shifts to a less pathogenic subgingival flora [45,46].

On the other hand, others studies evaluating the aPDT efficiency as an adjuvant to SRP have shown greater PD reductions and significant clinical insertion gains compared to SRP alone in periodontitis treatment [39,47,5]. In fact, Campos et al. [39] during residual pockets treatment in single-rooted teeth using diode laser with a 660 nm wavelength, 60 mW power, and 129 J/cm² energy density, together with methylene blue as a photosensitizer (10 mg/ml) showed higher PD depth reduction and CAL gain in the aPDT plus SRP group at 3 months in comparison to SRP alone. Furthermore, sites treated by the combined approach resulted in a significant reduction in the number of sites with PD <5 mm without BOP after 3 months compared to sites treated by SRP alone. In a similar approach, Correa et al. [47] showed higher PD depth reduction and CAL gain in the aPDT plus SRP group associated with a statistically significant reduction in the *A.a* levels on the 3rd and 7th days after therapy in comparison to SRP alone. Berakdar et al. [5] compared the aPDT (using diodo laser at a wavelength of 670 nm and a maximum power of 150 mW and 0.005% methylene blue) with SRP alone in initial periodontal treatment and showed that a greater reduction of the PD, achieved by a combination of SRP and aPDT, was statistically significant after six months.

It is probably that these beneficial effects of aPDT as an adjunct to SRP are a result of the photodestructive effects of oxygen-reactive species associated with the modulation of the LLL [1]. These cytotoxic species can damage plasma membranes and DNA, resulting in cell death [8]. Methylene blue, commonly used as a photosensitizer, has a pronounced cationic charge that helps it bind to the Gram-negative bacterial membrane with a high degree of selectivity for killing microorganisms [48]. *In vitro* studies showed complete removal of anaerobic bacteria and a reduction in lipopolysaccharides and protease activity after aPDT [14,15]. Furthermore, clinical studies have shown a reduction in periodontopathogens after aPDT therapy [20,49]. Therefore, the aPDT approach has been indicated in deeper sites that are less accessible for mechanical debridement with more anaerobic microorganisms in comparison to shallow pockets [8]. However, the use of methylene blue in association with red and infrared lasers in a single application does not promote additional periodontal gains in the present study. It is suggested that the short time of exposure to light can be one reason for aPDT's lack of effect in the present study since some authors suggested that multiple aPDT sessions are more effective than a single treatment [1,50,51].

The simultaneous application of red and infrared laser during aPDT proposed in this study aims not only to activate the photosensitizer using the red laser but also to increase tissue repair by the infrared laser action. Curettage with infrared laser guarantees complete removal of the pocket epithelium without tissue necrosis [52]. Moreover, LLLT promotes wound healing by accelerating collagen synthesis, increasing anti-inflammatory cytokine levels, ATP synthesis, and fibroblast proliferation [53]. Aikol et al. [23] evaluated the efficiency of diode laser therapy (808 nm wavelength and 4 J/cm² energy density) as an adjunct to SRP and demonstrated that the LLLT group showed significantly more improvement in sulcus bleeding index (SBI), CAL, and PD levels compared to SRP alone. Similarly, Alzoman et al. [54] observed that diode laser irradiation of diseased periodontal pockets at 685 nm and 1.6 J/cm² promoted statistically significant improvements in gingival index (GI), PD, CAL, and SBI compared to SRP alone. Additionally, the percentage of *P. gingivalis*-positive sites in the LLLT group decreased from 80% (12/15) to 20% (3/15) after laser irradiation, while no significant changes were noted in the SRP alone group. Gündoğar et al. [55] tested multiple LLLT therapy (980-nm wavelength and 7.64 J/cm²) in premolar teeth with deep pockets and also showed that CAL, PD, and GI were significantly lower in the SRP + LLLT group than in the SRP group at the third and sixth months. However, other studies have demonstrated no advantages in the use of LLLT associated with SRP.

[32,56]. A recent meta-analysis concluded that LLLT-mediated SRP demonstrated significant short-term benefits over SRP monotherapy in the improvement of the PD and the level of interleukin-1 β in the gingival crevicular fluid. Nevertheless, LLLT failed to show significant additional intermediate term (3 and 6 months) effects in terms of clinical parameters and alveolar bone density [37].

The present study has some methodological limitations. The conflicting data reported in different clinical trials involving aPDT and LLLT are associated with different laser parameters used in the studies protocol that results in different level of energy density and consequently different degrees of change in the target tissue [56]. Due to the lack of adequate studies, there is no agreement in regard to optimal treatment parameters for laser therapy. Then, we tested in this study the application of red and infrared laser simultaneously to evaluated its efficiency. Moreover, the absence of a SRP alone group and a short time follow up (90 days) were also considered limitations of the present study.

Within the limitations of this study, it may be concluded that aPDT and LLLT therapy promoted improvements in periodontal clinical parameters after OSFMD protocol; however no distinct differences were found between both treatment modalities regarding gain of clinical insertion, the control of inflammation and the elimination of residual pockets.

REFERENCES

1. Theodoro LH, Lopes AB, Nuernberg MAA, Claudio MM, Miessi DMJ, Alves MLF, Duque C, Mombelli A, Garcia VG (2017) Comparison of repeated applications of aPDT with amoxicillin and metronidazole in the treatment of chronic periodontitis: A short-term study. *J Photochem Photobiol B* 174:364-369. doi:10.1016/j.jphotobiol.2017.08.012
2. Haffajee AD, Socransky SS (1994) Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol* 2000 5:78-111
3. Berezow AB, Darveau RP (2011) Microbial shift and periodontitis. *Periodontol* 2000 55 (1):36-47. doi:10.1111/j.1600-0757.2010.00350.x
4. Heitz-Mayfield LJ (2005) Disease progression: identification of high-risk groups and individuals for periodontitis. *J Clin Periodontol* 32 Suppl 6:196-209. doi:10.1111/j.1600-051X.2005.00803.x

5. Berakdar M, Callaway A, Eddin MF, Ross A, Willershausen B (2012) Comparison between scaling-root-planing (SRP) and SRP/photodynamic therapy: six-month study. *Head Face Med* 8:12. doi:10.1186/1746-160X-8-12
6. Cugini MA, Haffajee AD, Smith C, Kent RL, Jr., Socransky SS (2000) The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases: 12-month results. *J Clin Periodontol* 27 (1):30-36
7. Wennstrom JL, Dahlen G, Ramberg P (2011) Subgingival debridement of periodontal pockets by air polishing in comparison with ultrasonic instrumentation during maintenance therapy. *J Clin Periodontol* 38 (9):820-827. doi:10.1111/j.1600-051X.2011.01751.x
8. Ahad A, Lamba AK, Faraz F, Tandon S, Chawla K, Yadav N (2016) Effect of Antimicrobial Photodynamic Therapy as an Adjunct to Nonsurgical Treatment of Deep Periodontal Pockets: A Clinical Study. *J Lasers Med Sci* 7 (4):220-226. doi:10.15171/jlms.2016.39
9. Del Peloso Ribeiro E, Bittencourt S, Sallum EA, Nociti FH, Jr., Goncalves RB, Casati MZ (2008) Periodontal debridement as a therapeutic approach for severe chronic periodontitis: a clinical, microbiological and immunological study. *J Clin Periodontol* 35 (9):789-798. doi:10.1111/j.1600-051X.2008.01292.x
10. Ardila CM, Lopez MA, Guzman IC (2010) High resistance against clindamycin, metronidazole and amoxicillin in *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* isolates of periodontal disease. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 15 (6):e947-951
11. van Winkelhoff AJ, Winkel EG (2009) Antibiotics in periodontics: right or wrong? *J Periodontol* 80 (10):1555-1558. doi:10.1902/jop.2009.090276
12. Azaripour A, Dittrich S, Van Noorden CJF, Willershausen B (2018) Efficacy of photodynamic therapy as adjunct treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *Lasers Med Sci* 33 (2):407-423. doi:10.1007/s10103-017-2383-7
13. Jori G, Fabris C, Soncin M, Ferro S, Coppellotti O, Dei D, Fantetti L, Chiti G, Roncucci G (2006) Photodynamic therapy in the treatment of microbial infections: basic principles and perspective applications. *Lasers Surg Med* 38 (5):468-481. doi:10.1002/lsm.20361
14. Pfitzner A, Sigusch BW, Albrecht V, Glockmann E (2004) Killing of periodontopathogenic bacteria by photodynamic therapy. *J Periodontol* 75 (10):1343-1349. doi:10.1902/jop.2004.75.10.1343
15. Komerik N, Wilson M, Poole S (2000) The effect of photodynamic action on two virulence factors of gram-negative bacteria. *Photochem Photobiol* 72 (5):676-680

16. de Almeida JM, Theodoro LH, Bosco AF, Nagata MJ, Oshiiwa M, Garcia VG (2008) In vivo effect of photodynamic therapy on periodontal bone loss in dental furcations. *J Periodontol* 79 (6):1081-1088. doi:10.1902/jop.2008.070456
17. Qin YL, Luan XL, Bi LJ, Sheng YQ, Zhou CN, Zhang ZG (2008) Comparison of toluidine blue-mediated photodynamic therapy and conventional scaling treatment for periodontitis in rats. *J Periodontol Res* 43 (2):162-167. doi:10.1111/j.1600-0765.2007.01007.x
18. de Almeida JM, Theodoro LH, Bosco AF, Nagata MJ, Oshiiwa M, Garcia VG (2007) Influence of photodynamic therapy on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodontol* 78 (3):566-575. doi:10.1902/jop.2007.060214
19. Alwaeli HA, Al-Khateeb SN, Al-Sadi A (2015) Long-term clinical effect of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in periodontal treatment: a randomized clinical trial. *Lasers Med Sci* 30 (2):801-807. doi:10.1007/s10103-013-1426-y
20. Theodoro LH, Silva SP, Pires JR, Soares GH, Pontes AE, Zuza EP, Spolidorio DM, de Toledo BE, Garcia VG (2012) Clinical and microbiological effects of photodynamic therapy associated with nonsurgical periodontal treatment. A 6-month follow-up. *Lasers Med Sci* 27 (4):687-693. doi:10.1007/s10103-011-0942-x
21. Ge L, Shu R, Li Y, Li C, Luo L, Song Z, Xie Y, Liu D (2011) Adjunctive effect of photodynamic therapy to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis. *Photomed Laser Surg* 29 (1):33-37. doi:10.1089/pho.2009.2727
22. Polansky R, Haas M, Heschl A, Wimmer G (2009) Clinical effectiveness of photodynamic therapy in the treatment of periodontitis. *J Clin Periodontol* 36 (7):575-580
23. Aykol G, Baser U, Maden I, Kazak Z, Onan U, Tanrikulu-Kucuk S, Ademoglu E, Issever H, Yalcin F (2011) The effect of low-level laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment. *J Periodontol* 82 (3):481-488. doi:10.1902/jop.2010.100195
24. Crispino A, Figliuzzi MM, Iovane C, Del Giudice T, Lomanno S, Pacifico D, Fortunato L, Del Giudice R (2015) Effectiveness of a diode laser in addition to non-surgical periodontal therapy: study of intervention. *Ann Stomatol (Roma)* 6 (1):15-20
25. Chambrone L, Ramos UD, Reynolds MA (2018) Infrared lasers for the treatment of moderate to severe periodontitis: An American Academy of Periodontology best evidence review. *J Periodontol* 89 (7):743-765. doi:10.1902/jop.2017.160504
26. Marques MM, Pereira AN, Fujihara NA, Nogueira FN, Eduardo CP (2004) Effect of low-power laser irradiation on protein synthesis and ultrastructure of human gingival fibroblasts. *Lasers Surg Med* 34 (3):260-265. doi:10.1002/lsm.20008

27. Silveira PC, Streck EL, Pinho RA (2007) Evaluation of mitochondrial respiratory chain activity in wound healing by low-level laser therapy. *J Photochem Photobiol B* 86 (3):279-282. doi:10.1016/j.jphotobiol.2006.10.002
28. Cheng Y, Chen JW, Ge MK, Zhou ZY, Yin X, Zou SJ (2016) Efficacy of adjunctive laser in non-surgical periodontal treatment: a systematic review and meta-analysis. *Lasers Med Sci* 31 (1):151-163. doi:10.1007/s10103-015-1795-5
29. Harris DM, Yessik M (2004) Therapeutic ratio quantifies laser antisepsis: ablation of *Porphyromonas gingivalis* with dental lasers. *Lasers Surg Med* 35 (3):206-213. doi:10.1002/lsm.20086
30. Moritz A, Schoop U, Goharkhay K, Schauer P, Doertbudak O, Wernisch J, Sperr W (1998) Treatment of periodontal pockets with a diode laser. *Lasers Surg Med* 22 (5):302-311
31. Caruso U, Natri L, Piccolomini R, d'Ercole S, Mazza C, Guida L (2008) Use of diode laser 980 nm as adjunctive therapy in the treatment of chronic periodontitis. A randomized controlled clinical trial. *New Microbiol* 31 (4):513-518
32. Dukic W, Bago I, Aurer A, Roguljic M (2013) Clinical effectiveness of diode laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a randomized clinical study. *J Periodontol* 84 (8):1111-1117. doi:10.1902/jop.2012.110708
33. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, Mealey BL, Papapanou PN, Sanz M, Tonetti MS (2018) A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Periodontol* 89 Suppl 1:S1-S8. doi:10.1002/JPER.18-0157
34. Bollen CM, Vandekerckhove BN, Papaioannou W, Van Eldere J, Quirynen M (1996) Full- versus partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections. A pilot study: long-term microbiological observations. *J Clin Periodontol* 23 (10):960-970
35. Balata ML, Andrade LP, Santos DB, Cavalcanti AN, Tunes Uda R, Ribeiro Edel P, Bittencourt S (2013) Photodynamic therapy associated with full-mouth ultrasonic debridement in the treatment of severe chronic periodontitis: a randomized-controlled clinical trial. *J Appl Oral Sci* 21 (2):208-214. doi:10.1590/1678-7757201302366
36. Christodoulides N, Nikolidakis D, Chondros P, Becker J, Schwarz F, Rossler R, Sculean A (2008) Photodynamic therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a randomized, controlled clinical trial. *J Periodontol* 79 (9):1638-1644. doi:10.1902/jop.2008.070652

37. Ren C, McGrath C, Jin L, Zhang C, Yang Y (2017) The effectiveness of low-level laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a meta-analysis. *J Periodontal Res* 52 (1):8-20. doi:10.1111/jre.12361
38. Antczak-Bouckoms AA, Tulloch JF, Berkey CS (1990) Split-mouth and cross-over designs in dental research. *J Clin Periodontol* 17 (7 Pt 1):446-453
39. Campos GN, Pimentel SP, Ribeiro FV, Casarin RC, Cirano FR, Saraceni CH, Casati MZ (2013) The adjunctive effect of photodynamic therapy for residual pockets in single-rooted teeth: a randomized controlled clinical trial. *Lasers Med Sci* 28 (1):317-324. doi:10.1007/s10103-012-1159-3
40. Pihlstrom BL, Oliphant TH, McHugh RB (1984) Molar and nonmolar teeth compared over 6 1/2 years following two methods of periodontal therapy. *J Periodontol* 55 (9):499-504. doi:10.1902/jop.1984.55.9.499
41. Quirynen M, Bollen CM, Vandekerckhove BN, Dekeyser C, Papaioannou W, Eysen H (1995) Full- vs. partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections: short-term clinical and microbiological observations. *J Dent Res* 74 (8):1459-1467. doi:10.1177/00220345950740080501
42. Fang H, Han M, Li QL, Cao CY, Xia R, Zhang ZH (2016) Comparison of full-mouth disinfection and quadrant-wise scaling in the treatment of adult chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontal Res* 51 (4):417-430. doi:10.1111/jre.12326
43. Teymouri F, Farhad SZ, Golestaneh H (2016) The Effect of Photodynamic Therapy and Diode Laser as Adjunctive Periodontal Therapy on the Inflammatory Mediators Levels in Gingival Crevicular Fluid and Clinical Periodontal Status. *J Dent (Shiraz)* 17 (3):226-232
44. Mistry A, Pereira R, Kini V, Padhye A (2016) Effect of Combined Therapy Using Diode Laser and Photodynamic Therapy on Levels of IL-17 in Gingival Crevicular Fluid in Patients With Chronic Periodontitis. *J Lasers Med Sci* 7 (4):250-255. doi:10.15171/jlms.2016.44
45. Badersten A, Nilveus R, Egelberg J (1984) Effect of nonsurgical periodontal therapy. II. Severely advanced periodontitis. *J Clin Periodontol* 11 (1):63-76
46. Badersten A, Niveus R, Egelberg J (1987) 4-year observations of basic periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 14 (8):438-444
47. Correa MG, Oliveira DH, Saraceni CH, Ribeiro FV, Pimentel SP, Cirano FR, Casarin RC (2016) Short-term microbiological effects of photodynamic therapy in non-surgical

periodontal treatment of residual pockets: A split-mouth RCT. *Lasers Surg Med* 48 (10):944-950. doi:10.1002/lsm.22449

48. Joseph B, Janam P, Narayanan S, Anil S (2017) Is Antimicrobial Photodynamic Therapy Effective as an Adjunct to Scaling and Root Planing in Patients with Chronic Periodontitis? A Systematic Review. *Biomolecules* 7 (4). doi:10.3390/biom7040079

49. Kolbe MF, Ribeiro FV, Luchesi VH, Casarin RC, Sallum EA, Nociti FH, Jr., Ambrosano GM, Cirano FR, Pimentel SP, Casati MZ (2014) Photodynamic therapy during supportive periodontal care: clinical, microbiologic, immunoinflammatory, and patient-centered performance in a split-mouth randomized clinical trial. *J Periodontol* 85 (8):e277-286. doi:10.1902/jop.2014.130559

50. Muller Campanile VS, Giannopoulou C, Campanile G, Cancela JA, Mombelli A (2015) Single or repeated antimicrobial photodynamic therapy as adjunct to ultrasonic debridement in residual periodontal pockets: clinical, microbiological, and local biological effects. *Lasers Med Sci* 30 (1):27-34. doi:10.1007/s10103-013-1337-y

51. Lulic M, Leiggenger Gorog I, Salvi GE, Ramseier CA, Mattheos N, Lang NP (2009) One-year outcomes of repeated adjunctive photodynamic therapy during periodontal maintenance: a proof-of-principle randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 36 (8):661-666. doi:10.1111/j.1600-051X.2009.01432.x

52. Romanos GE, Henze M, Banihashemi S, Parsanejad HR, Winckler J, Nentwig GH (2004) Removal of epithelium in periodontal pockets following diode (980 nm) laser application in the animal model: an in vitro study. *Photomed Laser Surg* 22 (3):177-183. doi:10.1089/1549541041438597

53. Enwemeka CS, Parker JC, Dowdy DS, Harkness EE, Sanford LE, Woodruff LD (2004) The efficacy of low-power lasers in tissue repair and pain control: a meta-analysis study. *Photomed Laser Surg* 22 (4):323-329. doi:10.1089/pho.2004.22.323

54. Alzoman HA, Diab HM (2016) Effect of gallium aluminium arsenide diode laser therapy on *Porphyromonas gingivalis* in chronic periodontitis: a randomized controlled trial. *Int J Dent Hyg* 14 (4):261-266. doi:10.1111/idh.12169

55. Gundogar H, Senyurt SZ, Erciyas K, Yalim M, Ustun K (2016) The effect of low-level laser therapy on non-surgical periodontal treatment: a randomized controlled, single-blind, split-mouth clinical trial. *Lasers Med Sci* 31 (9):1767-1773. doi:10.1007/s10103-016-2047-z

56. Pamuk F, Lutfioglu M, Aydogdu A, Koyuncuoglu CZ, Cifcibasi E, Badur OS (2017) The effect of low-level laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment on gingival crevicular fluid levels of transforming growth factor-beta 1, tissue plasminogen

activator and plasminogen activator inhibitor 1 in smoking and non-smoking chronic periodontitis patients: A split-mouth, randomized control study. *J Periodontal Res* 52 (5):872-882. doi:10.1111/jre.12457

Legends

Figure 1: Therapy sequence in test group. A: Initial probing depth in the mesial of 21 tooth; B-D: Scaling and root planing using low speed diamond tips; E: Subgingival irrigation with 1% chlorhexidine gel; F: Photosensitizer liquid (0.005% methylene blue dye) application in the pocket using a blunt needle; G: Diode laser application in the depth of the pocket using a probe tip; H: Clinical aspect after 7 days of the clinical procedure.

Figure 2: Mean and standard deviation data of the probing depth of all groups and evaluation periods. **p <0.01; ***p <0.001 - Anova test for repeated samples complemented by the Tukey test.

Figure 3: Mean and standard deviation data of the number of sites with bleeding on probing in all groups and evaluation periods. **p <0.01; ***p <0.001 - Anova test for repeated samples complemented by the Tukey test.

Figure 4: Data from the median and quartiles 1 and 3 in a box-type plot of the gingival margin level in all groups and evaluation periods.

Figure 5: Mean and standard deviation data of the clinical level of insertion in all groups and evaluation periods.

ANEXO A

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALFENAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: UTILIZAÇÃO DE TERAPIA FOTODINÂMICA E LASERTERAPIA NO TRATAMENTO DE PERIODONTITE CRÔNICA: ESTUDO CLÍNICO

Pesquisador: Noé Vital Ribeiro Júnior

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 77385417.0.0000.5142

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS - UNIFAL-MG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.668.654

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de mestrado, de financiamento próprio e sem conflito de interesse.

Objetivo da Pesquisa:

"O objetivo desse estudo é avaliar o efeito da combinação da terapia fotodinâmica antimicrobiana e da laserterapia de baixa potência em complemento ao protocolo de desinfecção de boca toda no tratamento de periodontite crônica."

Os objetivos são claros, bem definidos, coerentes com a propositura geral do projeto e exequíveis.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

- a. os riscos de execução do projeto são bem avaliados, realmente necessários e estão bem descritos no formulário de informações básicas e no TCLE. Encontram-se descritos no corpo do projeto.
- b. os benefícios oriundos da execução do projeto justificam os riscos corridos;
- c. Foi apresentada medida minimizadora/corretiva para os riscos descritos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

- a. Metodologia da pesquisa – adequada aos objetivos do projeto e atualizada.
- b. Referencial teórico da pesquisa – atualizado e suficiente para aquilo que se propõe.
- c. Cronograma de execução da pesquisa – coerente com os objetivos propostos e adequado ao tempo de tramitação do projeto.

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700

Bairro: centro

CEP: 37.130-001

UF: MG

Município: ALFENAS

Telefone: (35)3701-9153

Fax: (35)3701-9153

E-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALFENAS**



Continuação do Parecer: 2.668.654

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- a. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) – Presente e adequado.
- b. Termo de Assentimento (TA) – Não se aplica.
- c. Termo de Assentimento Esclarecido (TAE) – Não se aplica.
- d. Termo de Compromisso para Utilização de Dados e Prontuários (TCUD) – presente e adequado.
- e. Termo de Anuência Institucional (TAI) – Presente e adequado.
- f. Folha de rosto - Presente e adequada.
- g. Projeto de pesquisa completo e detalhado - Presente e adequado.

Recomendações:

Não há

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Recomendação de aprovação do projeto.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado do CEP acata o parecer do relator.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_P ROJETO_1003370.pdf	10/04/2018 08:58:48		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_modificado.doc	10/04/2018 08:54:51	Noé Vital Ribeiro Júnior	Aceito
Outros	TCUD2.jpg	03/04/2018 13:57:00	Noé Vital Ribeiro Júnior	Aceito
Outros	TCUD1.jpg	03/04/2018 11:00:26	Noé Vital Ribeiro Júnior	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	28/03/2018 15:01:43	Noé Vital Ribeiro Júnior	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	25/09/2017 10:57:39	Noé Vital Ribeiro Júnior	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	doc2509.pdf	25/09/2017 10:52:48	Noé Vital Ribeiro Júnior	Aceito

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700
 Bairro: centro CEP: 37.130-001
 UF: MG Município: ALFENAS
 Telefone: (35)3701-9153 Fax: (35)3701-9153 E-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALFENAS



Continuação do Parecer: 2.668.654

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ALFENAS, 22 de Maio de 2018

Assinado por:

Murilo César do Nascimento
(Coordenador)

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700

Bairro: centro

CEP: 37.130-001

UF: MG

Município: ALFENAS

Telefone: (35)3701-9153

Fax: (35)3701-9153

E-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br

ANEXO B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado (a) a participar, como voluntário(a), da pesquisa – UTILIZAÇÃO DE TERAPIA FOTODINÂMICA E LASERTERAPIA NO TRATAMENTO DE PERIODONTITE CRÔNICA: ESTUDO CLÍNICO, no caso de você concordar em participar, favor assinar ao final do documento. Sua participação não é obrigatória, e, a qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador (a) ou com a instituição. Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e endereço do pesquisador (a) principal, podendo tirar dúvidas do projeto e de sua participação.

TÍTULO DA PESQUISA: UTILIZAÇÃO DE TERAPIA FOTODINÂMICA E LASERTERAPIA NO TRATAMENTO DE PERIODONTITE CRÔNICA: ESTUDO CLÍNICO

PESQUISADOR (A) RESPONSÁVEL: Prof. Dr. Noé Vital Ribeiro Junior

PESQUISADORA PARTICIPANTE: Mestranda Alice Engel Naves Freire

ENDEREÇO: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 – Centro – Alfenas/MG

TELEFONE: (35) 3701-9416

OBJETIVOS: O objetivo desse estudo é avaliar o efeito da combinação de dois tratamentos utilizando o laser, chamados de terapia fotodinâmica antimicrobiana e de laserterapia de baixa potência, associados ao tratamento convencional utilizado para tratar a periodontite crônica. A periodontite crônica é uma doença inflamatória dos tecidos de suporte dos dentes, causada por microrganismos, resultando em uma destruição progressiva desses tecidos e do osso que suporta os dentes.

JUSTIFICATIVA: Uma grande parte da população é acometida pela periodontite crônica e os tratamentos convencionais possuem certas limitações como resistência bacteriana pelo uso sistêmico de antibiótico e a limitação ao acesso a certas regiões de dentes para realizar a desinfecção. Sendo assim mais estudos e tratamentos alternativos se fazem necessários. Assim, este projeto se propõe a avaliar se o tratamento convencional combinado à laserterapia de baixa potência e terapia fotodinâmica antimicrobiana podem melhorar os aspectos da doença.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO: Será realizada raspagem em todos os dentes com anestesia local, em seguida, será realizada a terapia fotodinâmica, utilizando a aplicação de um corante nos tecidos ao redor dos dentes e aplicação do laser. Após essa terapia, será aplicado somente o laser nos tecidos ao redor dos dentes. Os pacientes serão avaliados antes do tratamento e 7, 15, 30 e 90 dias após o término do tratamento.

RISCOS E DESCONFORTOS: Os riscos e desconfortos que podem ocorrer são: dor durante a realização de anestesia local, e hematomas provenientes da aplicação de anestésico local. Sobre o tratamento convencional de raspagem dos dentes, a gengiva pode se apresentar um pouco avermelhada, dolorosa e com sangramento espontâneo logo após a realização do procedimento, mas esses sinais tendem a regredir em poucos dias. Sobre os tratamentos com o laser, não há riscos e desconfortos. Para minimizar o possível trauma causado pelo tratamento periodontal convencional, será feita a aplicação de Laser de Baixa Intensidade, para diminuir a dor e a inflamação após tratamento.

BENEFÍCIOS: Os pacientes serão beneficiados com o tratamento periodontal, com o objetivo de eliminar a periodontite crônica. O laser pode trazer muitos benefícios adicionais, como redução da dor pós-tratamento, reparo mais rápido, diminuição da inflamação, eliminação das bactérias mais eficiente, contribuindo para a resolução da doença de forma mais eficaz.

CUSTO/REEMBOLSO PARA O PARTICIPANTE: Não haverá nenhum gasto com sua participação. As consultas, exames, tratamentos serão totalmente gratuitos, não recebendo nenhuma cobrança com o que será realizado. Você também não receberá nenhum pagamento com a sua participação.

CONFIDENCIALIDADE DA PESQUISA: os pesquisadores garantem o sigilo que assegure a privacidade dos participantes quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa, os dados que possam identificar os participantes não serão divulgados.

Assinatura do Pesquisador Responsável:

Eu, _____, declaro que li as informações contidas nesse documento, fui devidamente informado(a) pelo pesquisador – Prof. Dr. Noé Vital Ribeiro Junior – dos procedimentos que serão utilizados,

riscos e desconfortos, benefícios, custo/reembolso dos participantes, confidencialidade da pesquisa, concordando ainda em participar da pesquisa.

Foi-me garantido que posso retirar o consentimento a qualquer momento, sem qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/assistência/tratamento. Declaro ainda que recebi uma cópia desse Termo de Consentimento.

Poderei consultar o pesquisador responsável (acima identificado) ou o CEP-UNIFAL-MG, com endereço na Universidade Federal de Alfenas, Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, Centro, Cep - 37130-000, Fone: (35) 3299-1318, no e-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br sempre que entender necessário obter informações ou esclarecimentos sobre o projeto de pesquisa e minha participação no mesmo.

Os resultados obtidos durante este estudo serão mantidos em sigilo, mas concordo que sejam divulgados em publicações científicas, desde que meus dados pessoais não sejam mencionados.

Alfenas, ____ de _____ de 20__.

(Nome por extenso)

(Assinatura)

(NOME E ASSINATURA DO SUJEITO OU RESPONSÁVEL (se menor de 21 anos))