

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



LUCIANA MACHION
CIRURGIÃ DENTISTA

**AVALIAÇÃO CLÍNICA DA ASSOCIAÇÃO DE UM SISTEMA DE
LIBERAÇÃO LOCAL DE DOXICICLINA À INSTRUMENTAÇÃO
PERIODONTAL EM PACIENTES FUMANTES**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Clínica Odontológica, Área de Periodontia.

Piracicaba

- 2003 -

LUCIANA MACHION

CIRURGIÁ DENTISTA

**AVALIAÇÃO CLÍNICA DA ASSOCIAÇÃO DE UM SISTEMA DE
LIBERAÇÃO LOCAL DE DOXICICLINA À INSTRUMENTAÇÃO
PERIODONTAL EM PACIENTES FUMANTES**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Clínica Odontológica, Área de Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Enilson Antonio Sallum

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Roberto Lotufo

Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati

Suplente:

Prof. Dr. Sérgio de Toledo

Piracicaba

- 2003 -

Ficha Catalográfica

M184a Machion, Luciana.
Avaliação clínica da associação de um sistema de liberação local de doxiciclina à instrumentação periodontal em pacientes fumantes. / Luciana Machion. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2003.
xii, 48f. : il.

Orientador : Prof. Dr. Enilson Antonio Sallum.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Periodontia. 2. Antibióticos. 3. Tratamento. 4. Doença periodontal. I. Sallum, Enilson Antonio. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.

Folha de aprovação

DEDICATÓRIA

Aos meus pais **Pedro e Ana**, a quem devo a história do meu crescimento profissional e moral, dedico este trabalho com todo o meu amor e carinho.

Aos meus irmãos **Daniel e Márcio**, que me trouxeram a oportunidade de crescer e conviver ao redor de pessoas maravilhosas.

A todos da minha família que apoiaram a minha escolha profissional e acreditaram nos meus ideais.

À querida **Denise**, pelo essencial auxílio na realização deste trabalho, pela paciência, boa vontade e pela agradável companhia durante este período.

Ao **Renato**, pela agradável convivência, por todo o carinho e paciência e pela evolução pessoal que me proporciona a cada dia.

Aos meus **pacientes**, os grandes pilares deste trabalho, a quem dedico a minha busca por respostas.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pela oportunidade de passar pela divina experiência da vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. **Enilson Antonio Sallum**, por ter acreditado no meu potencial, oferecendo-me a oportunidade de fazer parte da valiosa vida acadêmica e por ter transmitido, ao longo dos anos, seu imenso conhecimento científico, através da invejável tranquilidade com que trabalha a “ciência da vida”.

Ao Prof. Dr. **Francisco Humberto Nociti Junior**, pelo seu incansável questionamento da ciência, responsável pelo meu inicial interesse pela Periodontia e pela vida acadêmica e por ter sido grande motivador da minha busca por respostas.

Ao Prof. Dr. **Márcio Zaffalon Casati**, pelo auxílio inicial neste trabalho científico e pelo exemplo do jovem e estimulante caráter profissional.

Ao Prof. Dr. **Antonio Wilson Sallum**, por ter transmitido sua enorme experiência de vida profissional e moral, ensinando-nos, não somente o valor da ciência e da saúde, como o grande valor do ser humano.

Ao Prof. Dr. **Sérgio de Toledo**, pelo exemplo de vida profissional e incansável contribuição para a vida acadêmica.

Ao Prof. Dr. **Antonio Fernando Martorelli de Lima**, pelo conhecimento clínico e científico transmitido ao longo da minha vida acadêmica.

À Universidade Estadual de Campinas (**Unicamp**), nas pessoas do Magnífico Reitor Prof. Dr. **Carlos Henrique de Brito Cruz**, e Vice Reitor Prof. Dr. **José Tadeu Jorge**.

À Direção da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, nas pessoas do Digníssimo Diretor Prof. Dr. **Thales Rocha de Mattos Filho** e Vice Diretor **Oslei Paes de Almeida**.

Ao Prof. Dr. **Lourenço Correr Sobrinho**, Coordenador Geral dos Cursos de Pós-Graduação da FOP-UNICAMP e à Profa. Dra. **Brenda Paula F. A. Gomes**, Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Clínica Odontológica.

À Prof. Dra. **Gláucia Maria Bovi Ambrosano** e ao pós-graduando **André Reis** pelo auxílio na realização da parte estatística deste trabalho

À Fundação de amparo à pesquisa do estado de São Paulo (**FAPESP**), pelo apoio financeiro fornecido para a realização deste trabalho durante o curso de mestrado.

Ao querido tutor científico e grande amigo **Getúlio**, por todo o incentivo e auxílio na vida científica desde o segundo ano de graduação, em especial na elaboração deste trabalho científico, e por ter sido grande motivador da minha carreira acadêmica.

À querida **Eliete**, secretária da Área de Periodontia, pela amizade, agradável convivência, auxílio e imensurável paciência para com todos os alunos da pós-graduação.

Aos grandes companheiros e amigos de mestrado **Antonieta, Ângela, Bruno César, Cristina, Fernando, João, Juliana, Patricia, Poliana, Renato, Robert e Suzana**, pelo companheirismo, pela harmoniosa divisão de responsabilidades e pela oportunidade de grande crescimento científico através do trabalho em conjunto.

Às queridas **Patrícia e Poliana**, companheiras de moradia, pela paciência, pelo apoio de todas as horas, pela divisão de responsabilidades e por todos os ótimos momentos de convivência.

À **Ivana**, pelo auxílio nas inesgotáveis triagens de pacientes.

Aos amigos **Bruno e Marcelo**, pelo constante auxílio nas atividades da pós-graduação.

Às queridas “**Cida**” e “**Lídia**”, secretárias da clínica de especialização, pela enorme boa vontade e colaboração no manejo e atendimento de pacientes.

A todos os funcionários desta instituição, que possibilitaram meu trabalho e minha convivência em um ambiente sempre muito agradável.

A todos os meus amigos de graduação e pós-graduação, que estiveram ao meu lado durante esta etapa, tornando nossa jornada muito mais agradável.

A todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram para a conclusão deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	6
2.1. Antimicrobianos na Terapia Periodontal	6
2.2. Antimicrobianos Sistêmicos x Antimicrobianos Locais	7
2.3. Antimicrobianos Locais	8
2.4. Dispositivos de Liberação Sustentada e Controlada	9
2.5. Doxiciclina	11
2.5.1. Gel de Doxiciclina – Aplicação Local	11
2.5.2. Concentrações da Doxiciclina	12
2.5.3. Aspectos microbiológicos	13
2.6. Estudos Clínicos	13
3. PROSIÇÃO	17
4. MATERIAL E MÉTODOS	18
4.1. Seleção da Amostra	18
4.2. Preparo Inicial	19
4.3. Parâmetros Clínicos e Períodos de Observação	19
4.4. Sondagem Periodontal	20
4.5. Tratamentos	21
4.6. Forma de Análise dos Resultados	24
5. RESULTADOS	25
5.1. Índice de Placa	26
5.2. Sangramento à Sondagem	26
5.3. Recessão Gengival	27
5.4. Profundidade de Sondagem	28
5.5. Nível de Inserção Clínica Relativo	32
6. DISCUSSÃO	34
7. CONCLUSÕES	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
ANEXOS	48

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a efetividade da associação de liberação local de doxiciclina (ATRIDOX[®]) à raspagem e alisamento radicular no tratamento periodontal de fumantes. Foram selecionados 43 pacientes fumantes, portadores da doença periodontal crônica, apresentando mínimo de 4 bolsas periodontais ($\leq 5\text{mm}$) com sangramento à sondagem em dentes anteriores. Os pacientes foram divididos aleatoriamente em 2 grupos: RAR = Raspagem e alisamento radicular; e RAR-D = raspagem e alisamento radicular seguida de aplicação de doxiciclina. Índice de placa, sangramento à sondagem, recessão gengival, nível de inserção clínica relativo (NICr) e profundidade de sondagem (PS) foram avaliados nos períodos inicial, 45 dias, 3 e 6 meses. O teste *t* de Student demonstrou valores iniciais similares para ambos os grupos em todos os parâmetros ($p > 0,05$). Aos 6 meses, redução de placa e sangramento à sondagem, bem como aumento da recessão gengival foram similares entre si ($p > 0,05$). A média de redução em PS foi de $2,17 \pm 0,93\text{mm}$ para RAR-D e $1,76 \pm 0,63\text{mm}$ para RAR ($p = 0,1$). Ganho em NICr foi maior para RAR-D ($1,63 \pm 0,93\text{mm}$) do que para RAR ($1,04 \pm 0,71\text{mm}$) ($p = 0,025$). Em bolsas profundas ($\geq 7\text{mm}$), RAR-D mostrou maior redução em PS do que RAR ($3,78 \times 2,60\text{mm}$, $p = 0,006$) e em NICr ($2,54 \times 1,29\text{mm}$, $p < 0,0001$). Além disso, a proporção de sítios que apresentaram redução em PS $\geq 2\text{mm}$ foi de 64% para RAR-D e 51% para RAR ($p < 0,01$). Quanto ao ganho em NIC, esta proporção foi de 38% para RAR-D e 31% para RAR ($p < 0,001$). Portanto, a utilização da liberação local de doxiciclina associada à raspagem e alisamento radicular pode trazer benefícios adicionais para o tratamento de bolsas periodontais em fumantes.

ABSTRACT

The aim of this study was to clinically evaluate the association of locally delivered doxycycline (ATRIDOX™) with scaling and root planing in the periodontal treatment of smokers. This study involved 43 patients with chronic periodontitis, presenting a minimum of 4 pockets (≥ 5 mm) that bled on probing on anterior teeth. Patients were randomly divided in two groups: scaling and root planing (SRP) and scaling and root planing followed by application of doxycycline (SRP-D). Plaque, bleeding on probing, gingival recession, relative attachment level (RAL) and probing depth (PD) were recorded at baseline, 45 days, 3 and 6 months. Student *t* test showed similar baseline values for both groups in all parameters ($p > 0,05$). At 6 months, plaque, bleeding reduction and gingival recession were similar between groups ($p > 0,05$). Mean PD reduction was $2,17 \pm 0,93$ mm for SRP-D and $1,76 \pm 0,63$ mm for SRP ($p = 0,1$). RAL gain was greater for SRP-D ($1,63 \pm 0,93$ mm) than for SRP ($1,04 \pm 0,71$ mm) ($p = 0,025$). In deep pockets (≥ 7 mm), SRP-D showed greater values in PD reduction than SRP (3,78 versus 2,60mm, $p = 0,006$) and in RAL gain (2,54 versus 1,29mm, $p < 0,0001$). Also, proportion of sites showing ≥ 2 mm PD reduction was 64% and 51% for SRP-D and SRP, respectively ($p < 0,01$). As for RAL gain, this proportion was 38% and 31% for SRP-D and SRP, respectively ($p < 0,001$). Therefore, the use of locally delivered doxycycline associated with scaling and root planing provides additional benefits for the treatment of periodontal pockets in smokers.

1. INTRODUÇÃO

O objetivo primordial da terapia periodontal constitui na alteração da microbiota subgengival presente nos sítios comprometidos pela doença periodontal, uma vez que a presença destes microorganismos pode resultar na destruição progressiva do periodonto (GARRETT *et al.*, 1999). Para atingir este objetivo, vários métodos de tratamento têm sido estudados.

Sabe-se que a raspagem e alisamento radicular são mecanismos eficazes no combate à doença periodontal (KALDAHL *et al.*, 1988). Entretanto, a preocupação com a eliminação de patógenos gram negativos do interior das bolsas periodontais tem conduzido estudos a respeito do uso de antimicrobianos no tratamento da doença periodontal. Assim, métodos auxiliares têm sido estudados objetivando resultados ainda mais satisfatórios ao final da terapia periodontal. Dentre estes métodos, a utilização de agentes antimicrobianos têm sido indicada, tanto sistemicamente quanto localmente, coadjuvando o tratamento mecânico (WENNSTRÖM, 1987; CIANCIO, 1998; van STEENBERGHE *et al.*, 1999).

A aplicação local de agentes antimicrobianos no interior de bolsas periodontais tem apresentado resultados satisfatórios (STOLLER *et al.*, 1998). A substância permanece em ação no local por maior tempo, em maiores concentrações, e a probabilidade de ocorrência de efeitos colaterais, freqüentemente associados com a medicação sistêmica, diminui (GOLUB *et al.*, 1994; WENNSTRÖM, 1997; van STEENBERGHE *et al.*, 1999).

A concepção atual da liberação de drogas subgengivalmente está classificada na literatura como sistemas de liberação sustentada e controlada. O sistema de liberação sustentada promove a liberação do fármaco por um período de menos de 24 horas, enquanto que o sistema de liberação controlada o faz por um período maior que 24 horas (LANGER & PEPPAS, 1981; LANGER, 1990). Recentemente, o hclato de doxiciclina tem sido utilizado como antimicrobiano local no tratamento da doença periodontal. Este antimicrobiano é utilizado na

forma de gel, em um sistema de liberação controlada, o qual mantém a droga no sítio de ação em quantidade acima da concentração inibitória mínima (MIC₉₀) para inibição de patógenos periodontais, por um período de 7 a 10 dias (STOLLER *et al.*, 1998). Estudos recentes têm indicado a utilização local deste gel antimicrobiano como forma definitiva de tratamento, eliminando o procedimento de raspagem e alisamento radicular, e apresentando resultados efetivos no combate à doença periodontal (POLSON *et al.*, 1997; GARRETT *et al.*, 1999).

Recentemente, WENNSTRÖM *et al* (2001) avaliaram o efeito adjunto deste medicamento local após instrumentação supra e subgingival através de ultra-som e verificaram benefícios adicionais deste tratamento quando comparado à raspagem e alisamento convencional, aos três meses.

Sabe-se que o tratamento periodontal de pacientes fumantes é comprometido por diversas alterações vasculares e celulares que acometem estes hospedeiros (KALDAHL *et al*, 1996). Entretanto, o efeito de antimicrobianos locais no tratamento periodontal de pacientes fumantes tem sido pouco estudado. KINANE & RADVAR (1997) avaliaram o efeito do fumo no tratamento da doença periodontal utilizando raspagem e alisamento radicular associada ou não a três antimicrobianos locais. Foi constatado neste estudo que, independente do tratamento proposto, os pacientes fumantes apresentaram piores resultados.

RYDER *et al.* (1999) não verificaram diferenças entre o tratamento local com doxiciclina e a terapia mecânica convencional em pacientes fumantes. Além disso, quando comparados aos pacientes não-fumantes, os resultados foram similares quando os grupos receberam tratamento local com doxiciclina, indicando um possível benefício na utilização do antimicrobiano local na terapia destes pacientes.

Portanto, parece haver um benefício adicional da terapia mecânica associada a doxiciclina local, porém este efeito ainda não foi comprovado na literatura, sobretudo no tratamento de pacientes fumantes, os quais respondem de maneira desfavorável ao tratamento convencional.

Logo, o objetivo deste trabalho é avaliar a ação de um gel contendo hiclato de doxiciclina (ATRIDOX¹), aplicado subgengivalmente, associado à raspagem e alisamento radicular em comparação à terapia mecânica convencional em pacientes fumantes.

¹ ATRIDOX, Collagenex, Ft Collings, CO

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Antimicrobianos na Terapia Periodontal

Clássicos experimentos demonstraram que o acúmulo de biofilme dental nas superfícies dentárias induz uma resposta inflamatória nos tecidos gengivais adjacentes e que a remoção deste biofilme resulta no desaparecimento dos sinais clínicos da inflamação (LÖE *et al.*, 1965; THEILADE *et al.*, 1966).

A remoção mecânica regular do biofilme das superfícies dentárias é considerada a medida primária para prevenir e estancar a progressão da doença periodontal. O tratamento mecânico da superfície dentária consiste na remoção do biofilme dental, cálculo, cemento contaminado, tecido de granulação e porção coronal do epitélio juncional, removendo dessas superfícies fatores que provocam ou modificam a doença periodontal (ADRIAENS *et al.*, 1988). Em geral, a doença periodontal pode ser tratada com sucesso através de raspagem e alisamento radicular e os resultados da terapia podem ser mantidos por um período prolongado de tempo por métodos de higiene oral meticulosos e regulares (KALDAHL *et al.*, 1988; COBB, 1996).

No entanto, estudos longitudinais têm indicado que alguns indivíduos que passaram por tratamento periodontal não-cirúrgico (raspagem e alisamento radicular) e que se encontravam sob tratamento periodontal de suporte apresentavam doença recorrente ou refratária em alguns sítios (LANG *et al.*, 1996, SERINO *et al.*, 2001). As razões que explicam esta recorrência da doença ou não resposta efetiva de alguns sítios não são claras, porém pode-se sugerir a inclusão de alguns fatores como controle de placa não-adequado, neoformação de placa subgengival e incompleta remoção da microbiota subgengival durante a fase inicial de tratamento (ROSLING *et al.*, 2001).

A terapia mecânica periodontal reduz a quantidade total de bactérias supra e subgengivais encontradas nos sítios comprometidos, porém observações feitas em diversos estudos demonstram que a completa remoção do biofilme e de depósitos de cálculo subgengivais é rara e que depósitos residuais são

freqüentes, principalmente em sítios profundos (WALKER & ASH, 1976, CAFFESSE *et al.*, 1986). Além disso, certos patógenos permanecem nos sítios tratados devido a sua habilidade de invadir os tecidos periodontais (CHRISTERSSON *et al.*, 1987) ou devido à sua localização em sítios inacessíveis pela instrumentação periodontal não-cirúrgica. A permanência de certas bactérias, como o *A. actinomycetemcomitans*, após terapia periodontal mecânica, tem sido relatada (MOMBELLI *et al.*, 1994b, 1994a), principalmente em bolsas profundas sangrantes e altas taxas de *T.denticola* também foram encontradas em sítios que não responderam ao tratamento mecânico inicial (SIMONSON *et al.*, 1992).

Estes achados têm suportado o uso de agentes antimicrobianos, tanto locais quanto sistêmicos, na terapia periodontal, associado à instrumentação mecânica, podendo suprimir ou reduzir significativamente a quantidade de patógenos periodontais e dessa forma, trazer benefícios adicionais à terapia mecânica convencional (RAMS & SLOTS, 1996).

2.2. Antimicrobianos sistêmicos x Antimicrobianos Locais

O uso de antibióticos sistêmicos foi preconizado como forma de terapia adjunta à raspagem e alisamento radicular. Entretanto, algumas desvantagens são observadas na sua utilização. Em uma revisão sobre a utilização de antibióticos sistêmicos e locais, SLOTS & RAMS (1990) relataram como desvantagens da via sistêmica: efeitos colaterais adversos geralmente associados ao uso de medicamentos sistêmicos; a aplicação de drogas sistêmicas requer a cooperação do paciente; a via local de aplicação permite o alcance de concentrações subgingivais de drogas antimicrobianas até 100 vezes maiores do que as atingidas com drogas via sistêmica (STOLLER *et al.*, 1998; GOODSON *et al.*, 1985); e a via local permite a utilização de alguns antimicrobianos que não podem ser utilizados sistemicamente. Assim, o interesse pelo conhecimento e avaliação

da efetividade de drogas locais vem conduzindo estudos envolvendo diferentes dispositivos de aplicação e agentes antimicrobianos.

2.3. Antimicrobianos Locais

As substâncias antimicrobianas locais têm sido preconizadas no tratamento da doença periodontal com o intuito de combater os efeitos indesejáveis dos agentes sistêmicos e promover ação antibacteriana em concentrações desejáveis nos sítios comprometidos pela doença.

Inicialmente, estas substâncias foram utilizadas como irrigantes subgingivais, aplicadas tanto pelo profissional como pelo próprio paciente. A clorexidina foi uma das substâncias estudadas como adjunto à terapia periodontal, administrada em dose única ou em repetidas doses pós-terapia mecânica (MaCALPINE *et al.*, 1985; WENNSTROM *et al.*, 1987). Embora ROSLING *et al.* (2001) tenham encontrado efeitos benéficos no uso adjunto do iodo-povidine, os irrigantes, em geral, não têm demonstrado benefícios adicionais à terapia mecânica convencional. Este fato pode ser atribuído à incapacidade destes agentes em manter concentrações efetivas da droga no local de ação por tempo suficiente. Esta redução na concentração dos agentes irrigantes no ambiente subgingival é atribuída à constante renovação do fluido crevicular. GOODSON *et al.* (1989) demonstrou que, numa bolsa periodontal de aproximadamente 5mm de profundidade, a troca de fluido crevicular é feita cerca de 40 vezes por hora. Estes autores estimaram que a meia vida de um agente farmacológico no sulco gengival é de aproximadamente 1 minuto. Assim, um importante fator a ser considerado no tratamento com drogas locais é o tempo de contato da droga com a microbiota subgingival (SOLSKONE *et al.*, 1997). Portanto, para atividade efetiva de uma droga aplicada localmente, é necessário um sistema de liberação lenta da mesma, proporcionando concentrações acima da concentração inibitória mínima para a inativação de patógenos periodontais, por adequado período de tempo.

2.4. Dispositivos de liberação local sustentada e controlada

Os dispositivos de liberação local de drogas estão classificados na literatura como sistemas de liberação sustentada e controlada. O sistema de liberação sustentada promove a liberação do fármaco por um período de menos de 24 horas, enquanto que o sistema de liberação controlada o faz por um período maior que 24 horas (LANGER & PEPPAS, 1981; LANGER, 1990).

GOODSON *et al.*, em 1979, foram os primeiros a avaliar a efetividade da tetraciclina em dispositivo de liberação local e controlada. Estes autores utilizaram fibras ocas não reabsorvíveis e preenchidas com tetraciclina, aplicadas subgingivalmente, e verificaram efeitos sobre a microbiota subgingival e nos sinais clínicos da doença com uma dose 1/1000 da dose sistêmica usual. Em estudo posterior (GOODSON *et al.*, 1985), com o aperfeiçoamento do dispositivo utilizado (fibras de acetato de vinil-etileno contendo 25% de tetraciclina), os autores observaram uma concentração de 643 $\mu\text{m/ml}$ por um período de 10 dias e uma maior redução na contagem de espiroquetas e bastonetes do que no grupo controle (raspagem e alisamento radicular). Estudos multi-cêntricos vieram então confirmar a efetividade deste sistema de liberação controlada através de redução nos níveis de sangramento à sondagem, profundidade de sondagem e ganhos em inserção clínica maiores do que os obtidos no grupo de raspagem e alisamento radicular (GOODSON *et al.*, 1991, NEWMAN *et al.*, 1994).

GOODSON *et al.* (1985) então definiram as características que um sistema de liberação local deve possuir para ser efetivo e clinicamente útil na terapia periodontal: (1) o dispositivo deve liberar a droga na base da bolsa periodontal; (2) o dispositivo deve liberar a droga em concentrações microbiologicamente efetivas; e (3) o dispositivo deve manter uma concentração efetiva da droga no interior da bolsa periodontal por um período de tempo suficiente. GREENSTEIN & POLSON, em 1998, adicionaram ainda outras características desejáveis para estes dispositivos: facilidade de aplicação, retenção pós-aplicação e biodegradabilidade, além do custo do produto, que também deve ser considerado.

Após os estudos iniciais com tetraciclina e a verificação da efetividade do sistema de liberação lenta e controlada, outros agentes antimicrobianos foram pesquisados em diferentes sistemas de liberação lenta e local.

Em 1984, ADDY & LANGEROUDI estudaram o metronidazol e a clorexidina em tiras de metilmetacrilato e verificaram a efetividade deste dispositivo, marcadamente com o uso do metronidazol, na redução da microbiota subgengival; STOLTZE (1992) demonstrou a efetividade desta droga em gel a 25%, hoje comercialmente disponível no mercado Europeu (Elysol²). Estes autores demonstraram liberação de altas concentrações da droga em questão nas primeiras 24-36 horas. Sua efetividade clínica como monoterapia foi demonstrada por AINAMO *et al.*, em 1992. Já outros autores (STELZEL & FLORES-DE-JACOBY, 1997) reportaram benefícios adicionais à raspagem e alisamento radicular quando do uso adjunto deste gel.

Outro agente antimicrobiano de ação local largamente estudado é a clorexidina. Sob forma de liberação controlada, através de um chip (Periochip³), tem demonstrado alguns resultados benéficos como terapia adjunta à raspagem e alisamento radicular (JEFFCOAT *et al.*, 1998).

A minociclina também tem sido estudada como agente antimicrobiano local e tem apresentado resultados satisfatórios em dispositivo de liberação sustentada, sob forma de gel (Dentomycine⁴), e mais recentemente controlada, através de microesferas (Arestin⁵). Os primeiros estudos com a minociclina foram desenvolvidos no Japão, ao final da década de 80 e demonstraram que a aplicação da pomada de minociclina proporcionava diminuição no número de bactérias e mudanças favoráveis na composição bacteriana subgengival, associadas a melhores condições clínicas (ISOSHIMA *et al.*, 1987). No entanto, os resultados dos estudos clínicos com esta droga são controversos. Trabalhos como o de JONES *et al.* (1994) demonstram superioridade do tratamento adjunto com

² ElysolTM, Dumex, Copenhagen, Denmark

³ PeriochipTM, Peno Products Ltd., Jerusalem, Israel

⁴ DentomycineTM, Lederle, UK.

⁵ ArestinTM, Orapharma, Inc., PA, USA

minociclina no primeiro mês pós-operatório. Já em outros estudos (GRAÇA *et al.*, 1997; VAN STEENBERGHE *et al.*, 1999), verifica-se um benefício adicional da terapia adjunta de minociclina, seja esta sob a forma de gel, pomada ou microesferas.

2.5. Doxiciclina

A doxiciclina é um antibiótico derivado da tetraciclina, e como esta, apresenta algumas vantagens em relação a outros antibióticos.

As tetraciclinas possuem ação efetiva contra patógenos anaeróbios associados à doença periodontal (LISTGARTEN *et al.*, 1978); apresentam substantividade às superfícies de dentina e cimento (BAKER *et al.*, 1983; MORRISON *et al.*, 1992), sendo liberadas, após sua absorção, em concentrações bacteriostáticas (BAKER *et al.*, 1983; CHRISTERSSON *et al.*, 1993); dificultam a aderência da película adquirida e a conseqüente formação do biofilme subgingival (BJORVATN *et al.*, 1985); e removem a smear layer, causando desmineralização da superfície radicular (MORRISON *et al.*, 1992). Recentemente, GOLUB *et al.* (1994) demonstraram que a doxiciclina, aplicada via sistêmica e em baixas concentrações, possui propriedades não-antibacterianas, porém têm a capacidade de inibir metaloproteinases em tecido gengival humano inflamado. Em estudo clínico, quando associada ao tratamento mecânico convencional, demonstrou efetividade na redução dos parâmetros clínicos avaliados e na inibição da atividade colagenolítica (CROUT *et al.*, 1996).

2.5.1. Gel de Doxiciclina – aplicação local

O hiclato de doxiciclina tem sido recentemente utilizado no tratamento da doença periodontal, como terapia local, e tem apresentado resultados satisfatórios

(GARRETT *et al.*, 1999, 2000, WENNSTROM *et al.*, 2001). Este medicamento já está comercialmente disponível nos Estados Unidos (Atridox⁶).

A aplicação local da doxiciclina é feita através de um dispositivo de liberação controlada, composto por duas seringas: uma delas, contendo o hclato de doxiciclina a 8,5% e a outra, veículo, contendo 37% de poli-DL-lactídeo, dissolvido em 63% de NMP (N-metil-2-pirrolidona)⁵. As duas seringas são acopladas e seus conteúdos misturados, de forma a obter-se um gel homogêneo, de coloração amarelada. O gel, em contato com o fluido crevicular, se solidifica e é reabsorvido em um período de 7 a 10 dias (POLSON *et al.*, 1997).

2.5.2. Concentrações da Doxiciclina

Para que a droga local exerça sua ação, é necessária uma concentração inibitória mínima para que atinja os patógenos periodontais, e que esta se mantenha por um período adequado no sítio de ação. Patógenos periodontais apresentam susceptibilidade a concentrações de 0,1 a 2.0 µg/ml de doxiciclina (SLOTS & RAMS, 1990). STOLLER *et al.*, em 1998, estudaram as concentrações encontradas no fluido crevicular, após aplicação local de doxiciclina a 8,5%. Os autores encontraram uma concentração de 1493µg/ml (700 vezes maior que a concentração inibitória mínima) no fluido crevicular em 2 horas. Esta concentração permanecia alta (acima de 1000µg/ml) após 18 horas, e caía para 309µg/ml ao sétimo dia, sendo esta última concentração ainda 150 vezes maior que a concentração inibitória mínima. A concentração mais alta deste medicamento encontrada na saliva foi de 8,78µg/ml em 2 horas e caiu para menos de 2µg/ml ao final do dia. As concentrações séricas não excederam 0,1µg/ml. Além disso, CIANCIO *et al.*, em 1992, detectaram concentrações de tetraciclina de 1 a 20µm no interior da parede mole de papila excisionada após 8 dias da aplicação local de fibras.

⁶ AtridoxTM, Collagenex, Ft Collings, CO

2.5.3. Aspectos microbiológicos

A liberação local e controlada de agentes antimicrobianos proporciona supressão significativa de patógenos periodontais, sem contudo eliminá-los completamente. GOODSON *et al*, 1985, em um estudo com liberação local e controlada de tetraciclina, demonstraram que 85% dos sítios tratados apresentavam contagem de menos de 10.000 espiroquetas, o que é considerado similar a zero. Estes resultados se mantiveram por nove meses.

Apesar de 12% da microbiota normal apresentar resistência às tetraciclinas (LACROIX & WALKER, 1995), a terapia local com doxiciclina reduz significativamente os níveis de bactérias subgingivais anaeróbias e com isso, proporciona aumentos transitórios na proporção de microorganismos resistentes, porém não em número total de microorganismos (WALKER *et al.*, 2000, LARSEN *et al*, 1991). A maior parte dos estudos com doxiciclina tem revelado atividade anti-proteinases, em específico anti-colagenases deste medicamento (GRENIER *et al*, 2002; RAWAL & RAWAL, 2001).

2.6. Estudos clínicos

Estudos recentes têm indicado a utilização local do gel de doxiciclina como forma isolada de tratamento, sem estar associado ao procedimento de raspagem e alisamento radicular, apresentando resultados efetivos no combate à doença periodontal.

O primeiro estudo que demonstrou a efetividade e biocompatibilidade do dispositivo de liberação local de doxiciclina foi o estudo em animais de POLSON *et al.*, em 1996. Estes autores avaliaram o efeito do gel contendo hiclato de doxiciclina a 8,5%, como terapia isolada, em periodontite experimental em cães. Foram encontradas reduções médias de 2.5mm para profundidade de sondagem

e 2mm em ganho de inserção clínica ao final de 4 meses de avaliação. Este estudo foi o precursor para os estudos clínicos conseguintes.

POLSON *et al.*, em 1997, realizaram assim, o primeiro estudo clínico em humanos com este sistema de liberação local. Neste estudo, os autores verificaram maior efetividade do gel de doxicilina quando comparado à sanguinarina 5% ou veículo controle (50% DL-lactídeo e 50% NMP), aplicados isoladamente, quanto à profundidade de sondagem e nível de inserção clínica. Este estudo demonstrou a efetividade clínica na aplicação deste gel, o que trouxe o interesse sobre sua utilização.

Comparando esta mesma terapia local com a raspagem e alisamento radicular, GARRETT *et al.*, em 1999, em estudo multi-cêntrico, verificaram que o gel de doxiciclina, aplicado isoladamente, apresentou resultados similares à terapia mecânica convencional e superiores ao veículo controle e higiene oral, quanto aos ganhos em profundidade de sondagem e nível de inserção clínica. Estes resultados seguiram um acompanhamento de nove meses e a aplicação do gel, bem como a instrumentação periodontal, foram feitas inicialmente e após 4 meses. Os pacientes tratados neste estudo não receberam terapia mecânica inicial.

Já em estudo subsequente destes mesmos autores (GARRETT *et al.*, 2000) verificou-se a ação do gel de doxiciclina em pacientes sob terapia de manutenção, portadores da doença periodontal refratária. O mesmo protocolo do estudo de 1999 foi utilizado. Os resultados demonstraram que a terapia isolada com o gel de doxiciclina foi novamente similar à terapia mecânica convencional e estes resultados se mantiveram por 9 meses.

O efeito de antimicrobianos locais no tratamento periodontal de pacientes fumantes tem sido pouco estudado, embora vários estudos tenham reportado respostas desfavoráveis destes pacientes frente ao tratamento periodontal não-cirúrgico (Ah *et al.*, 1994; KALDAHL *et al.*, 1996).

KINANE & RADVAR (1997) avaliaram o efeito do fumo no tratamento da doença periodontal utilizando raspagem e alisamento radicular associada ou não a

três antimicrobianos locais (fibras de tetraciclina, gel de minociclina e gel de metronidazol). Foi constatado neste estudo que, independente do tratamento proposto, os pacientes fumantes apresentaram piores resultados. Uma comparação detalhada dos tratamentos propostos entre estes grupos foi feita previamente por RADVAR *et al.* (1996), os quais encontraram melhores resultados com o tratamento local e adjunto com fibras de tetraciclina.

PALMER *et al.*, em 1999, também avaliaram o efeito de metronidazol sistêmico e local como adjuntos ao tratamento periodontal de pacientes fumantes e não-fumantes em comparação com o tratamento mecânico convencional e não encontraram diferenças entre os tratamentos em ambos os grupos, apenas diferenças entre os grupos de fumantes e não-fumantes em alguns parâmetros.

RYDER *et al.*, em 1999 dividiram os pacientes do estudo prévio (GARRETT *et al.*, 1999) em três grupos: pacientes fumantes, ex-fumantes e não-fumantes. Os resultados demonstraram que, dos pacientes que receberam tratamento mecânico convencional, os não-fumantes apresentaram os melhores resultados quanto ao ganho de inserção clínica e diminuição da profundidade de sondagem. Porém, dos pacientes que receberam aplicação local de doxiciclina, não houve diferença entre os três grupos. Pode-se concluir, através deste estudo, que os pacientes fumantes responderam de maneira similar a pacientes não-fumantes sob tratamento local com doxiciclina.

Recentemente, WENNSTROM *et al.* (2001), em outro estudo multi-cêntrico, avaliaram a ação desta terapia local associada à raspagem e alisamento radicular ou associada ao debridamento mecânico por meio de ultra-som. Estes autores encontraram reduções nos parâmetros clínicos significativamente maiores para o grupo debridamento+doxiciclina aos 3 meses. Porém, aos 6 meses, foi encontrada somente maior redução em sangramento à sondagem para este mesmo grupo. Os autores concluíram que a forma simplificada de tratamento mecânico (debridamento com ultra-som) associada à terapia local com doxiciclina pode ser considerada uma abordagem terapêutica mais prática, já que o tempo clínico para a conclusão da mesma é menor.

A literatura mostra que o método de liberação local de antibióticos parece ser efetivo no combate à doença periodontal, uma vez que proporciona concentrações efetivas da droga no sítio de ação por maior período de tempo; é efetivo quanto à supressão de microorganismos subgingivais; e promove ganhos nos níveis de inserção e redução da profundidade de sondagem em estudos clínicos.

Entretanto, somente um estudo avaliou a associação deste gel à raspagem e alisamento radicular. Espera-se que esta associação traga resultados ainda mais satisfatórios, uma vez que a desorganização do biofilme e a remoção de cálculo, como fator retentor de biofilme, pode resultar em uma maior difusão e efetividade da droga contra as bactérias subgingivais.

Através do uso local do gel de doxiciclina, pacientes fumantes respondem similarmente à pacientes não-fumantes, como demonstrado por RYDER *et al.* (1999). Portanto, a terapia local parece ser um recurso adjunto viável para o tratamento de pacientes fumantes, uma vez que estes respondem de maneira desfavorável à terapia mecânica convencional (KALDAHL *et al.*, 1996).

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a efetividade do uso local do gel de doxiciclina, associado à raspagem e alisamento radicular, no tratamento periodontal de pacientes fumantes, com o intuito de se detectar vantagens no uso de um recurso terapêutico adicional para a obtenção de resultados mais favoráveis no tratamento destes pacientes.

3. PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a efetividade da associação da raspagem e alisamento radicular ao gel contendo hclato de doxiciclina (ATRIDOX[®]) em comparação à raspagem isoladamente, no tratamento periodontal de bolsas moderadas e profundas de pacientes fumantes.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Seleção da Amostra

Dentre os pacientes que procuraram tratamento nas clínicas de Graduação e Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, foram selecionados 43 pacientes, utilizando-se dos seguintes critérios de inclusão:

- Pacientes portadores de periodontite crônica verificada pela presença de bolsas periodontais verdadeiras e perda óssea detectada por exame radiográfico;
- Presença de bolsas periodontais com profundidade de sondagem igual ou maior que 5mm, com sangramento à sondagem, situadas em dentes anteriores superiores ou inferiores;
- Ausência de alteração periapical ou pulpar, detectada através de exame radiográfico e teste de vitalidade;
- Ausência de alterações sistêmicas que pudessem influenciar a resposta ao tratamento periodontal;
- Não usuários de medicamentos que possam influenciar a resposta ao tratamento periodontal;
- Ausência de tratamento periodontal incluindo instrumentação subgengival nos 6 meses anteriores ao estudo;
- Pacientes fumantes, definidos pelo fumo de 10 ou mais cigarros por dia;
- Consentimento formal para a participação na pesquisa, após a explicação dos riscos e benefícios por indivíduo não envolvido na mesma. (Resolução nº 196 de outubro de 1996 e o Código de Ética Profissional Odontológico (C.F.O.) 179/93).

Este trabalho foi previamente aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, sob protocolo de número 028/2001.

4.2. Preparo Inicial

Todos os pacientes foram instruídos sobre as causas e conseqüências da doença periodontal bem como sobre técnicas de prevenção, incluindo técnica de escovação sulcular e uso de fio dental. Os fatores de retenção de placa supragengivais foram removidos nas visitas iniciais. Para tanto, instrumento ultrassônico foi utilizado para remoção de cálculo supragengival e o fechamento de cavidades foi feito através de material restaurador provisório.

Após uma semana do preparo inicial, os pacientes foram submetidos às avaliações clínicas e subsequente tratamento.

4.3. Parâmetros Clínicos e Períodos de Observação

Os seguintes parâmetros clínicos foram avaliados por um único examinador, previamente calibrado:

- Índice de Placa (IP) (Ainamo & Bay, 1975): avaliação da presença ou ausência de placa visível, em seis sítios por dente;
- Sangramento à sondagem (SS) (Mühlemann & Son, 1971): avaliação da presença ou ausência de sangramento até 15 segundos após a sondagem, em seis sítios por dente, no sextante selecionado para a pesquisa;
- Profundidade de Sondagem (PS): ver tópico 4.4;
- Recessão Gengival (RG): ver tópico 4.4;
- Nível de Inserção Clínica relativa (NICr): relativo a um guia de sondagem (ver tópico 4.4).

Os parâmetros foram analisados nos seguintes períodos:

- Uma semana após o preparo inicial, antes do tratamento
- 45 dias após o tratamento

- 3 meses após o tratamento
- 6 meses após o tratamento

Todos os pacientes foram acompanhados mensalmente para controle de placa.

4.4. Sondagem Periodontal

Todos os parâmetros clínicos foram armazenados em programa computadorizado (Florida Probe⁷). Os parâmetros PS, RG e NICr foram obtidos com o uso de sondas eletrônicas, conectadas ao microcomputador. Os parâmetros PS e RG foram obtidos através da sonda “*pocket*” (Florida pocket probe[®]) (figura 1a e 1b). Dados de sangramento à sondagem e placa, quando detectados visualmente, eram armazenados na ficha periodontal do programa Florida Probe, em computador.

A mensuração do parâmetro NICr foi feita com o auxílio de um guia de sondagem e com a sonda “*stent*” (Florida stent probe[®]). Para a confecção deste guia, todos os pacientes foram submetidos à moldagem do sextante selecionado para a pesquisa, através de moldeiras parciais e alginato. Assim, o modelo em gesso pedra da região anterior foi obtido e sobre este foi pressionada uma placa circunferencial de poliéster tereftalato (PET-G)⁸, de 1.5mm de espessura, sob aquecimento, através de um plastificador à vácuo. Após o resfriamento da placa sobre o modelo, esta foi cortada e desgastada a fim de se obter uma cobertura de 2/3 da coroa dentária por vestibular e palatina, de canino a canino. Sobre o guia, foram confeccionados nichos para o posicionamento da sonda “*stent*”, através de desgaste com a broca diamantada 1035 (KG Sorensen), como mostram as figuras 2a e 2b.

⁷ Florida Probe[®], Florida Probe Corporation, Gainesville, FL

⁸ Placas Cristal[®], Bioart, São Carlos, SP

A avaliação dos parâmetros clínicos foi realizada por um único examinador, o qual foi previamente calibrado para o uso das sondas (*pocket e stent*) através de medições repetidas de PS, RG e NICr e obtenção de valores de correlação de Pearson e teste *t* de tudent entre estas.

4.5. Tratamentos

Os pacientes foram aleatoriamente sorteados para compor um dos dois grupos de tratamento:

- **Grupo Teste (RAR-D):** Instrumentação periodontal não cirúrgica seguida de aplicação do sistema de liberação local de doxiciclina.
- **Grupo Controle (RAR):** Instrumentação periodontal não cirúrgica seguida de irrigação com soro fisiológico.

Os tratamentos teste e controle foram sempre realizados pelo mesmo operador, diferente do examinador que avaliou os parâmetros clínicos. O operador somente tinha conhecimento do grupo ao qual o paciente pertencia após a realização da instrumentação periodontal.

- **Instrumentação Periodontal** (grupo RAR-D e RAR): A instrumentação foi realizada através de curetas de Gracey (5-6) (figura 4a) até a obtenção de uma superfície lisa ao explorador, de acordo com o critério do operador.
- **Aplicação do gel** (grupo RAR-D): Fez-se de acordo com o preconizado pelo fabricante: acoplamento das duas seringas, uma contendo 50mg de hclato de doxiciclina e a outra contendo 450 mg do gel de liberação (37% de poli-DL-lactídeo dissolvido em 63% de N-metil-2-pirrolidona); os conteúdos são misturados até a obtenção de uma mistura homogênea (figura 3); inserção da agulha até o fundo da bolsa; aplicação do gel até extravasamento do mesmo (figura 4b); inserção do material excedente através de espátula (figura 4c). Os pacientes pertencentes a este grupo foram instruídos a não realizar higiene interdental nos sítios tratados com o gel por um período de 7 dias para evitar sua remoção (POLSON *et al.*, 1997; GARRETT *et al.*, 1999,2000).

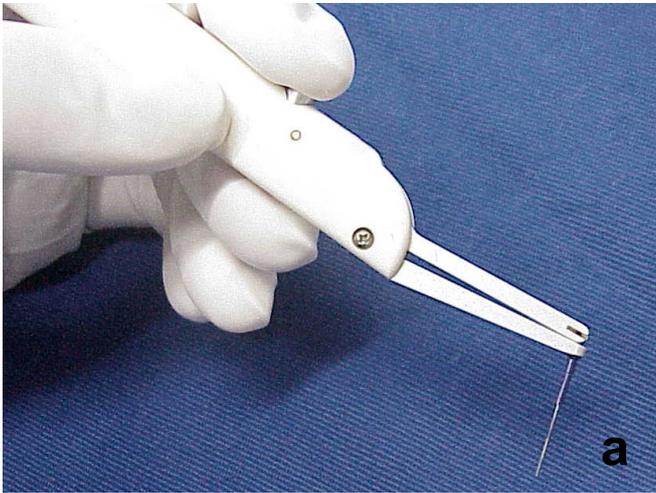


Figura 1: Sonda Pocket (Florida pocket probe[®]) (fig a); mensuração de PS (fig b).

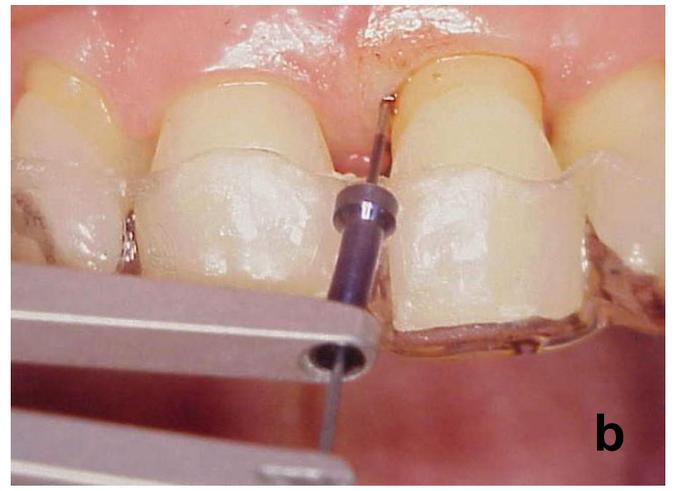


Figura 2: Confeção do nicho no guia de sondagem (fig a) e mensurações de NICr com a sonda Stent (Florida stent probe[®]) em posição (fig b).



Figura 3: mistura dos conteúdos das duas seringas, uma contendo o sistema de liberação (esquerda) e a outra contendo hclato de doxiciclina (direita).

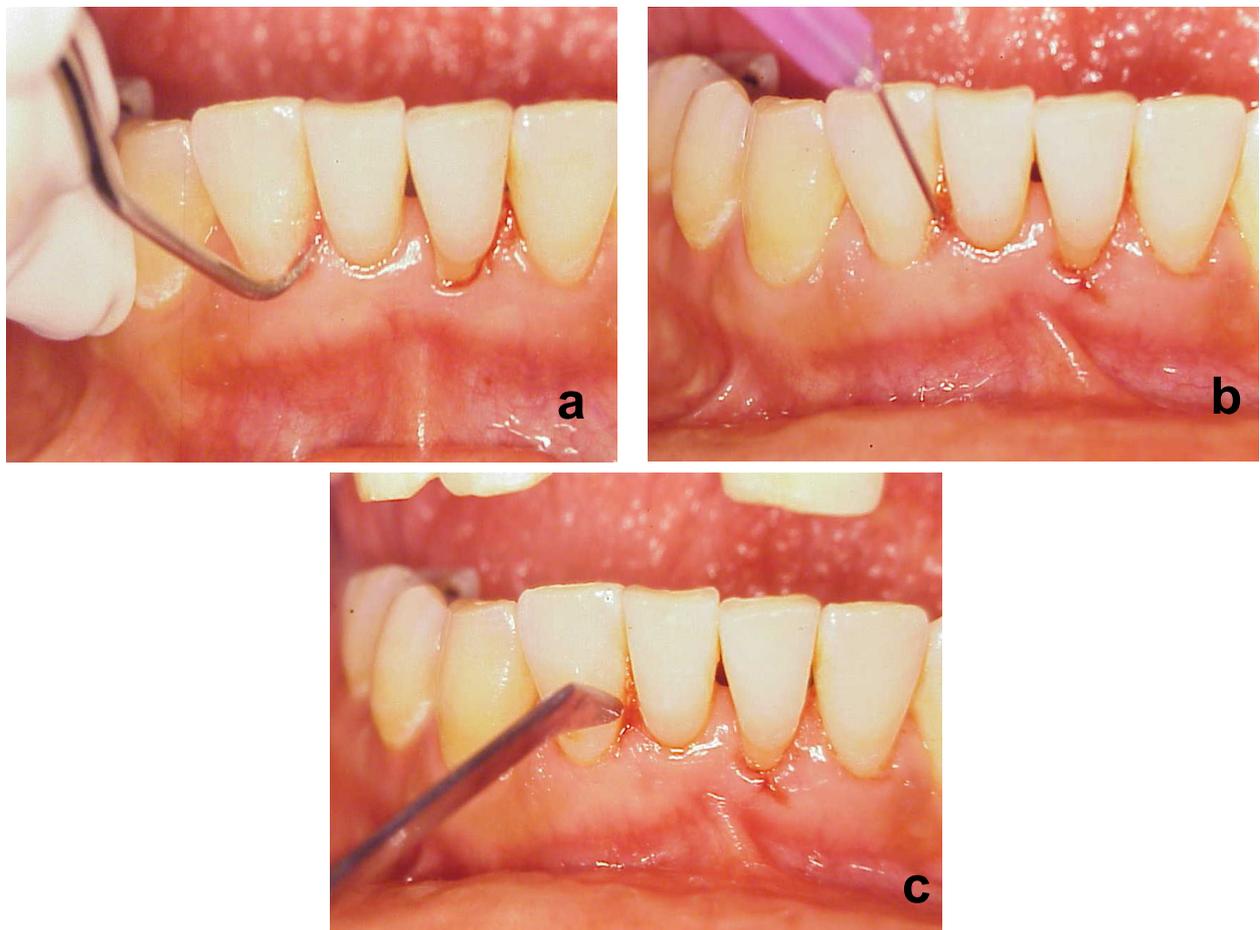


Figura 4: grupo RAR-D: raspagem e alisamento radicular (fig a); aplicação do gel de doxiciclina até seu extravasamento (fig b); colocação do gel excedente com espátula 1 (fig c)

Após os tratamentos, todos os pacientes foram instruídos a não realizar higiene interdental na região instrumentada por uma semana e utilizar digluconato de clorexidina 0,12%, 2 vezes ao dia, por duas semanas.

Os tratamentos foram realizados uma única vez durante os 6 meses de avaliação. Os sítios que apresentaram progressão na perda de inserção superior a 2mm, em quaisquer dos períodos avaliados, foram excluídos do experimento e receberam novo procedimento de raspagem e alisamento radicular. O delineamento do estudo foi paralelo, ao acaso, cego, permitindo a obtenção de dois grupos de 22 pacientes para o grupo RAR-D e 21 para o grupo RAR.

4.6. Forma de análise dos resultados

Foram calculadas médias para os valores obtidos de cada parâmetro para cada paciente nos diferentes períodos de avaliação e posteriormente a média para o grupo. O teste *t* de Student pareado foi utilizado para verificar as diferenças intra-grupos, entre os diversos períodos de avaliação, comparados ao período inicial. Já o teste *t* de Student não pareado foi utilizado para verificar as diferenças entre os grupos nas médias iniciais e nas médias de redução (diferenças entre períodos inicial e demais períodos) para todos os parâmetros. As diferenças entre os grupos também foram avaliadas considerando bolsas moderadas (5 a 6mm) e profundas (≥ 7 mm). Além disso, foram calculadas as porcentagens de sítios que apresentaram ganho em PS e NICr maior que 2mm, de 1 a 2mm e que apresentaram perda de 1 a 2mm para os dois grupos. Estes valores foram submetidas ao teste exato de Fischer para detectar as diferenças entre os grupos ($\alpha = 0,05$).

RESULTADOS

Foram tratados um total de 43 pacientes, sendo 22 pertencentes ao grupo teste (RAR-D) e 21 ao grupo controle (RAR). Um total de 19 homens e 24 mulheres participaram do estudo, distribuídos de forma homogênea entre os grupos. A média de idade destes pacientes foi de $40,45 \pm 4,47$ anos para o grupo RAR-D e de $42,00 \pm 4,38$ anos para o grupo RAR.

No grupo controle foram tratados um total de 189 sítios, sendo 152 de profundidade moderada (5 a 6mm) e 33 sítios profundos (≥ 7 mm). No grupo teste, foram tratados 110 sítios, sendo 87 de profundidade moderada e 25 profundos. Dos sítios tratados, foram excluídos um total de 3 sítios no grupo controle e 1 sítio do grupo teste por apresentarem perda de inserção maior ou igual a 2mm.

A calibração prévia do examinador através de teste *t* de Student demonstrou valores similares ($p > 0,05$) e correlação de Pearson significativa ($p < 0,0001$) para as mensurações duplicadas de RG, PS e NICr ($r = 0,61, 0,75$ e $0,91$, respectivamente).

O teste *t* de Student demonstrou que não houve diferenças entre os grupos RAR e RAR-D quanto aos parâmetros PS, RG, IPL e SS no período inicial ($p > 0,05$). Os níveis de inserção iniciais não foram comparados entre os grupos, por serem relativos a um guia de sondagem, de dimensões diferentes para cada paciente.

As análises intra-grupos, pelo teste *t*, demonstraram que ambos os grupos apresentaram ganhos em PS e NICr e redução em IPL e SS significativos em todos os períodos analisados ($p < 0,05$).

As análises inter-grupos nos diferentes tempos serão feitas separadamente, de acordo com cada parâmetro analisado.

5.1. Índice de placa (IPL)

Ambos os grupos apresentaram redução significativa nos índices de placa aos 6 meses. O grupo RAR-D apresentou uma redução média de 21% aos 6 meses ($p < 0,001$), enquanto que no grupo RAR, esta redução foi de 19% ($p < 0,001$). O teste *t* de Student não demonstrou diferença significativa entre estes valores ($p = 0,79$). O gráfico 1 apresenta os valores médios de percentagem nos índices de placa dos pacientes de ambos os grupos nos diversos períodos de avaliação.

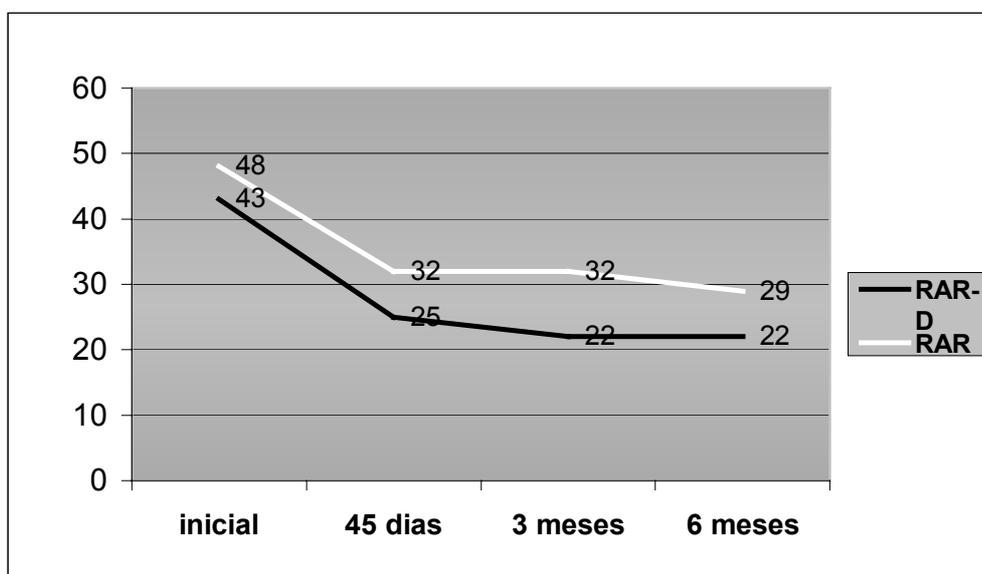


Gráfico 1: Porcentagem de placa presente nos diversos períodos avaliados para os grupos teste (RAR-D) e controle (RAR).

5.2. Sangramento à sondagem

Ambos os grupos apresentaram redução significativa de sangramento à sondagem aos 6 meses ($p < 0,0001$). O grupo RAR-D apresentou uma redução

média de sangramento de 37% aos 6 meses, enquanto que para o grupo RAR, esta redução foi de 36%. O teste *t* de Student não demonstrou diferença significativa entre estes valores ($p=0,92$). O gráfico 2 apresenta os valores médios de porcentagem de sangramento à sondagem dos pacientes de ambos os grupos nos diversos períodos de avaliação.

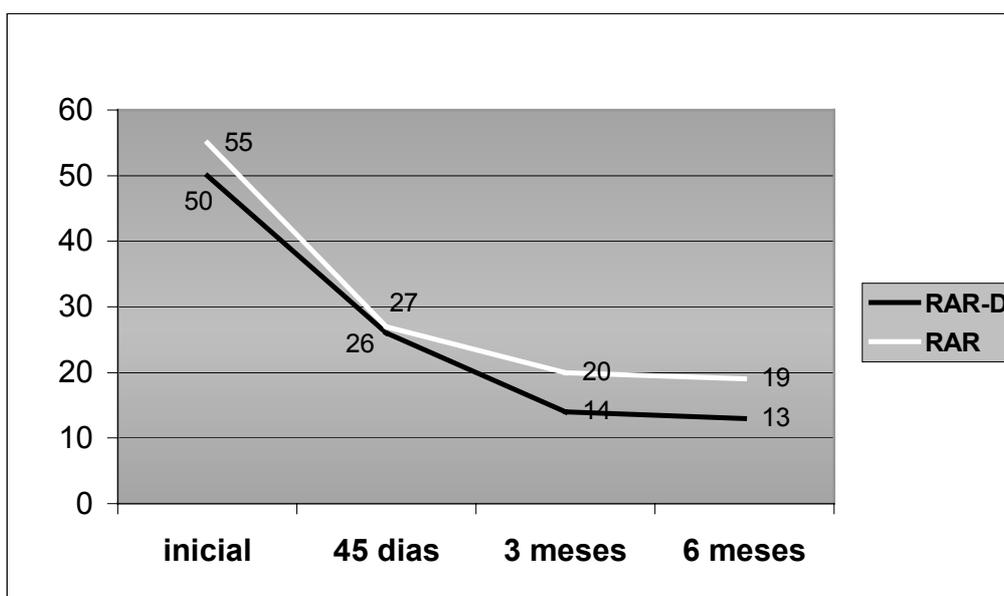


Gráfico 2: Porcentagem de sangramento à sondagem presente nos diversos períodos avaliados para os grupos teste (RAR-D) e controle (RAR).

5.3. Recessão Gengival

Ambos os grupos avaliados apresentaram aumento no grau de recessão gengival significativos ($p<0,0001$). A avaliação entre grupos não demonstrou diferenças entre estes valores, que foram de $0,43 \pm 0,46$ mm para o grupo RAR-D e $0,46 \pm 0,38$ mm para o grupo RAR, ao final de 6 meses ($p=0,82$). As médias para este parâmetro para ambos os grupos estão expressas no gráfico 3.

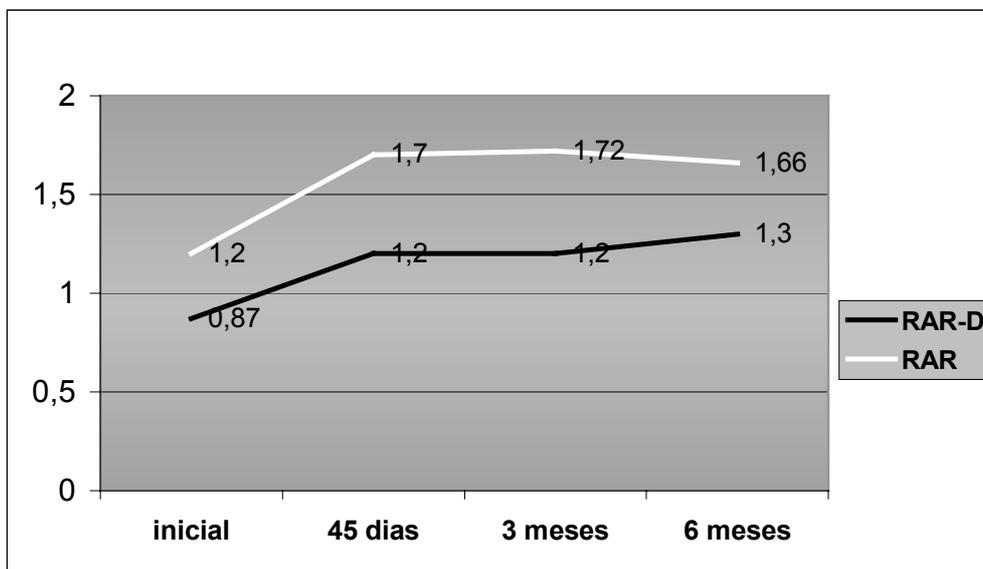


Gráfico 3: Médias (em mm) de recessão gengival nos diversos períodos avaliados para os grupos teste (RAR-D) e controle (RAR).

5.4. Profundidade de Sondagem (PS)

Ambos os grupos apresentaram reduções significativas em PS, em todos os períodos avaliados ($p < 0,0001$). As médias de redução para este parâmetro de ambos os grupos e nos diferentes períodos estão descritas na tabela 1. A análise estatística pelo teste *t* de Student detectou diferença estatisticamente significativa entre os grupos aos 3 meses ($p < 0,049$).

Tabela 1: Médias de redução e desvio padrão de PS em mm nos diversos períodos avaliados para os grupos teste (RAR-D) e controle (RAR). O valor de p é referente às comparações entre grupos nos diversos períodos.

PS	45 dias	3 meses	6 meses
RAR	1,50±0,55	1,62±0,45	1,76±0,63
RAR-D	1,55± 1,17	2,02±0,79	2,17±0,93
Valor de p	0,860	0,049 *	0,100

* Valor estatisticamente significativo ($p<0,05$)

Em relação às bolsas moderadas, houve uma redução média de $1,79 \pm 0,83$ mm para o grupo RAR-D e de $1,60 \pm 0,69$ mm para o grupo RAR ($p=0,42$). A figura 5 (a-b) mostra redução de bolsa moderada do grupo teste. Já para as bolsas profundas, foram encontradas reduções médias de $3,78 \pm 1,41$ mm e $2,60 \pm 1,28$ mm, respectivamente ($p= 0,006$) (gráfico 4). A figura 6 (a-b) mostra redução de bolsa profunda do grupo teste.

O teste exato de Fischer detectou diferença estatisticamente significativa favorecendo o grupo teste para a distribuição de sítios que ganharam mais que 2mm, de 1 a 2mm e que perderam de 1 a 2mm em PS ($p<0,01$). Apenas 5% dos sítios do grupo RAR e 3% dos sítios do grupo RAR-D apresentaram perda de 1 a 2mm em PS. Os valores de ganho estão expressos no gráfico 5.



Figura 5: grupo RAR-D: profundidade de sondagem inicial (fig a); profundidade de sondagem aos 6 meses (fig b).



Figura 6: grupo RAR-D: profundidade de sondagem inicial (fig a); profundidade de sondagem aos 6 meses (fig b).

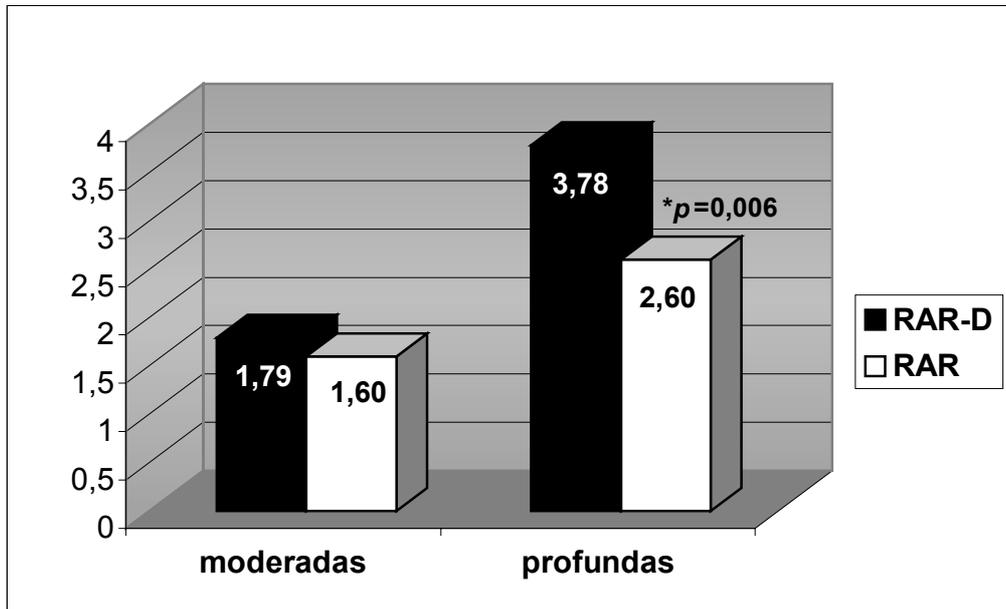


Gráfico 4: Médias de redução de PS (em mm) de bolsas com profundidade inicial moderada e profunda para os grupos teste (RAR-D) e controle (RAR).

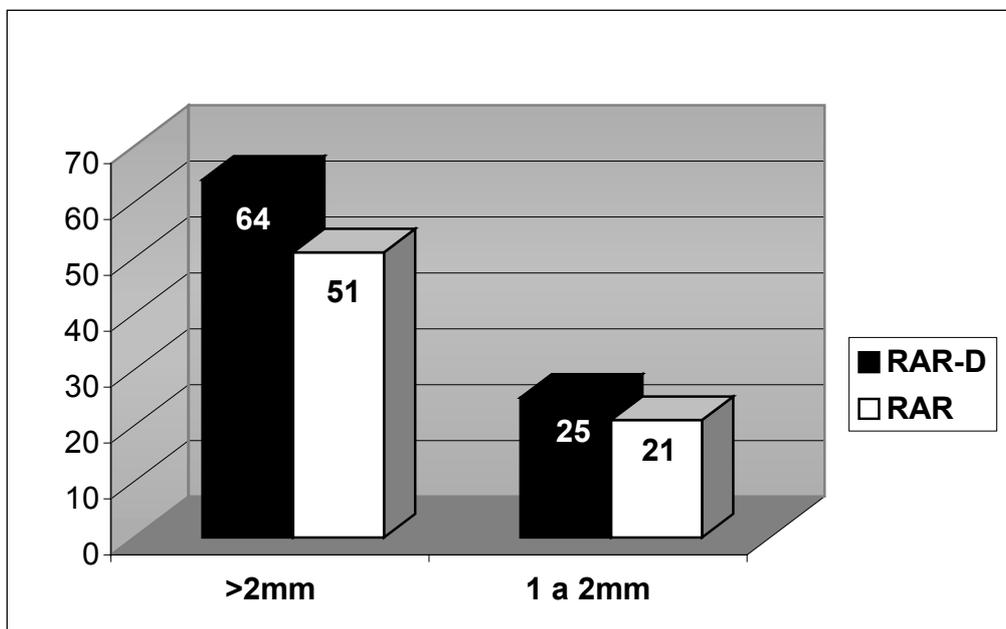


Gráfico 5: Distribuição dos sítios, em porcentagens, que ganharam mais que 2mm e de 1 a 2mm em PS.

5.5. Nível de Inserção Clínica relativo (NICr)

Ambos os grupos apresentaram ganhos significativos em NICr, em todos os períodos avaliados ($p < 0.0001$). As médias de ganho para o parâmetro NICr de ambos os grupos e nos diferentes períodos estão descritas na tabela 2. A análise estatística pelo teste *t* de Student detectou diferença estatisticamente significativa entre os grupos aos 6 meses ($p = 0.025$).

Tabela 1: Médias de ganho e desvio padrão em NICr em mm nos diversos períodos avaliados. O valor de *p* é referente às comparações entre grupos nos diversos períodos.

NICr	45 dias	3 meses	6 meses
RAR	$0.99 \pm 0,88$	$1,11 \pm 0,65$	1.04 ± 0.71
RAR-D	$0.99 \pm 0,84$	$1,36 \pm 0,64$	1.63 ± 0.93
Valor de <i>p</i>	1.000	0,200	0,025 *

* Valor estatisticamente significativo ($p < 0,05$)

Em relação às bolsas moderadas, houve um ganho de 1.37 ± 1.02 mm para o grupo RAR-D e de 1.00 ± 0.75 mm para o grupo RAR ($p = 0.18$). Já para as bolsas profundas, houve diferença estatisticamente significativa entre os ganhos de 2.54 ± 1.27 mm e 1.29 ± 0.95 mm, respectivamente ($p < 0.0001$) (gráfico 6).

O teste exato de Fischer detectou diferença estatisticamente significativa favorecendo o grupo teste para a distribuição de sítios que ganharam mais de 2mm, de 1 a 2mm e que perderam de 1 a 2mm em NICr ($p < 0.01$). Apenas 6% dos sítios do grupo RAR e 3% do grupo RAR-D perderam de 1 a 2mm em NICr. Os valores de ganho estão expressos no gráfico 7.

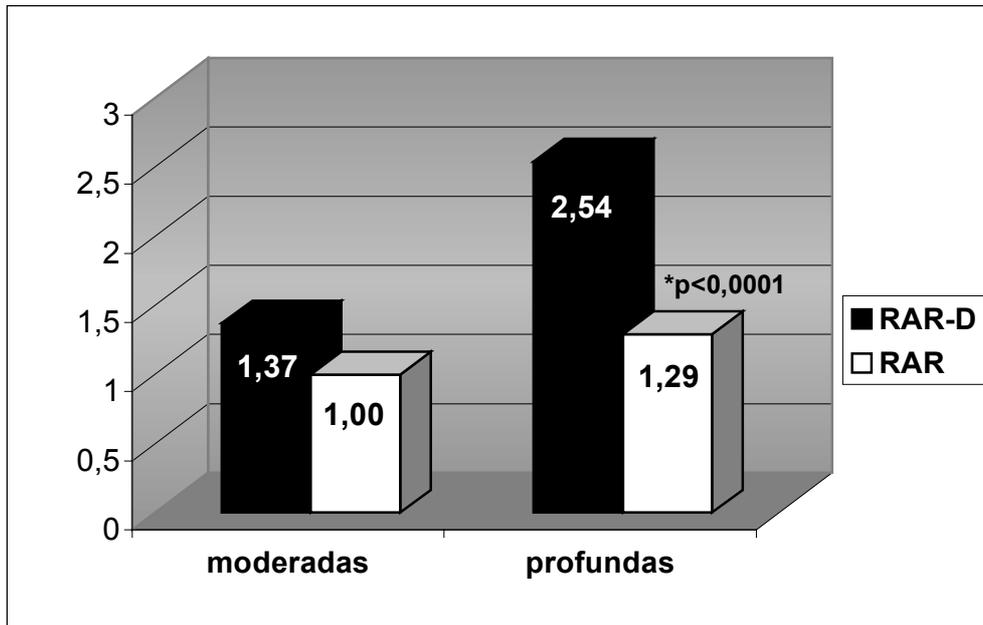


Gráfico 6: Médias de ganho em NICr (em mm) em sítios de profundidade inicial moderada e profunda para os grupos teste (RAR-D) e controle (RAR).

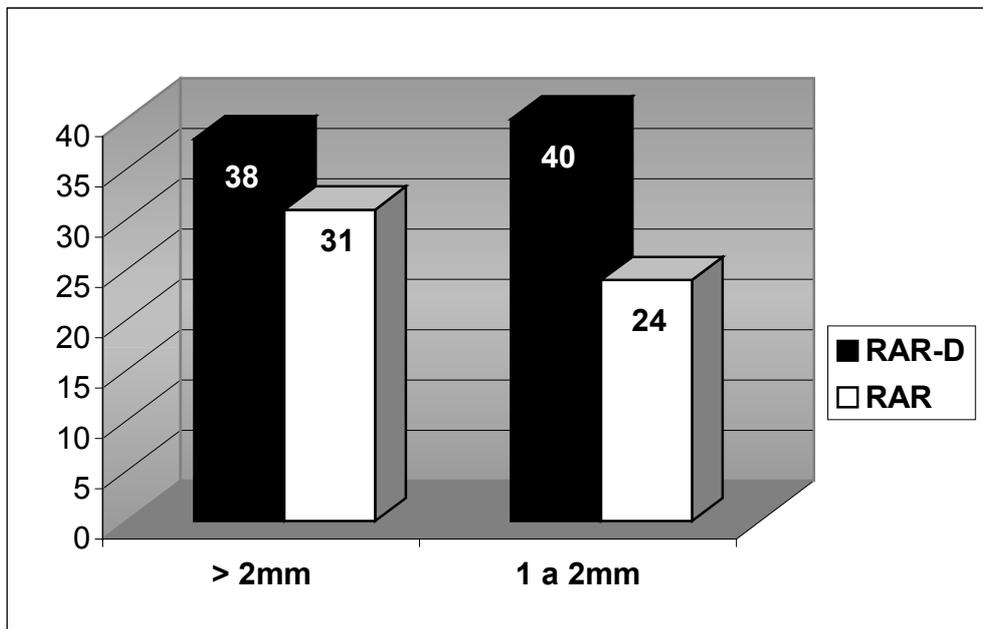


Gráfico 7: Distribuição dos sítios, em porcentagens, que ganharam mais que 2mm e de 1 a 2mm em NICr.

6. DISCUSSÃO

Vários estudos têm demonstrado a resposta desfavorável de pacientes fumantes frente ao tratamento periodontal não-cirúrgico (AH *et al*, 1994; KALDAHL *et al*, 1996). Entretanto, poucos estudos têm avaliado o tratamento local de drogas antimicrobianas como adjunto ao tratamento destes pacientes.

Os índices de redução de placa presentes neste estudo caracterizam a realização de medidas preventivas contra a recolonização dos sítios tratados e para o conseqüente sucesso do tratamento proposto e estão de acordo com a literatura. PALMER *et al*. (1999) encontraram uma média de redução nos índices de placa de pacientes fumantes de 21,8% aos 6 meses, enquanto que no presente trabalho, estes índices foram de 21% e 19% para os grupos teste e controle respectivamente, sem diferenças estatisticamente significantes entre estes.

Quanto aos índices de sangramento, PALMER *et al*. (1999) encontraram reduções similares aos 6 meses para o grupo de fumantes que recebeu terapia mecânica associada ou não ao gel de metronidazol (48,4% e 47,4%, respectivamente). No presente estudo, os valores de redução para os índices de sangramento, aos 6 meses, foram de 37% para o grupo RAR-D e 36% para o grupo RAR, também não estatisticamente diferentes entre si. Embora os valores do estudo prévio tenham sido superiores a este estudo, a terapia adjunta com o gel de metronidazol também não proporcionou maiores valores de redução em SS do que a terapia convencional isoladamente. Já WENNSTROM *et al*. (2001), utilizando tratamento adjunto local com doxiciclina, encontrou diferenças estatisticamente significantes favorecendo o grupo da terapia adjunta ao final de 6 meses. Este resultado não corrobora com os observados no presente estudo. Dois fatores podem ter contribuído para tal diferença. Primeiramente, Wennstrom *et al*. utilizaram pacientes fumantes e não fumantes em sua amostra. Além disso, os índices iniciais de sangramento em seu estudo (100%) eram muito superiores do que os observados na presente investigação (50 - 55%). Tais fatores podem ter

influenciado a redução nos índices de sangramento, favorecendo a detecção de diferenças estatísticas.

Considerando reduções em profundidade de sondagem do presente estudo, foram encontrados, após 6 meses, valores médios de 1,76 e 2,17mm para os grupos RAR e RAR-D respectivamente, não estatisticamente diferentes entre si. Estes valores foram superiores aos encontrados por RYDER *et al.*, em 1999, que separaram os grupos de pacientes fumantes e não-fumantes de um estudo prévio (GARRETT *et al.*, 1999). Neste trabalho, os pacientes receberam raspagem e alisamento radicular ou gel de doxiciclina isoladamente e os valores médios de redução em PS encontrados foram de 1,25 e 1,19mm respectivamente. Similarmente ao presente estudo, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos de tratamento. Já com relação a bolsas profundas, estes autores também não verificaram diferenças estatísticas entre os grupos em redução de PS (1,78 e 1,68mm respectivamente), o que difere do presente estudo (2,6mm para o grupo RAR e 3,78mm para o grupo RAR-D, $p < 0,01$).

Quanto ao NIC, os valores encontrados por RYDER *et al.* para os grupos doxiciclina (0,71mm) e raspagem (0,55mm) não foram estatisticamente diferentes entre si, o que difere do presente estudo (1,63 e 1,04mm para RAR-D e RAR respectivamente, $p = 0,025$). Considerando bolsas profundas, para este parâmetro, as reduções encontradas por estes autores foram de 0,85 e 0,60mm ($p > 0,05$) respectivamente, comparados com 2,54 e 1,29mm ($p < 0,0001$) do presente estudo.

A não diferença significativa entre os tratamentos no trabalho de RYDER *et al.* (1999), inclusive em bolsas profundas, pode ser explicada pelo fato de que estes autores utilizaram a doxiciclina local isoladamente e não como tratamento adjunto à raspagem e alisamento radicular, como no presente estudo. Sabendo-se que o biofilme bacteriano pode impedir a difusão ou mesmo inativar agentes farmacológicos no ambiente subgengival, a sua remoção previamente à aplicação do antimicrobiano pode ter favorecido uma maior difusão da droga e conseqüentemente, maior efetividade desta contra os patógenos remanescentes.

Este fato pode explicar a diferença significativa entre os tratamentos encontrada no presente estudo.

WALKER *et al.* (2000) verificaram reduções substanciais de patógenos subgingivais com aplicação de doxiciclina local não associada à raspagem e alisamento radiculares. Além disso, WOLINSKY *et al.* (2001), subdividindo os pacientes do estudo de GARRETT *et al.* (1999) em grupos de diferentes períodos de raspagem previamente à aplicação de antibiótico local, afirmam que o procedimento mecânico prévio não influencia o resultado do tratamento com antimicrobianos locais. No entanto, o presente trabalho, através da terapia antimicrobiana local adjunta aos procedimentos mecânicos, demonstra valores de redução em PS e NIC superiores aos trabalhos que utilizaram a droga local como terapia isolada (POLSON *et al.*, 1997; GARRETT *et al.* 1999, 2000) e superiores ao grupo de raspagem e alisamento radicular no presente estudo.

KINANE & RADVAR (1997) estudaram o efeito de 3 antimicrobianos locais (fibras de tetraciclina, gel de minociclina e gel de metronidazol) como adjuntos à raspagem e alisamento radicular no tratamento de pacientes fumantes. Estes autores encontraram que, independentemente do tratamento proposto, os pacientes fumantes apresentaram respostas mais desfavoráveis do que os pacientes não-fumantes. Os valores de redução em PS e NIC encontrados neste estudo, aos 45 dias, para os fumantes foram inferiores aos do presente estudo no mesmo período. As médias de redução em PS foram de 0,60mm para raspagem isolada e 1,06mm para tratamento adjunto comparada com 1,50 e 1,55mm respectivamente no presente estudo. As médias de ganho em NIC foram de 0,26 e 0,59mm, respectivamente, comparadas com 0,99 e 0,99mm no presente estudo. Embora as médias encontradas no presente estudo tenham sido maiores, não foram encontradas diferenças entre os tratamentos neste período.

Uma comparação detalhada destes três tratamentos antimicrobianos locais foi feita previamente por RADVAR *et al.* (1996), os quais observaram maiores valores de redução em PS no tratamento adjunto com fibras de tetraciclina (1,35mm para tetraciclina contra 0,87 e 0,95mm para minociclina e metronidazol

respectivamente). Portanto, considerando somente o tratamento adjunto com tetraciclina, temos uma comparação mais similar entre este trabalho e o presente estudo (PS: 1,35 x 1,55mm; NIC: 0,75 x 0,99mm). Esta similaridade nos valores pode ser atribuída às mesmas propriedades farmacológicas das drogas utilizadas nestes estudos e da eficiência do dispositivo de liberação controlada, tanto das fibras de tetraciclina, quanto do gel de doxiciclina. Talvez, em um maior tempo de avaliação, os resultados encontrados seriam similares ao do presente estudo aos 6 meses.

Já PALMER *et al.* (1999) avaliando, por 6 meses, o tratamento local de metronidazol como adjunto à raspagem e alisamento radicular, também não encontraram diferenças significativas entre os valores de redução em PS, porém estes também foram inferiores aos do presente estudo (1,12 para raspagem e 1,35mm para o tratamento associado). Maiores reduções em PS do presente estudo podem ser atribuídas à droga utilizada, a doxiciclina, e no dispositivo de liberação da droga, contido no medicamento deste estudo. A doxiciclina, além de propriedades antimicrobianas, tem a vantagem de inibir as proteases, em específico, as metaloproteinases (GOLUB, 1994; CROUT *et al.*, 1996), o que pode trazer benefícios no combate à destruição periodontal, principalmente em pacientes fumantes, já que estes apresentam maior grau de destruição tecidual (RYDER, 1998). Além disso, o dispositivo de liberação utilizado neste estudo proporciona uma liberação lenta e contínua de altas concentrações da droga por um período de 7 a 10 dias (STOLLER *et al.*, 1998). Já com a aplicação do gel de metronidazol, em dispositivo de liberação sustentada, a concentração, inicialmente alta da droga, é reduzida, nas primeiras 24h, à concentrações não eficazes contra patógenos subgengivais (STOLTZE, 1992).

A comparação dos tratamentos realizados neste estudo com outros estudos da literatura é limitada, uma vez que há somente um trabalho na literatura que associa a terapia local de doxiciclina à terapia mecânica (WENNSTROM *et al.*, 2001). Porém, estes autores utilizam ultra-som como terapia mecânica inicial seguido de aplicação local com doxiciclina em um dos grupos (grupo 1) e

raspagem e alisamento radicular no outro grupo (grupo 2), com aplicação local da droga somente aos 3 meses, em bolsas remanescentes ($\geq 5\text{mm}$). Além disso, os autores incluem pacientes fumantes e não-fumantes em sua amostra e não apresentam resultados para estes grupos separadamente. Apesar das diferenças na metodologia, os resultados do trabalho de Wennstrom *et al.* apresentam vantagens na utilização da doxiciclina local adjunta ao debridamento mecânico aos 3 meses (grupo 1), pela maior proporção de sítios com profundidade $\leq 4\text{mm}$ neste grupo. Além disso, a proporção de sítios apresentando ganhos em NIC $\geq 2\text{mm}$ também foi maior no grupo 1 (38% do grupo 1 e 30% do grupo 2, $p < 0,05$), o que está de acordo com os resultados deste estudo (38% do grupo RAR-D e 31% do grupo RAR, $p < 0,01$).

Assim, através do presente estudo, podemos afirmar que a terapia antimicrobiana local com doxiciclina, associada à raspagem e alisamento radicular pode trazer benefícios adicionais ao tratamento periodontal de pacientes fumantes, em especial, de bolsas profundas ($\geq 7\text{mm}$), já que a diferença encontrada entre os tratamentos para estas bolsas foi de 1.18mm para redução em PS e 1,25mm para ganho em NICr, ambos estatisticamente significantes, favorecendo o grupo teste (RAR-D). Esta maior diferença nos tratamentos de bolsas profundas pode ser explicada através da maior dificuldade de instrumentação destes sítios e conseqüentemente, maior auxílio terapêutico do agente antimicrobiano local. Além disso, KINANE & RADVAR (1997) afirmam que pacientes fumantes respondem de maneira desfavorável, principalmente quando sítios profundos são considerados. Portanto, a terapia local antimicrobiana poderia ser de grande auxílio no tratamento de sítios profundos de pacientes fumantes.

Outra vantagem da terapia local observada neste estudo está representada pela maior proporção de sítios que apresentaram redução em PS e ganho em NICr $\geq 2\text{mm}$ no grupo teste quando comparado ao grupo controle. Segundo Dr. Killoy, em COMMENTS... (1998), uma redução em profundidade de sondagem pode eventualmente eliminar a necessidade de cirurgia em uma área e, em se tratando de reduções $\geq 2\text{mm}$, esta mudança é ainda mais provável. Além disso, se

o uso de antibióticos locais resultar em ganho ou mesmo estabilidade dos níveis de inserção clínica, isto possibilitaria maior facilidade no controle da doença e conseqüentemente, maiores intervalos nas consultas de manutenção. No presente estudo, a redução em PS e o ganho em NIC foram favorecidos pelo uso do antibiótico local, principalmente em bolsas profundas, o que indica não somente diferença estatística entre os tratamentos, como também, uma relevância clínica da terapia antimicrobiana local adjunta à raspagem.

Entretanto, uma vez que os procedimentos de raspagem e alisamento radicular são eficazes no combate à doença periodontal (KALDAHL *et al.*, 1988; COBB, 1996), deve-se considerar a relação custo-benefício na utilização destes medicamentos locais. Através deste trabalho, pode-se sugerir o uso deste medicamento em sítios profundos de pacientes fumantes. Ainda outros estudos poderiam comprovar a eficácia deste medicamento em sítios refratários ou em outros pacientes imunocomprometidos. Além disso, a estabilidade a longo prazo destes resultados devem ser avaliadas.

Portanto, outros estudos são necessários para comprovar a eficácia deste agente antimicrobiano local como adjunto à raspagem e alisamento radicular e estabelecer uma base racional para a sua utilização na terapia periodontal.

CONCLUSÕES

Dentro dos limites deste estudo, podemos concluir que:

A associação do gel de doxiciclina aos procedimentos de raspagem e alisamento radicular trouxe benefícios adicionais aos resultados da terapia periodontal em fumantes, quando comparada à terapia mecânica isolada, principalmente no tratamento de bolsas periodontais profundas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

1. Addy M, Langeroudi M. Comparison of the immediate effects on the subgingival microbiota of acrylic strips containing 40% chlorhexidine, metronidazole or tetracycline. *J Clin Periodontol* 1984 Jul;11(6):379-86.
2. Adriaens PA, De Boever JA, Loesche WJ. Bacterial invasion in root cementum and radicular dentin of periodontally diseased teeth in humans. A reservoir of periodontopathic bacteria. *J Periodontol* 1988 Apr;59(4):222-30.
3. Ah MK, Johnson GK, Kaldahl WB, Patil KD, Kalkwarf KL. The effect of smoking on the response to periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 1994 Feb;21(2):91-7.
4. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*. 1975 Dec;25(4):229-35.
5. Baker PJ, Evans RT, Coburn RA, Genco RJ. Tetracyclines and its derivatives strong bind to and are released from tooth surface in active form. *J Periodontol* 1983 Oct; 54(10): 580-585.
6. Bjorvatn K, Skaug N, Selvig KA. Tetracycline-impregnated enamel and dentin: Duration of antimicrobial capacity. *Scan J Dent Res* 1985 Jun; 93(3):192-197.
7. Caffesse RG, Sweeney PL, Smith BA. Scaling and root planning with and without periodontal flap surgery. *J Clin Periodontol* 1986 Mar; 13(3): 205-210 .
8. Christersson LA, Norderyd OM, Puchalsky CS. Topical application of tetracycline-HCL in human periodontitis. *J Clin Periodontol* 1993 Feb; 20(2):88.
9. Christersson LA, Wikesjo UM, Albin B, Zambon JJ, Genco RJ. Tissue localization of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontitis.

* De acordo com a norma utilizada na FOP/Unicamp, baseada no modelo Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

- II. Correlation between immunofluorescence and culture techniques. *J Periodontol* 1987 Aug;58(8):540-5.
10. Ciancio SG, Ashley R. Safety and efficacy of sub-antimicrobial-dose doxycycline therapy in patients with adult periodontitis. *Adv Dent Res* 1998 Nov; 12(2): 27-31.
11. Ciancio SG, Cobb CM, Leung M. Tissue concentration and localization of tetracycline following site-specific tetracycline fiber therapy. *J Periodontol* 1992 Oct;63(10):849-53.
12. Cobb CM. Non surgical pocket therapy: Mechanical. *Ann Periodontol* 1996 Nov 1(1):443-490. Review.
13. Comments: Local delivery of chemotherapeutic agents in periodontal therapy: has its time arrived? *J Clin Periodontol* 1998; 25: 978-979.
14. Crout RJ, Lee HM, Schroeder K, Crout H *et al*. The "cyclic" regimen of low-dose doxycycline for adult periodontitis: a preliminary study. *J Periodontol* 1996 May; 67(5):506-514.
15. Garrett S, Adams DF, Bogle G, Donly K. *et al*. The effect of locally delivered controlled-release doxycycline or scaling and root planning on periodontal maintenance patients over 9 months. *J periodontol* 2000 Jan; 71(1):22-30.
16. Garrett S, Johnson L, Drisko CH, Adams DF *et al*. Two multi center studies evaluating locally delivered doxycycline hyclate, placebo control, oral hygiene, and scaling and root planning in the treatment of periodontitis. *J Periodontol* 1999 May; 70(5):490-503.
17. Golub LM, Wolff M, Roberts S, Lee HM *et al*. Treating periodontal diseases by blocking tissue-destructive enzymes. *JADA* 1994 Feb; 125(2):163-171.
18. Goodson J. Pharmacokinetic principles controlling efficacy of oral therapy. *J dent Res* 1989 68: 1625-1632
19. Goodson JM, Cugini MA, Kent RL, Armitage GC, Cobb CM *et al*. Multicenter evaluation of tetracycline fiber therapy: II. Clinical response. *J Periodontol Res* 1991 Jul;26(4):371-9.

20. Goodson JM, Haffajee A, Socransky SS. Periodontal therapy by local delivery of tetracycline. *J Clin Periodontol* 1979 Apr;6(2):83-92.
21. Goodson JM, Offenbacher S, Farr DH, Hogan PE. Periodontal disease treatment by local drug delivery. *J Periodontol* 1985 May; 56(5): 265-272.
22. Graca MA, Watts TL, Wilson RF, Palmer RM. A randomized controlled trial of a 2% minocycline gel as an adjunct to non-surgical periodontal treatment, using a design with multiple matching criteria. *J Clin Periodontol* 1997 Apr; 24(4): 249-253.
23. Greenstein G, Polson A. The role of local drug delivery in the management of periodontal diseases: a comprehensive review. *J Periodontol* 1998 May;69(5):507-20.
24. Grenier D, Plamondon P, Sorsa T, Lee HM *et al.* Inhibition of proteolytic, serpinolytic, and progelatinase-b activation activities of periodontopathogens by doxycycline and the non-antimicrobial chemically modified tetracycline derivatives. *J Periodontol* 2002 Jan; 73(1):79-85.
25. Isoshima O, Naora Y, Kurimoto K, Anada T *et al.* Antibiotic therapy in periodontal disease. I. Trial of the topical use with minocycline. *J Japan Assoc Assoc Periodontol* 1987 Jun; 29(2):472-483.
26. Jeffcoat MK, Bray KS, Ciancio SG, Dentino AR *et al.* Adjunctive use of a subgingival controlled-release chlorhexidine chip reduces probing depth and improves attachment level compared with scaling and root planing alone. *J Periodontol* 1998 Sep;69(9):989-97.
27. Jones AA, Kornman KS, Newbold DA, Manwell MA. Clinical and microbiological effects of controlled-release locally delivered minocycline in periodontitis. *J Periodontol* 1994 Nov; 65(11):1058-1066.
28. Kaldahl WB, Johnson GK, Patil KD, Kalkwarf KL.. Levels of cigarette consumption and response to periodontal therapy. *J Periodontol* 1996 Jul; 67(7):675-81.
29. Kaldahl WB, Kalkwarf KL, Patil KD, Dyer JK, Bates RE Jr.. Evaluation of four modalities of periodontal therapy. Mean probing depth, probing

- attachment level and recession changes. *J periodontol* 1988 Dec; 59(12):783-93.
30. Kinane DF, Radvar M. The effect of smoking on mechanical and antimicrobial periodontal therapy. *J Periodontol* 1997 May; 68(5): 467-472.
 31. Lacroix JM, Walker CB. Detection and incidence of the tetracycline resistance determinant tet(M) in the microbiota associated with adult periodontitis. *J Periodontol* 1995 Feb; 66(2): 102-8.
 32. Lang NP, Joss A, Tonetti MS. Monitoring disease during supportive periodontal treatment by bleeding on probing. *Periodontol* 2000 1996 Oct; 12: 44-8.
 33. Langer R. New Methods of drug delivery. *Science* 1990 Sep; 249(4976):1527-1533.
 34. Langer RS, Peppas NA. Present and future applications of biomaterials in controlled drug delivery systems. *Biomaterials* 1981 Oct; 2(4): 201-214.
 35. Larsen T. Occurrence of doxycycline-resistant bacteria in the oral cavity after local administration of doxycycline in patients with periodontal disease. *Scand J Infect Dis* 1991; 23(1):89-95.
 36. Listgarten MA, Lindhe J, Hellden L. Effects of tetracyclines and/or scaling on human periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1978 Nov; 5(4):246-271.
 37. Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol*. 1965 May/Jun; 36(3): 177-187.
 38. MacAlpine R, Magnusson I, Kiger R, Crigger M *et al*. Antimicrobial irrigation of deep pockets to supplement oral hygiene instruction and root debridement. I. Bi-weekly irrigation. *J Clin Periodontol* 1985 Aug; 12(7): 568-577.
 39. Mombelli A, Gmur R, Gobbi C, Lang NP. Actinobacillus actinomycetemcomitans in adult periodontitis. II. Characterization of isolated strains and effect of mechanical periodontal treatment. *J Periodontol* 1994 Sep; 65(9):827-34.

40. Mombelli A, Gmur R, Gobbi C, Lang NP. Actinobacillus actinomycetemcomitans in adult periodontitis. I. Topographic distribution before and after treatment. *J Periodontol* 1994 Sep;65(9):820-6.
41. Morrison SL, Cobb CM, Kazakos GM, Killooy WJ. Root surface characteristics associated with subgingival placement of monolithic tetracycline-impregnated fibers. *J Periodontol* 1992 Feb; 63(2):137-143.
42. Muhlemann HR, Son S. Gingival sulcus bleeding--a leading symptom in initial gingivitis. *Helv Odontol Acta* 1971 Oct;15(2):107-13.
43. Newman MG, Kornman KS, Doherty FM. A 6-month multi-center evaluation of adjunctive tetracycline fiber therapy used in conjunction with scaling and root planing in maintenance patients: clinical results. *J Periodontol* 1994 Jul;65(7):685-91.
44. Palmer RM, Matthews JP, Wilson RF. Non-surgical periodontal treatment with and without adjunctive metronidazole in smokers and non-smokers. *J Clin Periodontol* 1999 Mar;26(3):158-63.
45. Polson AM, Garrett S, Stoller NH, Bandt CL *et al.* Multicenter comparative evaluation of subgingivally delivered sanguinarine and doxycycline in the treatment of periodontitis (I). Study design, procedures, and management. *J Periodontol* 1997 Feb; 68(2):110-118.
46. Polson AM, Garrett S, Stoller NH, Bandt CL *et al.* Multicenter comparative evaluation of subgingivally delivered sanguinarine and doxycycline in the treatment of periodontitis (II). Clinical results. *J periodontal* 1997 Feb; 68(2):119-126.
47. Polson AM, Southard L, Dunn RL, Yewey GL *et al.* Periodontal pocket treatment in beagle dogs using subgingival doxycycline from a biodegradable system.I.Initial clinical responses. *J Periodontol* 1996 Nov; 67(11): 1176-1184.
48. Radvar M, Pourtaghi N, Kinane DF. Comparison of 3 periodontal local antibiotic therapies in persistent periodontal pockets. *J Periodontol* 1996 Sep;67(9):860-5.

49. Rams TE, Slots J. Local delivery of antimicrobial agents in the periodontal pocket. *Periodontol 2000* 1996 Feb; 10:139-59.
50. Rawal SY, Rawal YB. Non-antimicrobial properties of tetracyclines-dental and medical implications. *West Indian Med* 2001 Jun; 50(2):105-8.
51. Rosling B, Hellstrom MK, Ramberg P, Socransky SS *et al.* The use of PVP-Iodine as an adjunct to non-surgical treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2001 Nov; 28(11):1023-1031.
52. Ryder MI, Fujitaki R, Johnson G, Hyun W. Alterations of neutrophil oxidative burst by in vitro smoking exposure: Implications for oral and systemic diseases. *Ann Periodontol* 1998 Jul;3(1):76-87.
53. Ryder MI, Pons B, Adams D, Baiswanger B *et al.* Effects of smoking on local delivery of controlled-release doxycycline as compared to scaling and root planning. *J Clin Periodontol* 1999 Oct; 26(10):683-691.
54. Serino G, Rosling B, Ramberg P, Socransky SS *et al.* Initial outcome and long-term effect of surgical and non-surgical treatment of advanced periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2001 Oct;28(10):910-6.
55. Simonson LG, Robinson PJ, Pranger RJ, Cohen ME *et al.* Treponema denticola and porphyromonas gingivalis as prognostic markers following periodontal treatment. *J Periodontol*. 1992 Apr; 63 (4): 270-273.
56. Slots J, Rams TE. Antibiotics in Periodontal Therapy: advantages and disadvantages. *J Clin Periodontol* 1990 Aug; 17(7(Pt 2)):479-493.
57. Solskone WA, Heasman PA, Stabholz M, Newman HN. Sustained local delivery of chlorhexidine in the treatment of periodontitis. A multi-center study. *J Periodontol* 1997 Jan;68(1):32-38.
58. Stelzel M, Flores-de-Jacoby L. Topical metronidazole application in recall patients. Long-term results. *J Clin Periodontol* 1997 Dec;24(12):914-9.
59. Stoller NH, Johnson LR, Trapnell S, Harrold CQ *et al.* The pharmacokinetic profile of a biodegradable controlled-release delivery system containing doxycycline compared to systemically delivered doxycycline in gingival

- crevicular fluid, saliva and serum. *J Periodontol* 1998 Oct; 69(10):1085-1091.
60. Stoltze K. Concentration of metronidazole in periodontal pockets after application of metronidazole 25% dental gel. *J Clin Periodontol* 1992 Oct; 19(9 Pt 2): 698-701.
61. Theilade E, Wright WH, Jensen SB, Loe H. Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *J Periodontol Res.* 1966;1:1-13.
62. van Steenberghe D, Rosling B, Soder PO, Landry RG *et al.* A 15-month evaluation of the effects of repeated subgingival minocycline in chronic adult periodontitis. *J periodontol* 1999 Jun; 70(6):657-667.
63. Walker CB, Godowski KC, Borden L, Lennon J *et al.* The effects of sustained release doxycycline on the anaerobic flora and antibiotic-resistant patterns in subgingival plaque and saliva. *J Periodontol* 2000 May;71(5):768-74
64. Walker SL, Ash MM. A study of scaling and root planning by scanning electron microscopy. *Dent Hyg* 1976 Mar; 50(3): 109 -114.
65. Wennstrom JL, Heijl L, Dahlen G, Grondahl K. Periodic subgingival antimicrobial irrigation of periodontal pockets. (I). Clinical observations. *J Clin Periodontol* 1987 Oct; 14(9):541-550.
66. Wennstrom JL, Newman HN, MacNeill SR, Killooy WJ *et al.* Utilisation of locally delivered doxycycline in non-surgical treatment of chronic periodontitis. A comparative multi-center trial of 2 treatment approaches. *J Clin Periodontol* 2001 Aug;28(8):753-61.
67. Wennstrom JL. Rising, Irrigation and sustained local delivery. *In: Proceedings of the 2nd European workshop on periodontology.* Berlin: Quintessence books, 1997. p.131.

ANEXOS