



UNESP

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARAÇATUBA

ALESSANDRA BARRETO LOPES

***TRATAMENTO DE PERIODONTITE CRÔNICA COM
MÚLTIPLOS EPISÓDIOS DE TERAPIA FOTODINÂMICA
ANTIMICROBIANA (α PDT) OU COM USO SISTÊMICO DE
AMOXICILINA E METRONIDAZOL. ESTUDO CLÍNICO
RANDOMIZADO***

ARAÇATUBA – SP

2016



UNESP

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARAÇATUBA

ALESSANDRA BARRETO LOPES

***TRATAMENTO DE PERIODONTITE CRÔNICA COM
MÚLTIPLOS EPISÓDIOS DE TERAPIA FOTODINÂMICA
ANTIMICROBIANA (aPDT) OU COM USO SISTÊMICO DE
AMOXICILINA E METRONIDAZOL. ESTUDO CLÍNICO
RANDOMIZADO***

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP, para a obtenção do Título de MESTRE EM ODONTOLOGIA (Área de Periodontia).

Orientadora: Profa. Dra. Letícia Helena Theodoro

Coorientadora: Profa. Dra. Cristiane Duque

ARAÇATUBA – SP

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

L864t Lopes, Alessandra Barreto.
Tratamento de periodontite crônica com múltiplos episódios de terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) ou com uso sistêmico de amoxicilina e metronidazol : estudo clínico randomizado / Alessandra Barreto Lopes. - Araçatuba, 2016
81 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientadora: Profa. Leticia Helena Theodoro
Coorientadora: Profa. Cristiane Duque

1. Periodontite 2. Fotoquimioterapia 3. Raspagem dentária
4. Antibacterianos
I. T.

Black D6
CDD 617.64

Alessandra Barreto Lopes

Nascimento: 11.09.86 Niterói- RJ

Filiação: Carlos Alberto Bersot Lopes
Alcilea Fagundes Barreto Lopes

2008-2013: Curso de Graduação em Odontologia
Faculdade de Odontologia da Universidade Federal Fluminense - UFF

2014-2016: Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia
Área de Periodontia
Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais, Carlos Alberto e Alciléa, que não mediram esforços na realização deste sonho. E sempre me apoiaram em todas as minhas escolhas e decisões. A minha irmã Gisele pelo incentivo. E ao meu noivo Maurício pela dedicação, carinho e apoio sempre. Obrigada por tudo! Amo muito vocês!!!

Agradecimentos

*Início meus agradecimentos por **Deus**, o que seria de mim sem a fé que eu deposito nele. Além de ter colocado pessoas tão especiais do meu lado, sem as quais certamente eu não teria dado conta!*

A meus pais, Carlos Alberto e Alciléa, meu infinito agradecimento. Sempre acreditaram em minha capacidade e me acharam A MELHOR de todas, mesmo não sendo. Isso só me fortaleceu e me fez tentar, não ser A MELHOR, mas a fazer o melhor de mim. E tiveram que lidar com a minha ausência em momentos tão difíceis. Obrigada pela compreensão e pelo amor incondicional.

A minha irmã Gisele que apesar da distância sempre se fez presente em todos os momentos.

A meu querido noivo, Maurício, por ser tão importante na minha vida. Sempre ao meu lado, me pondo para cima e me fazendo acreditar que posso mais que imagino. 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!

A minha amiga Juliana, que também veio do RJ, dividiu o apartamento comigo e a saudade de casa. Obrigada pela companhia, pelos momentos compartilhados. Como sabemos, o quanto foi difícil ficar longe da família, mas tínhamos uma meta a ser alcançada.

Às minhas amigas de sempre, Kátia, Adriana e Ana Carolina por só quererem o meu bem e me valorizar tanto como pessoa. Obrigada pela amizade!

A meus amigos do mestrado, Naida Assem, Mariéllen Longo, Márcio Ferro, Eliana Caliente, Eduarda Belém, Vivian Novaes, Paula Falheiros, Carolina Santinoni, Daniela Miessi, Marta Nuernberg, Nathália Januário, David Gusman e Marina Módulo pelos momentos divididos juntos. Foi muito bom poder contar com vocês.

Aos professores do Departamento de Periodontia, Juliano Milanezi, Maria José Nagata, Álvaro Francisco Bosco, Edilson Ervolino, obrigada pelos ensinamentos, orientações e amizade, me ajudaram ativa ou passivamente neste projeto. Vocês também são referenciais para mim!

Aos alunos de Iniciação Científica, Maryelisa Vicente, Debora, Tamara Seraphim, Thayane Businari, Natália Gimenez Paiva, Denise, que também contribuíram para a realização deste trabalho.

A todos os pacientes da Faculdade de Odontologia de Araçatuba que participaram espontaneamente deste trabalho. Por causa deles é que esta dissertação se concretizou. Vocês merecem meu eterno agradecimento!

À atual coordenação do Curso de Pós-Graduação em Odontologia, na pessoa do Professor André Luiz Fraga Briso por sua dedicação ao Curso.

Ao Joilson Lellis, pelo cuidado, atenção e colaboração, com seus serviços prestados.

Aos Funcionários do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada - Cleide, Renato, Marcos e Paulo, obrigado pela ajuda e disposição.

A todos os funcionários da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, Cláudio Hideo Matsumoto, Celinha, Valéria Marcondes Zagatto, Cristiane, Lilian, pela disponibilidade, simpatia e gentileza. Obrigada pela ajuda!

Agradeço também, à CAPES pela bolsa durante o primeiro ano de mestrado e à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP pela concessão da Bolsa de Mestrado no segundo ano (Processo nº 2014/ 11637-2) para realização deste trabalho.

Finalmente, gostaria de agradecer à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” e a Faculdade de Odontologia de Araçatuba, nas pessoas do Diretor Prof. Titular Wilson Roberto Poi e Vice-Diretor Prof. Titular João Eduardo Gomes Filho; por abrirem as portas para que eu pudesse realizar este sonho que era a minha DISSERTAÇÃO DE MESTRADO. Proporcionaram-me mais que a busca de conhecimento técnico e científico, mas uma LIÇÃO DE VIDA.

Agradecimentos especiais

Á minha querida orientadora **Prof^a Dr^a Leticia Helena Theodoro** pela orientação prestada, pelo seu incentivo, ensinamentos, pela paciência e disponibilidade que sempre demonstrou. Aqui lhe exprimo a minha gratidão. Por ter compreendido e me apoiado nos momentos difíceis que passei, no qual meu pai ficou seis meses internado, devido a complicações pós-cirúrgicas. Tendo eu que me afastar por um tempo das minhas atividades. Tenho uma profunda admiração pela senhora. Muito Obrigada por tudo!

Á minha querida coorientadora **Prof^a Dr^a Cristiane Duque** pessoa de luz, obrigada pelo acolhimento, apoio, ensinamentos tão grandiosos, pelos encontros felizes e amigáveis que me proporcionou. Que Deus te abençoe eternamente.

Ao **Professor Dr Valdir Gouveia Garcia** pelo apoio, carinho, atenção, sempre com um sorriso no rosto, disposto a ajudar. Que honra ter conhecido e convivido com o senhor. Que riqueza de caráter e conhecimento. Um grande exemplo de vida! Que Deus dê ao senhor muita saúde sempre. Obrigada!

Ao **Professor Dr Andrea Mombelli**, Professor da Divisão de Periodontia e Patofisiologia Oral, da Universidade de Genebra- Suíça, pelo auxílio e colaboração na elaboração e execução deste projeto. Muito obrigada.

Ninguém vence sozinho... A todos o meu sincero e profundo Muito Obrigado!

Epígrafe

"Para realizar grandes conquistas, devemos não apenas agir, mas também sonhar; não apenas planejar, mas também acreditar".

Anatole France.

Lopes, AB. **Tratamento de periodontite crônica com múltiplos episódios de terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) ou com uso sistêmico de Amoxicilina e Metronidazol. Estudo clínico randomizado.** [Dissertação]. Araçatuba: UNESP – Universidade Estadual Paulista; 2016.

Objetivo: Este estudo comparou por meio de análise clínica os efeitos da Amoxicilina associado ao Metronidazol (MTZ+AMX) e de múltiplas aplicações da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) como coadjuvantes ao tratamento da periodontite crônica.

Métodos: Um estudo clínico controlado, randomizado foi conduzido em 34 pacientes que receberam: Grupo MTZ+AMX (n=17) – raspagem e alisamento radicular (RAR) e uso sistêmico de Metronidazol (400 mg 3 X por dia, 7 dias) e Amoxicilina (500 mg 3 X por dia, 7 dias) e; Grupo aPDT (n=17) - raspagem e alisamento radicular (RAR) e 3 aplicações de aPDT em todos os sítios com profundidade de sondagem maior que 4 mm imediatamente, 48 e 96 horas após a RAR e placebo durante 7 dias. Os exames clínicos foram realizados no início, aos 90 e 180 dias após o tratamento. Os parâmetros clínicos de índice de placa visível (IPV), sangramento à sondagem (SS), profundidade de sondagem (PS) e nível de inserção clínico (NIC) foram avaliados. A aPDT foi realizada, utilizando o azul de metileno (10 mg/mL) e o laser de diodo de Arsênio- Galio- Alumínio (AsGaAl) em baixa intensidade após 1 minuto (660 nm, 100 mW, 48 segundos, 160 J/cm²) imediatamente, 48 e 96 hs após o tratamento, em todos os sítios com profundidade de sondagem maior que 4 mm. Os dados clínicos foram estatisticamente analisados ($\alpha=5\%$).

Resultados: Na análise intragrupo da PS, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as médias de boca toda entre os três períodos do estudo em ambos os grupos. Não houve diferenças estatisticamente significativas na PS entre os grupos avaliados em cada período ($P>0,05$). Com relação ao NIC em ambos os grupos

houve ganho de inserção estatisticamente significativo aos 90 dias quando comparado ao baseline ($P < 0,05$). Houve redução de SS e da porcentagem de bolsas residuais no período de 90 e 180 dias após tratamento, em comparação ao baseline, em ambos os grupos ($P < 0,05$).

Conclusão: Ambas as terapias coadjuvantes foram efetivas no tratamento da periodontite crônica, promovendo redução da inflamação dos tecidos periodontais, ganho de inserção clínica e reduzindo o número de bolsas residuais.

Palavras Chaves: Periodontite, Fotoquimioterapia, Raspagem Dentária, Antibacterianos.

Lopes, BA. **Treatment of chronic periodontitis with multiple episodes of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) or amoxicillin and metronidazole. A randomized clinical study.** [Dissertation]. Araçatuba: UNESP – São Paulo State University; 2016.

Aim: This study compared, through clinical analysis, the effects of Amoxicillin associated with metronidazole (MTZ+AMX), and multiple applications of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT), as adjuncts therapy in the treatment of chronic periodontitis.

Methods: A controlled randomized clinical trial was conducted in 34 patients, divided into two groups: the MTZ+AMX Group (n=17), subjected to scaling and root planing (SRP) with systemic use of Metronidazole (400 mg 3 X per day 7 days) and Amoxicillin (500 mg 3 X per day 7 days); and the aPDT Group (n=17), submitted to SRP and three aPDT applications in all sites with a probing depth larger than 4 mm, immediately 48 and 96 hours after scaling, and placebo during 7 days. Clinical examinations were performed at the baseline, 3 and 6 months post-therapy. The clinical parameters visible plaque index (VPI), bleeding on probing (BOP), probing depth (PD), and clinical attachment level (CAL) were measured. The aPDT was carried out using methylene blue (10 mg/mL) and the Gallium-Aluminum-Arsenide (GaAlAs) laser at 1 minute (660 nm, 100 mW, 48 seconds, 160 J/cm²) 48 and 96 hours immediately after treatment, in all sites with a probing deeper than 4 mm. Subsequently, statistical analysis was performed ($\alpha=5\%$).

Results: Intragroup analysis did not reveal statistically significant differences between mean mouth in PD in all three stages of the study in either groups. In addition, there were no statistically significant differences in PD between the groups in each period ($P>0.05$).

With regard to the CAL both groups there was a statistically significant gain at 90 days compared to the baseline ($P<0.05$). In both groups there was a reduction in BOP and the percentage of residual pockets after 90 and 180 days compared to the baseline ($P<0.05$).

Conclusion: Both adjunct therapies have proven effective in the treatment of chronic periodontitis, promoting a reduction of periodontal tissue inflammation, clinical attachment gain and reducing the number of residual pockets.

Key words: Periodontitis, Photochemotherapy, Dental Scaling, Anti-Bacterial Agents.

Manuscript for publication

Tabela 1	Características demográficas, média e desvio padrão ($M \pm DP$) dos parâmetros clínicos (PS, NIC, SS, IPV, Bolsas Residuais) da avaliação geral no Baseline, 90 e 180 dias após tratamento.	61
Tabela 2	Média ($M \pm DP$) da redução de PS e do ganho de NIC das bolsas avaliadas entre <i>Baseline</i> e 90 dias, e <i>Baseline</i> e 180 dias do Grupo MTZ+AMX.	62
Tabela 3	Média ($M \pm DP$) da redução de PS e do ganho de NIC das bolsas avaliadas entre <i>Baseline</i> e 90 dias, e <i>Baseline</i> e 180 dias do Grupo aPDT.	63

Manuscríto para publicação

Figura 1	Fluxograma Clínico	64
Figura 2	Redução percentual do número de bolsas residuais com sangramento ($\geq 4\text{mm}$).	65

Lista de Abreviaturas e Siglas

RAR - Raspagem e Alisamento Radicular.

aPDT - Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana.

MTZ - Metronidazol.

AMX - Amoxicilina.

PS - Profundidade de Sondagem.

SS - Sangramento à Sondagem.

NIC - Nível de Inserção Clínica.

IPV – Índice de Placa Visível.

nm - Nanômetro. Bilionésima parte do metro, utilizado para medir comprimento de onda.

mg/mL - Miligramas por mililitro

Laser - Acrônimo da palavra *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* (Luz Amplificada pela Emissão Estimulada de Radiação).

Lista de Abreviaturas e Siglas

AsGaAl – Arsênio-Gálio-Alumínio.

mW - Miliwatt - Milionésima parte do Watt . 1/1000 Watt.

J/cm² - Joules por centímetro quadrado.

Joule - Unidade de energia, abreviada como J.

mg – Miligrama.

mL - Mililitros, equivalente à milésima parte do litro.

s - Segundo.

mm – Milímetro, equivalente à milésima parte do metro.

LED – Luz Emitindo de Diodo

g - Grama.

Lista de Anexos

Anexo A	Certificado da Comissão de Ética em Pesquisa	66
Anexo B	Normas de publicação segundo o Periódico “Journal of Clinical Periodontology”.	68

Sumário

Manuscrito para publicação	20
Página de título	21
Resumo	22
Introdução	24
Materiais e Métodos	29
Resultados	35
Discussão	37
Agradecimentos	44
Referências	45
Anexos	66

Manuscrito
*para Publicação*¹

¹ Normalização Segundo a Revista "Journal of Clinical Periodontology "

Título

Tratamento de periodontite crônica com múltiplos episódios de terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) ou com uso sistêmico de Amoxicilina e Metronidazol. Estudo clínico randomizado.

Autores:

Letícia Helena Theodoro ^{a*}, Alessandra Barreto Lopes ^a

^aGEPLO – Grupo de Estudos e Pesquisas com Lasers em Odontologia, Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada, Disciplina de Periodontia, Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista– UNESP, Araçatuba, São Paulo, Brasil.

***Autor correspondente:**

Letícia Helena Theodoro

Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP:

Rua Jose Bonifácio 1193, Centro.

CEP: 16015-050 Araçatuba, SP, Brasil.

Tel/Fax 55- 18-36362860

E-mail: letheodoro@foa.unesp.br

Número de figuras: 2

Número de tabela: 3

Título resumido: aPDT e terapia antibiótica sistêmica em pacientes com periodontite crônica.

Resumo

Objetivo: Este estudo comparou por meio de análise clínica os efeitos da Amoxicilina associado ao Metronidazol (MTZ+AMX) e de múltiplas aplicações da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) como coadjuvantes ao tratamento da periodontite crônica.

Métodos: Um estudo clínico controlado, randomizado foi conduzido em 34 pacientes que receberam: Grupo MTZ+AMX (n=17) – raspagem e alisamento radicular (RAR) e uso sistêmico de Amoxicilina (500 mg 3 X por dia, 7 dias) e Metronidazol (400 mg 3 X por dia, 7 dias); Grupo aPDT (n=17) - raspagem e alisamento radicular (RAR) e 3 aplicações de aPDT em todos os sítios com profundidade de sondagem maior que 4 mm imediatamente, 48 e 96 horas após a RAR e placebo durante 7 dias. Os exames clínicos foram realizados no início, aos 90 e 180 dias após o tratamento. Os parâmetros clínicos de índice de placa visível (IPV), sangramento à sondagem (SS), profundidade de sondagem (PS) e nível de inserção clínico (NIC) foram avaliados. A aPDT foi realizada, utilizando o azul de metileno (10 mg/mL) e o laser de diodo de Arsênio-Gálio-Alumínio (AsGaAl) em baixa intensidade após 1 minuto da irrigação (660 nm, 100 mW, 48 segundos, 160 J/cm²) imediatamente, 48 e 96 hs após o tratamento, em todos os sítios com profundidade de sondagem maior que 4 mm. Os dados clínicos foram estatisticamente analisados ($\alpha=5\%$).

Resultados: Na análise intragrupo da PS, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as médias de boca toda entre os três períodos do estudo em ambos os grupos. Não houve diferenças estatisticamente significativas na PS entre os grupos avaliados em cada período ($P>0,05$). Com relação ao NIC em ambos os grupos houve ganho clínico de inserção estatisticamente significativo aos 90 dias quando comparado ao baseline ($P<0,05$). Houve redução de SS e da porcentagem de bolsas

residuais no período de 90 e 180 dias após tratamento, em comparação ao baseline, em ambos os grupos ($P < 0,05$).

Conclusão: Ambas as terapias coadjuvantes foram efetivas no tratamento da periodontite crônica, promovendo redução da inflamação dos tecidos periodontais, ganho de inserção clínica e reduzindo o número de bolsas residuais.

Palavras Chaves: Periodontite, Fotoquimioterapia, Raspagem Dentária, Antibacterianos.

1. Introdução

A periodontite é uma doença inflamatória crônica, polimicrobiana e multifatorial que provoca a destruição dos tecidos de suporte do dente (cimento, ligamento periodontal e osso alveolar), resultando na formação de bolsas periodontais, recessões gengivais, reabsorção óssea alveolar e, em casos mais avançados, a perda do elemento dentário (Cazalis et al. 2009, Zandbergen et al. 2013).

Microorganismos periodontopatogênicos são detectados nos biofilmes, onde há vários nichos ecológicos, principalmente na área subgengival, revestindo o epitélio das bolsas periodontais, encobrindo a superfície radicular, assim como, sobre as membranas das mucosas bucais (Ehmke et al. 2005). A principal finalidade da terapia periodontal é desorganizar estes biofilmes, para suprimir microrganismos periodontais em toda a cavidade oral, e assim deter a doença (Socransky & Haffajee 2002).

Estão relatados na literatura, os resultados clínicos positivos da raspagem e do alisamento radicular (RAR) (Badersten et al. 1981, Carvalho et al. 2004) e comprovam que esse procedimento remove grande parte das células bacterianas dos sítios periodontais e promove alterações benéficas na composição da microbiota subgengival (Listgarten et al. 1978, Tabita et al. 1981). A RAR proporciona melhoras nos parâmetros clínicos da doença periodontal, como redução na profundidade de sondagem (PS), ganho de inserção clínica (NIC), redução dos índices de placa, índices gengivais e supuração, além de uma diminuição no número de sítios com sangramento à sondagem (Haffajee et al. 1997, Cobb 2002). No entanto, a RAR sozinha tem sido demonstrada ineficaz na eliminação da espécie patogênica periodontal como *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e *Porphyromonas gingivalis* da superfície subgengival (Shiloah et al. 1998, Mombelli et al. 2000), em

consequência do acesso limitado da superfície radicular (Adriaens et al. 1988, Serino et al. 2001), a localização de certos patógenos no fundo de bolsas periodontais mais profundas (Muniz et al. 2013), além da habilidade de algumas bactérias invadirem os tecidos adjacentes (Amano 2007). Além disso, pode ocorrer a persistência de um número limitado de bolsas residuais com sangramento à sondagem após a raspagem (Zappa et al. 1991, Kocher et al. 2001, Doyle et al. 2015) e a instrumentação repetida nessas bolsas residuais com instrumentos de metal, remove uma quantidade substancial de tecidos mineralizados do dente ao longo do tempo (Zappa et al. 1991, Kocher et al. 2001, Doyle et al. 2015). Assim, pode acarretar recessão gengival (Baderten et al. 1981, Baderten et al. 1984) e também provocar uma hipersensibilidade nos dentes a estímulos térmicos e físicos (Von Troil et al. 2002).

O surgimento de outras opções eficazes para a terapia periodontal tornou-se imprescindível devido à existência de limitações de acesso a áreas de furcas, sulcos, concavidades, sítios distais de molares e bolsas profundas localizadas durante a terapia periodontal convencional (Aoki et al. 2004; Takasaki et al. 2009).

A utilização de agentes antimicrobianos sistêmicos para o tratamento da doença periodontal, causada por bactérias periodontais patogênicas específicas, é considerado uma alternativa, pois esses medicamentos modificam a composição microbiana do biofilme subgengival, favorecendo o estabelecimento de uma microbiota com perfil compatível com a saúde (Zandbergen et al. 2013). O benefício da administração sistêmica de amoxicilina (AMX) e metronidazol (MTZ), usado como um coadjuvante para o tratamento não cirúrgico mecânico-periodontal, é bem documentada (Mombelli et al. 2013).

Constatou-se que de um modo geral, a maioria das bactérias anaeróbicas, incluindo patógenos periodontais, associados com o aparecimento e progressão da periodontite crônica, são suscetíveis ao MTZ (Bidault et al. 2007). Entre os vários antibióticos

utilizados no tratamento de periodontite crônica, o MTZ isoladamente ou combinado com AMX tem sido os mais utilizados (Silva et al. 2011).

Vários estudos clínicos recentes têm comprovado que associação do MTZ com AMX com RAR, no tratamento da doença periodontal, favorecem melhores resultados clínicos, como redução da profundidade, ganho no nível de inserção clínico em comparação com o tratamento apenas com RAR (Van Winkelhoff et al. 1989, Pavicic et al. 1994, Winkel et al. 2001, Rooney et al. 2002, Matarazzo et al. 2008, Cionca et al. 2009, Ribeiro Edel et al. 2009, Cionca et al. 2010, Mestnik et al. 2010, Yek et al. 2010, Griffiths et al. 2011, Heller et al. 2011, Silva et al. 2011, Varela et al. 2011, Feres et al. 2012, Mestnik et al. 2012, Sgolastra et al. 2012, Zandbergen et al. 2013, Mombelli et al. 2015). Os resultados clínicos melhores foram relatados nos pacientes que foram tratados com MTZ e AMX quando comparado à administração do MTZ sozinho (Rooney et al. 2002, Matarazzo et al. 2008). No entanto, em muitas situações clínicas a antibioticoterapia em periodontia permanece objeto de debate, especialmente com relação à prescrição individual e combinação com outros procedimentos (Mombelli et al. 2011). A associação entre a prevalência de cepas de bactérias resistentes em sítios subgengivais e o consumo de antibióticos já foi comprovada (Van Winkelhoff et al. 2000, Feres et al. 2002, Ardila et al. 2010). Com o objetivo de limitar o desenvolvimento de resistência bacteriana e evitar o risco de efeitos sistêmicos indesejados, a precaução e atitudes restritivas relacionadas ao uso de antibióticos têm sido recomendadas (Mombelli 2006, Cionca et al. 2009).

Com o crescimento da resistência bacteriana a antibióticos tornou-se necessário o surgimento de alternativas para o tratamento periodontal consagrado (Ishikawa et al. 2009). Nessa conjuntura, a terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT), desponta como um método de redução microbiana, com mínimos efeitos colaterais e sistêmicos, além de não induzir resistência bacteriana (Yamada et al. 2004).

A terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) baseia-se no princípio de que o fotossensibilizador, uma substância fotoativável se liga à célula-alvo e pode ser estimulada pela uma luz de um comprimento de onda adequado. Logo após, a transferência de energia promove a formação de espécies reativas de oxigênio (reação tipo I) e oxigênio singlete (reação tipo II), que exercem uma ação tóxica e destrutiva sobre as bactérias e os seus produtos (Corrêa et al. 2015).

A aPDT associado à RAR evidenciou uma significativa redução da carga bacteriana, ocasionando melhores resultados clínicos em comparação com o uso da RAR somente (Takasaki et al. 2009, Sgolastra et al. 2013).

Os resultados de alguns estudos que avaliaram a periodontite experimental em animais, por meio de análise histomorfométrica demonstraram que aPDT é uma terapia efetiva para o controle e tratamento da periodontite induzida quando utilizada isoladamente (Almeida et al. 2007, Almeida et al. 2008a, Qin et al. 2008) ou como coadjuvante ao tratamento mecânico convencional em circunstâncias sistêmicas adversas ou não (Almeida et al. 2008b, Fernandes et al. 2009, Garcia et al. 2011, Garcia et al. 2013, Garcia et al. 2014).

O efeito da aPDT como uma terapia coadjuvante ao tratamento da periodontite crônica tem sido analisada em diversos estudos clínicos em humanos (Andersen et al. 2007, Braun et al. 2008, Christodoulides et al. 2008, Chondros et al. 2009, Polansky et al. 2009, Pinheiro et al. 2010, Ge et al. 2011, Theodoro et al. 2012, Petelin et al. 2014). Porém, não foi comprovado em alguns destes estudos, vantagens clínicas com o uso da aPDT (Polansky et al. 2009, Theodoro et al. 2012), embora outros estudos constatarem que a aPDT foi capaz de reduzir apenas o sangramento à sondagem de sítios tratados (Chondros et al. 2008, Cristodoulides et al. 2008, Ge et al. 2011, Petelin et al. 2014). Os resultados benéficos da utilização da aPDT como um coadjuvante aos tratamentos mecânicos para a doença periodontal está seguramente relacionado à atividade da mesma contra bactérias

periodontopatogênicas (Müller Campanile et al. 2015). Estudo recente demonstrou que a associação de MTZ e AMX promoveu maiores benefícios no tratamento periodontal de pacientes com periodontite agressiva, quando comparado a duas aplicações de aPDT (Arweiler et al. 2014).

Diante destes fatos, o presente estudo tem como objetivo comparar por meio de análise clínica os efeitos da AMX associada ao MTZ e de múltiplas aplicações da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) como coadjuvantes ao tratamento da periodontite crônica.

2. Materiais e Método

O presente trata-se de estudo clínico controlado randomizado prospectivo e cego com acompanhamento de 90 e 180 dias, seguindo as normas do novo CONSORT-STATEMENT de 2010 (Moher et al. 2012) para ensaios clínicos randomizados e foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa de Humanos da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP – CPE nº 173.653 e CAAE nº 05519412.5.0000.5420/2012. O projeto foi registrado no *International Clinical Trials Registry Platform* - UTN (U1111-1161-0982).

Cálculo da amostra

O tamanho da amostra foi calculado assumindo um desvio padrão do desfecho primário de 0.94 mm do nível de inserção clínica e uma diferença a ser detectada de 1 mm, com 5% de nível de significância, obtendo-se o tamanho da amostra de 14 pacientes por grupo para obtenção do poder de estudo de 80% (www.lee.dante.br).

Seleção dos pacientes e critérios de inclusão e exclusão

Foram avaliados 98 pacientes na Clínica de Periodontia da Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba, UNESP. Os pacientes preencheram um questionário completo sobre a sua saúde geral para avaliar se os mesmos estavam sistemicamente qualificados para participarem do estudo. No presente estudo foram incluídos 34 pacientes portadores de periodontite crônica generalizada. Todos os pacientes foram individualmente informados sobre a natureza do estudo e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Humanos. Os pacientes que

foram enquadrados no estudo tinham que apresentar os seguintes critérios de inclusão (Silva et al. 2011): pacientes com idade ≥ 30 anos e ≤ 70 anos (Matarazzo et al. 2008), com no mínimo 15 dentes, excluindo os terceiros molares e diagnóstico de periodontite crônica generalizada severa, e no mínimo de 6 dentes, com no mínimo 1 sítio cada com profundidade de sondagem (PS) e perda de inserção clínica (NIC) ≥ 5 mm, e no mínimo 30 % dos sítios com PS e NIC ≥ 4 mm e com sangramento à sondagem (SS) (Armitage 1999); presença de pelo menos uma bolsa periodontal profunda (PS ≥ 7 mm), e uma bolsa moderada (PS $\geq 4 \leq 6$ mm) em cada quadrante. Os critérios de exclusão foram os seguintes: desordens médicas que requeressem profilaxia antibiótica ou que pudessem influenciar na resposta do tratamento; terem recebido tratamento periodontal de raspagem e aplainamento radicular nos últimos 6 meses; terem consumido medicamentos que afetam os tecidos periodontais nos últimos 6 meses (antibióticos, anti-inflamatórios, anticonvulsivantes, imunossupressores ou bloqueadores de canais de cálcio); ser portador de alergia a penicilina ou MTZ; fumantes ou ex-fumantes; gravidez; portador de reabilitações protéticas extensas; em tratamento ortodôntico; portadores de desordens metabólicas como diabetes; desordens imunológicas; alcoolismo e uso de drogas ilícitas

Parâmetros Clínicos

Os exames clínicos de todos os pacientes foram realizados por um profissional cego aos tratamentos e calibrado (ABL). No exame clínico foi avaliado o índice de placa visível (IPV- presente ou ausente) de acordo com Ainamo & Bay (1975) nos seis sítios de todos os dentes da cavidade bucal. Na seqüência, foram realizados os exames de Profundidade à Sondagem (PS), Sangramento à Sondagem (SS – presente ou ausente) e Nível de Inserção Clínica (NIC) (Armitage 2004) em todos os seis sítios da cavidade bucal. Todos estes parâmetros clínicos foram realizados com sonda periodontal milimetrada (PCPUNC-15, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA) e anotados. Todos os exames clínicos foram realizados por

um único examinador calibrado e cego ao estudo no início (antes do tratamento), 90 e 180 dias após os tratamentos.

Foram obtidas médias e desvio-padrão das medidas de PS e NIC de todos os pacientes, para avaliação entre tratamentos e períodos de toda a boca. Os dados categóricos de IPV e SS foram transformados em porcentagens e foram obtidas médias e desvio-padrão de boca toda. Foram avaliadas as reduções das presenças de bolsas residuais (PS ≥ 4 mm com sangramento à sondagem) (Mombelli et al. 2015).

Calibração dos examinadores

No período pré-experimental, foram realizados os procedimentos de calibração de um examinador cego para os tratamentos efetuados nos respectivos pacientes. Para tanto, duzentos e setenta sítios foram analisados em 2 pacientes, quanto a profundidade à sondagem em duas ocasiões distintas (intervalo de 7 dias) e os dados foram submetidos ao teste de Concordância de Kappa ($p \leq 0,05$).

Tratamento

Os 34 pacientes foram divididos aleatoriamente em dois grupos, utilizando um sistema de aleatorização online (www.sealedenvelope.com) e foram montados envelopes por uma pessoa diferente da que realizou os exames clínicos (MLFA), com a distribuição dos tratamentos, os quais foram abertos apenas no dia do tratamento. Somente após os procedimentos de RAR serem realizados nos pacientes, que o profissional (LHT), sorteava e abria o envelope, descobrindo naquele momento, qual o tratamento a ser realizado nos respectivos pacientes.

Os pacientes inicialmente receberam informações detalhadas sobre a etiologia da doença periodontal e instrução de higiene bucal incluindo o uso de escovas dentárias, fio dentário e escova interproximal de acordo com a necessidade. Os parâmetros clínicos iniciais (*Baseline*) foram obtidos 15 dias após este procedimento.

Após a randomização os 34 pacientes foram alocados de acordo com os seguintes grupos de tratamentos: **Grupo MTZ+AMX** (n=17): os pacientes foram submetidos a uma sessão de RAR (Matarazzo et al. 2008, Ribeiro et al. 2009), com duração máxima de 1 hora e meia usando ultrassom e curetas manuais (Hu-Friedy, Chicago, IL, USA) associado com a administração sistêmica de MTZ (400 mg) e AMX (500 mg) 3 X ao dia durante 7 dias (Cionca et al. 2009) ; **Grupo aPDT** (n=17): os pacientes foram submetidos a uma sessão de RAR com duração máxima de 1 hora e meia usando ultrassom e curetas manuais seguido de aplicação de aPDT em todos os sítios com profundidade de sondagem ≥ 4 mm, imediatamente, 48 e 96 horas após a raspagem, e administração de 2 comprimidos placebo três vezes ao dia durante 7 dias.

Os procedimentos de RAR e aPDT foram realizados sob anestesia pela técnica de bloqueio regional por um único operador especialista em periodontia (LHT). O placebo e o antibiótico foram administrados imediatamente após o término da RAR.

A aPDT foi realizada em todos os sítios com profundidade de sondagem ≥ 4 mm, tanto de dentes uni ou multiradiculares. Os sítios selecionados foram irrigados com 1 mL de 10 mg/mL de azul de metileno utilizando uma seringa de insulina e agulha sem bisel (13mm x 0.45mm) (Becton Dickinson Ind. Ltda., Curitiba, PR, Brasil). Após 1 minuto de irrigação com azul de metileno (Aphoticário Farmácia de Manipulação, Araçatuba, SP, Brasil) os sítios foram irradiados com um laser de diodo de AsGaAl com 660 nm (Laser Duo, MM Optics, Ltda, São Carlos, SP, Brasil), durante 48 segundos, totalizando uma dose energética de 160 J/cm^2 , energia de 4,8 J, com potência de 100 mW e fibra óptica com

diâmetro de saída de 0,03 cm², imediatamente 48 e 96 horas após a raspagem. A ponta da fibra ótica do laser foi introduzida na área da bolsa periodontal, paralelamente ao longo eixo do dente, até atingir o fundo da bolsa. Todos os pacientes bem como o operador usaram óculos de proteção específico, durante todo o período de irradiação.

O placebo utilizado no presente estudo foi um talco farmacêutico (Talco Pharma SM-200; Henrifarma Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda, São Paulo, SP, Brasil) que é um pó branco ou quase branco, untuoso, livre de areosidade, inodoro e praticamente insolúvel em água e em álcool. Os medicamentos placebos e os antibióticos utilizados foram manipulados por uma Farmácia especializada de manipulação (Aphoticário Farmácia de Manipulação, Araçatuba, SP, Brasil) e armazenados em cápsulas, que foram mantidas em 2 frascos identificados: um frasco representando a AMX (500 mg) e outro representando o MTZ (400 mg). Foram administradas 2 cápsulas do placebo (1 de cada frasco), 3x ao dia por sete dias, sem o conhecimento do paciente de que seria um placebo e da mesma forma o medicamento foi administrado. Nos medicamentos e nos placebos, constavam descrições diferentes no rótulo da embalagem, somente para o cirurgião-dentista diferenciá-los.

Acompanhamento do paciente

Os pacientes foram chamados 8 dias após o início do procedimento para avaliação clínica dos tratamentos. Neste período a história médica, o uso de algum medicamento concomitante e todos os efeitos adversos relatados pelo paciente foram anotados. Além disto, foi solicitado aos pacientes retornarem os frascos dos medicamentos utilizados para checagem do uso total dos medicamentos e avaliação da adesão ao tratamento (Pullar et al. 1989). Nos pacientes também eram feitos controles do biofilme nos períodos de reavaliação, aos 90 e 180 dias, utilizando taças de borracha e pasta profilática. Além disso,

quando havia cálculo supra-gengival, este era removido com curetas manuais, não atingindo a região subgengival tratada anteriormente.

Análise Estatística

Os dados coletados foram tabulados e distribuídos em médias da avaliação geral dos parâmetros PS, NIC, SS, IPV, bolsas residuais e em redução de PS e NIC da avaliação geral e de bolsas moderadas e bolsas profundas. Cada grupo de dados foi submetido ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e foram submetidos ao teste de ANOVA seguido do teste de Tukey (análise intragrupo de PS, NIC e IPV) ou Teste T – Student (análise intergrupo de idade, PS, SS, IPV, bolsas residuais; análise inter e intragrupo de redução de PS e NIC). Para os dados não paramétricos foram utilizados o teste de Friedman (análise intragrupo de SS e Bolsas Residuais) ou Teste Mann-Whitney (análise intergrupo de NIC). Para todas as análises foi adotado nível de significância de 5% e foi utilizado software BIOESTAT 5.3 (Instituto Mamirauá, Manaus-AM, Brasil).

3. Resultados

Todos os pacientes recrutados (34) foram submetidos aos tratamentos propostos. Foram tratados 18 homens e 16 mulheres (32- 69 anos). Destes 34 pacientes, foram excluídos da pesquisa 10 pacientes devido ao: uso de medicamentos como anti-inflamatórios (6); mudança de cidade (1) e por não comparecerem a terceira reavaliação de 6 meses (3) (Figura 1).

Achados clínicos

Após 8 dias de avaliação os 6 pacientes do grupo MTZ+AMX tratados, relataram problemas gastrointestinais, tais como: dores de estômago, vômito, diarreia e também gosto amargo na boca após o uso dos antibióticos, enquanto somente 1 paciente do grupo aPDT mencionou dor no estômago. Com relação à adesão ao tratamento todos os pacientes aderiram completamente ao uso dos antibióticos e dos placebos.

Na análise intragrupo da PS, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as médias de boca toda entre os três períodos do estudo (baseline, 90 e 180 dias) em ambos os grupos. Na análise intergrupo não houve diferenças estatisticamente significativas na PS entre os grupos em nenhum período ($P>0,05$; Tabela 1). Com relação ao NIC houve ganho estatisticamente significante aos 90 dias, quando comparado ao baseline nos grupos MTZ+AMX e aPDT ($P<0,05$; Tabela 1).

Na análise dos dados de SS e da porcentagem de bolsas residuais houve redução estatisticamente significante no período de 90 e 180 dias após tratamento, em comparação ao baseline, em ambos os grupos ($P<0,05$; Tabela 1; Figura 2). Com relação ao IPV houve

redução significativa no grupo aPDT aos 90 e 180 dias e aos 90 dias no grupo MTZ+AMX ($P<0,05$).

Quando avaliadas as reduções de PS e ganho de inserção das bolsas moderadas e bolsas profundas, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($P>0,05$). Com relação às bolsas moderadas, no grupo MTZ+AMX não houve diferença estatiticamente significantes nas reduções de PS e ganhos de NIC de baseline e 90 com baseline e 180 dias ($P>0,05$; Tabela 2) e no grupo aPDT não houve diferença estatiticamente significativa de redução de PS de baseline e 90 com baseline e 180 dias ($P>0,05$; Tabela 3), mas houve estatisticamente ganho de NIC entre baseline e 90 dias, quando comparado com baseline e 180 dias ($P=0,0238$; Tabela 3). Com relação às bolsas profundas, em ambos os grupos não houve diferença estatiticamente significativa nas reduções de PS e NIC de baseline e 90 com baseline e 180 dias ($P>0,05$; Tabelas 2 e 3).

4. Discussão

Na análise dos resultados intragrupo do parâmetro PS, não foram encontradas diferenças clínicas estatisticamente significantes entre as médias de boca toda entre os três períodos do estudo (baseline, 90 e 180 dias) em ambos os grupos e não houve diferenças estatisticamente significativas na PS entre os grupos avaliados em cada período. No entanto, com relação ao NIC em ambos os grupos houve ganho de inserção estatisticamente significativa aos 90 dias em comparação ao baseline.

Recente meta-análise sobre o uso sistêmico coadjuvante de antibióticos no tratamento não cirúrgico da periodontite mostrou uma redução de PS, estatisticamente significativa ($0,55 \pm 0,37$ mm, em média) após a utilização de MTZ+AMX, em comparação com a RAR isolada após 12 meses (Keestra et al. 2015). Estudos tem demonstrado que em adultos com periodontite crônica, a RAR acompanhada pela utilização de um coadjuvante antimicrobiano é mais efetiva no tratamento periodontal que a RAR isolada (Mombelli et al. 2011).

Neste estudo preconizou-se um protocolo de RAR de boca toda com abordagem no prazo de 24 horas, por se tratar de tratamento eficiente (Quirynen et al. 2000), para padronizar os períodos seguintes de aplicação da aPDT, com intervalos de 48 horas.

Em relação à aPDT, tem sido descrita como uma abordagem segura e que proporciona potenciais melhorias nos parâmetros clínicos combinada com à RAR (Atieh 2010). Entretanto, alguns estudos clínicos não encontraram efeitos benéficos na associação dessas terapias (Christodoulides et al. 2008, Balata et al. 2013).

Outros estudos evidenciaram que os locais tratados com aPDT como coadjuvante à RAR alcançou maiores reduções de PS e ganhos significantes de inserção clínica em comparação com RAR isolada, na terapia periodontal inicial de pacientes com periodontite crônica (Braun et al. 2008, Corrêa et al. 2015). Quando aPDT foi utilizada em uma única sessão, no tratamento da periodontite crônica não proporcionou vantagens clínicas na redução de PS e no ganho de NIC, em alguns estudos clínicos em humanos (Polansky et al. 2009, Theodoro et al. 2012), no entanto, em outros estudos aPDT foi capaz de reduzir o SS de sítios tratados (Chondros et al. 2008, Cristodoulides et al. 2008, Ge et al. 2011).

Por outro lado, na avaliação do efeito de múltiplas aplicações de aPDT no tratamento periodontal de bolsas residuais, melhoras clínicas na redução de PS com redução de SS foram observadas (Lulic et al. 2009, Müller Campanile et al. 2015). No entanto, outro estudo que realizou três aplicações de aPDT em bolsas residuais no primeiro, terceiro e sétimo dia após a RAR não demonstrou melhoras clínicas em relação aos parâmetros PS e NIC, apenas maior redução de SS aos 3 e 12 meses comparado à RAR isolada (Petelin et al. 2014). Estudo recente que comparou o uso de antibiotioterapia (375 mg de AMX + 250 mg de MTZ) com duas aplicações de aPDT no tratamento de periodontite agressiva, demonstrou maiores benefícios com o uso da antibioticoterapia (Arweiler et al. 2014). Porém, no presente estudo utilizou-se um protocolo com 3 aplicações de aPDT, com intervalo de 48 horas e se mostrou eficaz, tanto quanto à antibioticoterapia no tratamento periodontal.

As discrepâncias nos resultados dos estudos em relação à aPDT, podem ser justificadas devido à diferentes metodologias e protocolos empregados nos estudos clínicos. Vários fatores podem influenciar o resultado da aPDT como característica e concentração do fotossensibilizador utilizado, duração do tempo de pré-irradiação, dispositivos de aplicação da luz, comprimentos de onda, potência de saída da luz e tempo de irradiação (Polansky et

al. 2009, Garcia et al. 2011) os quais são divergentes em diferentes pesquisas. Assim, estas discordâncias entre os estudos podem influenciar nos resultados clínicos, impedindo comparações diretas entre as análises (Corrêa et al. 2015).

No mecanismo de ação da aPDT, o fotossensibilizador absorve a energia diretamente do laser e o transfere para as moléculas de oxigênio, promovendo a formação de espécies reativas de oxigênio (reação tipo I) e oxigênio singlete (reação tipo II) (Ochsner et al. 1997, Tardivo et al. 2005) que são altamente citotóxicos para as bactérias.

Com relação à efeitos adversos 6 pacientes do grupo MTZ+AMX, inclusos neste estudo, relataram problemas gastrointestinais, tais como: dores de estômago, vômito, diarreia e também gosto amargo na boca após o uso dos antibióticos, enquanto somente 1 paciente do grupo aPDT mencionou dor no estômago. Efeitos adversos devido ao uso de terapia com antibióticos também foram observados em outros estudos (Guerrero et al. 2005, Gerrero et al. 2007, Oberoi et al. 2014). Diversos estudos também relataram muitos efeitos colaterais indesejáveis que podem surgir, tais como náuseas, vômito, diarreia, gastrite, úlceras, outros transtornos digestivos, alergias e desenvolvimento de resistência pelos microrganismos devido ao uso de diferentes tipos de antibióticos (Friedman & Golomb 1982, Addy & Langeroudi 1984, Brook & Van Noort 1984, Joyston-Bechal & Emslie 1987, Friedman & Steinberg 1990, Greenstein 1995, Tinoco et al. 1998).

O metabolito hidroxilado do MTZ é de três a quatro vezes mais ativo contra *A. actinomycetemcomitans* atuando sinergicamente com a AMX contra este patógeno (Pavicic et al. 1992). Por este motivo, o MTZ, em combinação com AMX, tem sido mostrado ser eficaz no tratamento contra *A. actinomycetemcomitans* na doença periodontal associada (Winkel et al. 2001). Entretanto, o uso de terapia com antibióticos causa muitas vezes efeitos colaterais indesejáveis que envolvem o sistema digestivo e trato genito-urinário,

bem como o desenvolvimento de resistência bacteriana (Guerrero et al. 2005, Gerrero et al. 2007, Oberoi et al. 2014).

Várias dosagens de antibióticos foram anteriormente utilizadas nos diferentes estudos avaliando o efeito da RAR em combinação com antibióticos, mas a dose ideal ou combinação de antibióticos para o tratamento da periodontite ainda não foi claramente definida (Cosgarea et al. 2016). Muitos estudos avaliando AMX como coadjuvante à RAR, utilizaram doses de 375 a 500 mg três vezes por dia durante 7-14 dias (Van Winkelhoff et al. 1989, Guerrero et al. 2005, Matarazzo et al. 2008, Cionca et al. 2009, Yek et al. 2010, Griffiths et al. 2011, Silva et al. 2011, Feres et al. 2012). Estudos avaliando MTZ usaram doses de 250 a 400 mg (Lindhe et al. 1983, Van Winkelhoff et al. 1989, Loesche et al. 1992, Winkel et al. 2001, Ehmke et al. 2005, Matarazzo et al. 2008, Silva et al. 2011). Estudo clínico recente comparou MTZ+AMX (ambos 500 mg x 3 vezes ao dia) durante 3 dias e MTZ+AMX (ambos 500 mg x 3 vezes ao dia), durante 7 dias. Os resultados mostraram que tanto o regime de 3 dias de antibióticos, quanto o de 7 dias, promoveu melhora nos parâmetros clínicos periodontais (Cosgarea et al. 2016). Entretanto, o mais importante é que o antibiótico deve ser administrado em uma dose bactericida adequada, por um período de tempo apropriado (Cosgarea et al. 2016).

Além disso, embora uma vantagem terapêutica notável foi mostrada quando MTZ+AMX são utilizados em terapia periodontal, algumas questões relativas ao protocolo para o uso desses medicamentos permanecem obscuros, tais como: "Qual seria a melhor fase da terapia periodontal convencional para o tratamento da administração de antibióticos?" (Fritoli et al. 2015). Alguns estudos compararam os efeitos da administração de antibióticos sistêmicos em diferentes fases de terapia mecânica. O primeiro estudo publicado sugeriu que havia maiores benefícios clínicos quando MTZ+AMX foram prescritos durante a fase ativa da terapia periodontal do que após a fase de cura. Indivíduos

com periodontite agressiva, tratados com antibióticos em conjunto com RAR na fase inicial do tratamento, mostraram uma maior redução na PS e maior ganho de NIC nas bolsas periodontais profundas do que indivíduos tratados com antibióticos 6 meses após a RAR (Griffiths et al. 2011). Outro estudo avaliou a administração de MTZ+AMX em pacientes com periodontite crônica, durante a terapia periodontal não cirúrgica e também na fase de tratamento cirúrgico. Ambos os períodos produziram resultados semelhantes à longo prazo, porém o uso dos antibióticos na terapia inicial não cirúrgica, fez com que a doença fosse contida mais rápido, reduzindo portanto a necessidade de intervenção cirúrgica adicional (Mombelli et al. 2015). Verificou-se, em vários estudos, que o uso do MTZ associado AMX no tratamento da periodontite crônica e agressiva, foi realizado durante a fase ativa do tratamento periodontal (Cionca et al. 2009, Yek et al. 2010, Silva et al. 2011, Mestnik et al. 2012, Feres et al. 2012, Silva-Senem et al. 2013, Soares et al. 2014).

A administração imediata após a desorganização do biofilme deve ser preferida para que a eficácia do antimicrobiano seja alcançada e a recolonização bacteriana adiada ou bloqueada (Cionca et al. 2009).

Sabe-se que a variabilidade da dosagem, frequência, momento da utilização e escolha do antibiótico remete a questionamentos sobre a necessidade de determinar protocolos efetivos para esta terapia (Amorim & Gurgel 2016). Assim, pode-se inferir que é necessário o desenvolvimento de futuros estudos para avaliar a melhor dosagem, em relação à efetividade e à ocorrência de eventos adversos e adesão do paciente ao protocolo de tratamento.

A colaboração e a aderência do paciente ao regime antibiótico prescrito pode ser um problema na terapia com antimicrobianos sistêmicos (Smith et al. 2002, Guerrero et al. 2007, Haffajee et al. 2007). A restrição ao consumo de bebida alcoólica durante o uso de

antibióticos (López et al. 2000), também pode interferir na participação do paciente. No presente estudo, todos os pacientes foram orientados a não ingerir bebida alcoólica na semana do tratamento. No entanto, somente 1 paciente do grupo MTZ+AMX questionou se haveria possibilidade de consumir bebidas alcoólicas.

Neste estudo foi avaliada também a adesão dos pacientes em consumir tanto o antibiótico como o placebo através da contagem dos comprimidos no frasco após 7 dias. Todos os 34 pacientes que foram tratados neste estudo, relataram a adesão ao tratamento, não havendo também comprimidos residuais nos frascos. Guerrero et al. (2005) mostraram que, apesar da presença dos efeitos adversos, a adesão integral dos pacientes foi elevada, utilizando o mesmo método de avaliação. Este método é frequentemente recomendado e é amplamente utilizado em ensaios clínicos para o controle da aceitação (Pullar et al. 1989).

Em relação às bolsas residuais, estas representam um desafio para terapia periodontal convencional, visto que várias sessões de RAR podem não aumentar o sucesso do tratamento em bolsas periodontais previamente tratadas durante a primeira instrumentação (Anderson et al. 1996, Jenkins et al. 2000). No presente estudo, houve redução significativa da porcentagem de bolsas residuais em ambos os grupos no período de 90 e 180 dias após o tratamento, demonstrando que o uso de antibióticos sistêmico e três sessões de aPDT podem beneficiar de forma semelhante o tratamento periodontal não cirúrgico, diminuindo a recorrência da doença periodontal em longo prazo, e ocasionando menores danos aos tecidos dentários mineralizados.

Com relação ao SS, houve uma melhora significativa, ou seja, uma redução do SS no Grupo MTZ+AMX nos períodos de 90 e 180 dias. Estes resultados são corroborados em outro estudo em que o uso da RAR associada ao MTZ e AMX promoveu a diminuição dos sinais clínicos de inflamação e biomarcadores inflamatórios no fluido do sulco gengival (Giannopoulou et al. 2006). No presente estudo também houve diminuição do SS no Grupo

aPDT aos 90 e 180 dias após o tratamento. Estudo prévio demonstrou que sítios tratados somente com aPDT apresentaram níveis aumentados de IL-4 e IL-10 (anti-inflamatórias) e redução de GM-CSF, IL-1b, IL-6 (pró-inflamatórias) proporcionando uma importante modulação nos níveis de citocinas (Kolbe et al. 2014). Assim as terapias coadjuvantes propostas poderiam diminuir a necessidade de retratamento, reduzindo o custo de tratamentos repetidos, além de não expor o paciente ao desconforto de várias sessões de RAR, que poderiam também causar maiores danos aos tecidos mineralizados e produzir maior recessão gengival.

Diante dos resultados desse estudo, pode-se concluir que ambos os tratamentos avaliados associados ao tratamento mecânico convencional em pacientes com periodontite crônica, foram efetivos no ganho de inserção clínica, no controle da inflamação e na eliminação de bolsas residuais.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem a disciplina de Periodontia, da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, da Universidade Estadual Paulista, UNESP, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP pela concessão de bolsa de mestrado (Processo FAPESP 2014/11637-2).

6. Referências

Addy, M., Langeroudi, M. (1984) Comparison of the immediate effects on the subgingival microflora of acrylic strips containing 40% chlorhexidine, metronidazole or tetracycline. *J. Clin. Periodontol* **11**, 379-386.

Adriaens, P.A., De Boever, J.A., Loesche, W.J. (1988) Bacterial invasion in root cementum and radicular dentin of periodontally diseased teeth in humans. A reservoir of periodontopathic bacteria. *J Periodontol* **59**, 222-230.

Ainamo, J. & Bay, I. (1975) Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J* **25**, 229-235.

Almeida, J.M., Theodoro, L.H., Bosco, A.F., Nagata, M.J.H., Oshiiwa, M., Garcia, V.G. (2007) Influence of photodynamic therapy on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodontol* **78**, 566-575.

Almeida, J.M., Theodoro, L.H., Bosco, A.F., Nagata, M.J., Oshiiwa, M., Garcia, V.G. (2008a) In Vivo Effect of Photodynamic Therapy on Periodontal Bone Loss in Dental Furcations. *J Periodontol* **79**, 1081-1088.

Almeida, J.M., Theodoro, L.H., Bosco, A.F., Nagata, M.J., Bonfante, S., Garcia, V.G. (2008b) Treatment of experimental periodontal disease by photodynamic therapy in rats with diabetes. *J Periodontol* **79**, 2156-2165.

Amano, A. (2007) Disruption of epithelial barrier and impairment of cellular function by *Porphyromonas gingivalis*. *Front Biosci* **12**, 3965-3974.

Amorim, A.G., Gurgel, B.C.V. (2016) Uso de antibióticos sistêmicos adjuntos à raspagem e alisamento radicular no tratamento da periodontite crônica e periodontite agressiva: uma revisão integrativa da literatura. *Braz J Periodontol* **26**, 39-48.

Andersen, R., Loebel, N., Hammond, D., Wilson, M. (2007) Treatment of periodontal disease by photodisinfection compared to scaling and root planing. *J. Clin. Dent* **18**, 34-38.

Anderson, G.B., Palmer, J.A., Bye, F.L., Smith, B.A., Caffesse, R.G. (1996) Effectiveness of subgingival scaling and root planing: Single versus multiple episodes of instrumentation. *J Periodontol* **67**, 367–373.

Aoki, A., Sasaki, K.M., Watanabe, H., Ishikawa I. (2004) Laser in non-surgical periodontal therapy. *Periodontology 2000* **36**, 59-97.

Ardila, C.M., Granada, M.I., Guzman, I.C. (2010) Antibiotic resistance of subgingival species in chronic periodontitis patients. *J Periodont Res* **45**, 557–563.

Armitage, G.C. (1999) Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of Periodontology* **4**, 1-6.

Armitage, G.C. (2004) The complete periodontal examinations. *Periodontol 2000* **34**, 22-33.

Arweiler, N.B., Pietruska, M., Pietruski, J., Skurska, A., Dolińska, E., Heumann, C., Auschill, T.M., Sculean, A. (2014) Six-month results following treatment of aggressive periodontitis with antimicrobial photodynamic therapy or amoxicillin and metronidazole. *Clin Oral Investig* **18**, 2129-35.

Atieh, M.A. (2010) Photodynamic therapy as an adjunctive treatment for chronic periodontitis: A meta-analysis. *Lasers Med Sci* **25**, 605–613.

Badersten, A., Nilvéus, R., Egelberd, J. (1981) Effect of nonsurgical periodontal therapy. I. Moderately advanced periodontitis. *J Clin Periodontol* **8**, 57-72.

Badersten, A., Nilvéus, R., Egelberg, J. (1984) Effect of nonsurgical periodontal therapy. II. Severely advanced periodontitis. *J Clin Periodontol* **11**, 63–76.

Balata, M.L., Andrade, L.P., Santos, D.B., Cavalcanti, A.N., 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**:208–214.

Bidault, P., Chandad, F., Grenier, D. (2007). Risk of Bacterial Resistance Associated with Systemic Antibiotic Therapy in Periodontology. *J Can Dent Assoc* **73**, 721-5.

Braun, A., Dehn, C., Krause, F., Jepsen, S. (2008) Short term clinical effects of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in periodontal treatment: A randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* **35**, 877–884.

Brook, I., M., Van Noort., R. (1984) Controlled delivery of drugs. A review of polymer-based devices. *Br. Dent. J* **157**, 11-15.

Carvalho, L.H., D’Avila, G.B., Leão, A., Haffajee, A.D., Socransky, S.S., Feres, M. (2004) Scaling and root planning, systemic metronidazole and professional plaque removal in the treatment of chronic periodontitis in a Brazilian population. I. Clinical results. *J Clin Periodontol* **31**, 1070-6.

Cazalis, J., Tanabe, S., Gagnon, G., Sorsa, T., Grenier, D. (2009) Tetracyclines and chemically modified tetracycline-3 (CMT-3) modulate cytokine secretion by lipopolysaccharide-stimulated whole blood. *Inflammation* **32**, 130–7.

Chondros, P., Nikolidakis, D., Christodoulides, N., Rössler, R., Gutknecht, N., Sculean, A. (2009) Photodynamic therapy as adjunct to non-surgical periodontal treatment in patients on periodontal maintenance: a randomized controlled clinical trial. *Lasers Med Sci* **24**, 681-688.

Christodoulides, N., Nikolidakis, D., Chondros Becker J., Schwarz, F., Rössler, R., Sculean, A. (2008) Photodynamic therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: A randomized controlled clinical trial. *J Periodontol* **79**, 1638–1644.

Cionca, N., Giannopoulou, C., Ugolotti, G., Mombelli, A. (2009) Amoxicillin and Metronidazole as an adjunct to full-mouth scaling and root planning of chronic periodontitis. *J. Periodontology* **80**, 364-71.

Cionca, N., Giannopoulou, C., Ugolotti, G., Mombelli, A. (2010) Microbiologic testing and outcomes of full-mouth scaling and root planning with or without Amoxycilin/Metronidazole in Chronic periodontitis. *J Periodontal* **81**, 15-23.

Cobb, C.M. (2002) Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence based perspective of scaling and root planning. *J Clin Periodontol* **29**, 6-16.

Corrêa, M.G., Oliveira, D.H., Saraceni, C.H.C., Ribeiro, F.V., Pimentel, S.P., Cirano, F.R., Casarin, R.C.V. (2015) Short-Term Microbiological Effects of Photodynamic Therapy in Non-Surgical Periodontal Treatment of Residual Pockets: A Split-Mouth RCT. *Lasers in Surgery and Medicine*. doi: 10.1002/lsm.22449.

Cosgarea, R., Juncar, R., Heumann, C., Tristiu, R., Lascu, L., Arweiler, N., Stavropoulos, A., Sculean, A. (2016) Non-surgical periodontal treatment in conjunction with 3 or 7 days systemic administration of amoxicillin and metronidazole in severe chronic periodontitis patients. A placebo-controlled randomized clinical study. *J Clin Periodontol* **43**, 767-77.

Doyle, C.J., Fitzsimmons, T.R., Marchant, C., Dharmapatni, A.A.S.S.K., Hirsh, R., Bartold, P.M. (2015) Azithromycin suppresses P.gingivalis LPS-induced proinflammatory cytokine and chemokine production by human gingival fibroblasts in vitro. *Clin Oral Invest* **19**, 221-7.

Ehmke, B; Moter, A; Beikler, T., Milian, E., Flemmig, T. (2005). Adjunctive Antimicrobial Therapy of Periodontitis: Long-Term Effects on Disease Progression and Oral Colonization. *J Periodontol* **76**, 749 – 759.

Feres, M., Haffajee, A.D., Allaard, K., Som, S., Goodson, J.M., Socransky, S.S. (2002) Antibiotics resitence of subgingival species during and after antibiotic therapy. *J Clin Periodontol* **29**, 724-735.

Feres, M., Soares, G. M., Mendes, J. A., Silva, M. P., Faveri, M., Teles, R., Socransky, S. S. & Figueiredo, L. C. (2012) Metronidazole alone or with amoxicillin as adjuncts to non-surgical treatment of chronic periodontitis: a 1-year double-blinded, placebo controlled, randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* **39**, 1149-1158. doi:10.1111/jcpe.12004.

Fernandes, L.A. et al. (2009) Treatment of experimental periodontal disease by photodynamic therapy in immunosuppressed rats. *J. Clin. Periodontol* **35**, 219-228.

Friedman, M., Golomb, G. (1982) New sustained release dosage form of chlorhexidine for dental use. I- development and kinetics of release. *J. Periodontal Res* **17**, 323-328.

Friedman, M., Steinberg., D. (1990) Sustained release delivery systems for treatment of dental diseases. *Pharm. Res* **7**, 313-317.

Fritoli, A., Gonçalves, C., Faveri, M., Figueiredo, L.C., Pérez-Chaparro, P.J., Fermiano, D., Feres, M. (2015) The effect of systemic antibiotics administered during the active

phase of non-surgical periodontal therapy or after the healing phase: a systematic review. *J Appl Oral Sci* **23**, 249-54.

Garcia, V.G, Gualberto Júnior, E.C., Fernandes, L.A, Bosco, A.F., Hitomi Nagata, M.J., Casatti, C.A., Ervolino, E., Theodoro, L.H. (2013) Adjunctive Antimicrobial Photodynamic Treatment of Experimentally Induced Periodontitis in Ovariectomized Rats. *J Periodontol* **84**, 556-565.

Garcia, V.G., Fernandes, L.A., Macarini, V.C., de Almeida, J.M., Martins, T.M., Bosco, A.F., Nagata, M.J.H., Cirelli, J.A., Theodoro, L.H. (2011) Treatment of experimental periodontal disease with antimicrobial photodynamic therapy in nicotine-modified rats. *J Clin Periodontol* **38**, 1106-1114.

Garcia, V.G., Longo, M., Gualberto Júnior, E.C., Bosco, A.F., Nagata, M.J., Ervolino, E., Theodoro, L.H. (2014) Effect of the concentration of phenothiazine photosensitizers in antimicrobial photodynamic therapy on bone loss and the immune inflammatory response of induced periodontitis in rats. *J Periodontal Res.* **49**, 584-594.

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**, 33-37.

Giannopoulou, C., Andersen, E., Brochut, P., Plagnat, D., Mombelli, A. (2006) Enamel matrix derivative and systemic antibiotics as adjuncts to non-surgical periodontal treatment: biologic response. *J Periodontol* **77**, 707–713.

Greenstein, G. (1995) Clinical significance of bacterial resistance to tetracyclines in the treatment of periodontal diseases. *J. Periodontol* **66**, 925-932.

Griffiths, G.S., Ayob, R., Gerrero, A., Nibali, L., Suvan, J., Moles, DR., et al. (2011) Amoxicillin and metronidazole as adjunctive treatment in generalized aggressive periodontitis at initial therapy or retreatment: a randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* **38**, 43-9.

Guerrero, A., Echeverría, J.J., Tonetti, M.S. (2007) Incomplete adherence to an adjunctive systemic antibiotic regimen decreases clinical outcomes in generalized aggressive periodontitis patients: a pilot retrospective study. *J Clin Periodontol* **34**, 897–902.

Guerrero, A., Griffiths, G. S., Nibali, L., Suvan, J., Moles, D. R., Laurell, L. & Tonetti, M. S. (2005) Adjunctive benefits of systemic amoxicillin and metronidazole in non-surgical treatment of generalized aggressive periodontitis: a randomized placebo-controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology* **32**, 1096–1107.

Haffajee, A.D., Cugini M.A., Dibart, S.S., Kent J.R R.L, Socransky, S.S. (1997) The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *J Clin Periodontol* **24**,324-34.

Haffajee, A.D., Torresyap, G., Socransky, S.S. (2007) Clinical changes following four different periodontal therapies for the treatment of chronic periodontitis: 1-year results. *J Clin Periodontol* **34**, 243-253.

Heller, D., Varela, V. M., Silva-Senem, M. X., Torres, M. C., Feres-Filho, E. J. & Colombo, A. P. (2011) Impact of systemic antimicrobials combined with anti-infective mechanical debridement on the microbiota of generalized aggressive periodontitis: a 6-month RCT. *J Clin Periodontol* **38**, 355-364. doi:10.1111/j.1600- 051X.2011.01707.x.

Ishikawa, I., Aoki, A., Takasaki A.A., Mizutani, K., Sasaki, K.M., Izumi, Y. (2009) Application of lasers in periodontics: true innovation or myth? *Periodontology 2000* **50**, 90-126.

Jenkins, W.M., Said, S.H., Radvar, M., Kinane, D.F. (2000) Effect of subgingival scaling during supportive therapy. *J Clin Periodontol* **27**, 590–596.

Joyston-BechaL, S., Emslie, R. D. (1987) Topical and systemic antimicrobial agents in the treatment of chronic gingivitis and periodontitis. *Int. Dent. J* **37**, 52-62.

Keestra, J. A., Grosjean, I., Coucke, W., Quirynen, M. & Teughels, W. (2015) Non-surgical periodontal therapy with systemic antibiotics in patients with untreated chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontal Res* **50**, 294-314. doi:10.1111/jre.12221.

Kocher, T., Fanghanel, J., Sawaf , H., Litz, R (2001) Substance loss caused by scaling with different sonic scaler inserts—an in vitro study. *J Clin Periodontol* **28**, 9–15.

Kolbe, M.F., Ribeiro, F.V., Luchesi, V.H., Casarin, R.C., Sallum, E.A., NocitiFHJr, Ambrosano, G.M., Cirano. F.R., Pimentel, S.P., Casati, M.Z. (2014) Photodynamic therapy during supportive periodontal care: Clinical, microbiologic, immunoinflammatory, and patient-centered performance in a split-mouth. *Journal of Periodontology* **85**, 277-86.

Lindhe, J., Liljenberg, B., Adielson, B. & Borjesson, I. (1983) Use of metronidazole as a probe in the study of human periodontal disease. *J Clin Periodontol* **10**, 100-112.

Listgarten, M.A., Lindhe, J; Helldén, L. (1978) Effect of tetracycline and/or scaling on human periodontal disease. Clinical, microbiological and histological observations. *J Clin Periodontol* **5**, 246-71.

Loesche, W.J., Giordano, J.R., Hujoel, P., Schwarcz, J., Smith, B.A. (1992) Metronidazole in periodontitis: reduced need for surgery. *J Clin Periodontol* **19**, 103–112.

López, N.J., Gamonal, J.A., Martinez, B. (2000) Repeated metronidazole and amoxicillin treatment of periodontitis. A follow-up study. *J. Periodontol* **71**, 79-89.

Lulic, M., Leiggener Görög, I., Salvi, G.E., Ramseier, C.A., Mattheos, N., Lang, N.P. (2009) One-year outcomes of repeated adjunctive photodynamic therapy during periodontal maintenance: a proof-of-principle randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* **36**, 661-666.

Matarazzo, F., Figueiredo, L.C., Cruz, S.E., Faveri, M., Feres, M. (2008) Clinical and microbiological benefits of systemic metronidazole and amoxicillin in the treatment of smokers with chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled study. *J Clin Periodontol* **35**, 885–896.

Mestnik, M. J., Feres, M., Figueiredo, L. C., Duarte, P. M., Lira, E. A. & Faveri, M. (2010) Short-term benefits of the adjunctive use of metronidazole plus amoxicillin in the microbial profile and in the clinical parameters of subjects with generalized aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol* **37**, 353-365. doi:10.1111/j.1600-051X.2010.01538.x.

Mestnik, M. J., Feres, M., Figueiredo, L. C., Soares, G., Teles, R. P., Fermiano, D., Duarte, P. M. & Faveri, M. (2012) The effects of adjunctive metronidazole plus amoxicillin in the treatment of generalized aggressive periodontitis: a 1-year double-blinded, placebo-controlled, randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* **39**, 955-961. doi:10.1111/j.1600-051X.2012.01932.x.

Moher, D., Hopewell, S., Schulz, K.F., Montori, V., Gøtzsche, P.C., Devereaux, P.J., Elbourne D, Egger M, Altman DG; CONSORT. (2012) CONSORT 2010 explanation and

elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *Int J Surg* **10**, 28-55.

Mombelli, A., Schmid, B., Rutar, A., Lang, N.P. (2000) Persistence patterns of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* after mechanical therapy of periodontal disease. *J Periodontol* **71**, 14-21.

Mombelli, A. (2006) Heresy? Treatment of chronic periodontitis with systemic antibiotics only. *J Clin Periodontol* **33**, 661–662.

Mombelli, A., Cionca, N., Almaghlouth, A. (2011) Does adjunctive antimicrobial therapy reduce the perceived need for periodontal surgery? *Periodontol 2000* **55**, 205-216.

Mombelli, A., Cionca, N., Almaghlouth, A., Decaillet, F., Courvoisier, D.S., Giannopoulou C. (2013) Are there specific benefits of amoxicillin plus metronidazole in *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*-associated periodontitis? Double-masked, randomized clinical trial of efficacy and safety. *J Periodontol* **84**, 715-24.

Mombelli, A., Almaghlouth, A., Cionca, N., Courvoisier, D.S., Giannopoulou, C. (2015) Differential benefits of amoxicillin-metronidazole in different phases of periodontal therapy in a randomized controlled crossover clinical trial. *J Periodontol* **86**, 367-375.

Müller Campanile, V.S., Giannopoulou, C., Campanile, G., Cancela, J.A., 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**, 27–34.

Muniz, F.W. M. G., Oliveira, C. C., Carvalho, R. S., Moreira, M. M. S. M., Moraes., M. E. A., Martins, R. S. (2013) Azithromycin: a new concept in adjuvant treatment of periodontitis. *Eur J Pharmacol*. **705**, 135- 9.

Oberoi, S.S., Dhingra, C., Sharma, G., Sardana, D. (2014) Antibiotics in dental practice: how justified are we. *Int Dent J*. **65**, 4-10.

Ochsner, M. (1997) Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours. *J Photochem Photobiol B Biol* **39**, 1-18.

Pavicic M.J., Van Winkelhoff, A.J., Douqué, N.H., Steures, R.W.R., De Graaff, J. (1994) Microbiological and clinical effects of metronidazole and amoxicillin in *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated periodontitis. *J Clin Periodontol* **21**, 107–112.

Pavicic, M.J., Van Winkelhoff, A.J., De Graaff J. (1992) In vitro susceptibility of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* to a number of antimicrobial combinations. *Antimicrob Agents Chemother* **36**, 2634–2638.

Petelin, M., Perkic, K., Seme, K., Gaspirc, B. (2014) Effect of repeated adjunctive antimicrobial photodynamic therapy on subgingival periodontal pathogens in the treatment of chronic periodontitis. *Lasers Med Sci* **30**, 1647-56.

Pinheiro, S.L., Donegá, J.M., Seabra, L.M., Adabo, M.D., Lopes, T., Do Carmo, T.H., Ribeiro, M.C., Bertolini, P.F. (2010) Capacity of photodynamic therapy for microbial reduction in periodontal pockets. *Lasers Med Sci* **25**, 87-91.

Polansky, R., Haas, M., Heschl, A., Wimmer, G. (2009) Clinical effectiveness of photodynamic therapy in the treatment of periodontitis. *J Clin Periodontol* **36**, 575-580.

Pullar, T., Kumar, S., Tindall, H. & Feely, M. (1989) Time to stop counting the tablets? *Clinical Pharmacology and Therapeutics* **46**, 163–168.

Qin, Y., Luan, X., Bi, L., He, G., Bai, X., Zhou, C., Zhang, Z. (2008) Toluidine blue-mediated photoinactivation of periodontal pathogens from supragingival plaques. *Lasers Med Sci* **23**, 49-54.

Quirynen, M., Mongardini, C., Soete, M. et al. (2000) The rôle of chlorhexidine in the one-stage full-mouth disinfection treatment of patients with advanced adult periodontitis. *J Clin Periodontol* **27**, 578–589.

Ribeiro, Edel, P., Bittencourt, S., Zanin, I. C., Bovi Ambrosano, G. M., Sallum, E. A., Nociti, F. H., Goncalves, R. B. & Casati, M. Z. (2009) Full-mouth ultrasonic debridement associated with amoxicillin and metronidazole in the treatment of severe chronic periodontitis. *J Periodontol* **80**, 1254-1264. doi:10.1902/jop.2009.080403.

Rooney, J., Wade, W.G., Sprague, S.V., Newcombe, R.G., Addy, M. (2002) Adjunctive effects to non-surgical periodontal therapy of systemic metronidazole and amoxicillin alone and combined. A placebo controlled study. *J Clin Periodontol* **29**, 342-350.

Serino, G., Rosling, B., Ramberg, P., Hellstrom, M.K., Socransky, S.S., Lindhe, J. (2001) The effect of systemic antibiotics in the treatment of patients with recurrent periodontitis. *J Clin Periodontol* **28**, 411-418.

Sgolastra, F., Gatto, R., Petrucci, A., Monaco, A. (2012) Effectiveness of systemic amoxicillin/metronidazole as adjunctive therapy to scaling and root planning in the treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol* **10**, 1257-1269.

Sgolastra, F., Petrucci, A., Severino, M., Graziani, F., Gatto, R., Monaco, A. (2013) Adjunctive photodynamic therapy to non-surgical treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol* **40**, 514–526.

Silva, M.P., Feres, M., Siroto, T.A., et al. (2011) Clinical and microbiological benefits of metronidazole alone or with amoxicillin as adjuncts in the treatment of chronic periodontitis: A randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* **38**, 828-837.

Silva-senem, M.X., Heller, D., Varela, V. M., Torres, M. C. B., Feres-filho, E.J., Colombo, A.P.V. (2013) Clinical and microbiological effects of systemic antimicrobials combined to an anti-infective mechanical debridement for the management of aggressive periodontitis: a 12-month randomized controlled trial. *J Clin Periodontol* **40**, 242-251.

Smith, S.R., Foyle, D.M., Daniels, J., Joyston-Bechal, S., Smales, F.C., Sefton, A., Williams, J.A. (2002) Double-blind placebo-controlled trial of azithromycin as an adjunct to nonsurgical treatment of periodontitis in adults: clinical results. *J Clin Periodontol* **29**, 54–61.

Soares, G. M. S., Mendes, J. A. V., Silva, M. P., Faveri, M., Teles, R., Socransky, S.S et al. (2014) Metronidazole alone or with amoxicillin as adjuncts to nonsurgical treatment of chronic periodontitis: a secondary analysis of microbiological results from a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* **41**, 366-76.

Socransky, S.S., Haffajee, A.D. (2002) Dental biofilms: Difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000* **28**, 12-55.

Tabita, P.V., Bissada, N.F., Mayburry, J.E. (1981) Effectiveness of supragingival plaque control on the development of subgingival plaque and gingival inflammation in patients with moderate pocket depth. *J Periodontol* **52**, 88-93.

Takasaki, A.A., Aoki, A., Mizutani, K., Schwarz, F., Sculean, A., Wang, C.Y., et al. (2009) Application antimicrobial photodynamic therapy in periodontal and Peri-implant diseases. *Periodontology 2000* **51**, 109-140.

Tardivo, J.P., Del Giglio, A., De Oliveira, C.S., et al (2005) Methylene blue in photodynamic therapy: from basic mechanisms to clinical applications. *Photodiagnosis Photododyn Ther* **2**, 175–191.

Theodoro, L.H., Silva, S.P., Pires, J.R., Soares, G.H., Pontes, A.E., Zuza, E.P., Spolidório, D.M., de Toledo, B.E., Garcia, V.G. (2012) Clinical and microbiological effects of photodynamic therapy associated with nonsurgical periodontal treatment. A 6-month follow-up. *Lasers Med Sci* **27**, 687-693.

Tinoco, E.M., B., Beldi, M.I., Campedelli, F., Lana, M., Loureiro, C.A., Bellini, H.T., Rams, T.E., Tinoco, P.G., Preus, H.R. (1998) Clinical and microbiological effects of adjunctive antibiotics in treatment of localized juvenile periodontitis. A controlled clinical trial. *J. Periodontol* **69**, 1355-1363.

Van Winkelhoff, A.J., Rodenburg, J.P, Goené, R.J., Abbas, F., Winkel, E.G., De Graaff, J. (1989) Metronidazole plus amoxicillin in the treatment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated periodontitis. *J Clin Periodontol* **16**, 128–131.

Van Winkelhoff, A.J., Herrera, Gonzales, D., Winkel, E.G., Dellemijn-Kippuw, N., Vandenbroucke-Grauls, C.M., Sanz, M. (2000) Antimicrobial resistance in the subgingival

microflora in patients with adult periodontitis. A comparison between The Netherlands and Spain. *J Clin Periodontol* **27**, 79–86.

Varela, V. M., Heller, D., Silva-Senem, M. X., Torres, M. C., Colombo, A. P. & Feres-Filho, E. J. (2011) Systemic antimicrobials adjunctive to a repeated mechanical and antiseptic therapy for aggressive periodontitis: a 6-month randomized controlled trial. *J Periodontol* **82**, 1121-1130. doi:10.1902/jop.2011.100656.

Von Troil, B., Needleman, I., Sanz, M. (2002) A systematic review of the prevalence of root sensitivity following periodontal therapy. *J Clin Periodontol* **29**, 173–177.

Winkel, E.G., Van der Weijden, G.A., Van Winkelhoff, A.J., Timmerman, M.F., Van der Velden, U. (2001) Amoxicillin plus metronidazole in the treatment of adult periodontitis patients. A double-blind placebo-controlled study. *J Clin Periodontol* **28**, 296-305.

Yamada Jr, A.M., Hayek, R.R.A., Ribeiro, M.S., (2004) O emprego da terapia fotodinâmica na redução bacteriana em periodontia e implantodontia. *RGO* **52**, 207-210.

Yek, E. C., Cintan, S., Topcuoglu, N., Kulekci, G., Issever, H. & Kantarci, A. (2010) Efficacy of amoxicillin and metronidazole combination for the management of generalized aggressive periodontitis. *J Periodontol* **81**, 964-974. doi:10.1902/jop.2010.090522.

Zandbergen, D., Slot, D.E., Cobb, C.M., Van der Weijden, F.A. (2013) The clinical effect of scaling and root planing and the concomitant administration of systemic amoxicillin and metronidazole: a systematic review. *J Periodontol* **84** 332-351.

Zappa, U., Smith, B., Simona, C., Graf, H., Case, D., Kim, W. (1991) Root substance removal by scaling and root planing. *J Periodontol* **62**, 750–754.

Relevância Clínica

Fundamentação científica para o estudo: Estudos anteriores sugeriram os benefícios adjuvantes de MTZ e AMX ou aPDT no tratamento de periodontite crônica. Porém, poucos estudos compararam múltiplas aplicações da aPDT com o uso do MTZ e AMX em pacientes com periodontite crônica.

Principais conclusões: Os indivíduos que receberam uma combinação de RAR com MTZ+AMX e da RAR com aPDT mostraram benefícios clínicos, como a redução da inflamação dos tecidos periodontais e também do número de bolsas residuais e ganho de inserção clínica.

Implicações Práticas: A utilização de MTZ+AMX ou aPDT combinado com RAR no tratamento de pacientes portadores de periodontite crônica constituem-se em terapias efetivas

Tabela 1. Características demográficas, média e desvio padrão ($M \pm DP$) dos parâmetros clínicos (PS, NIC, SS, IPV, Bolsas Residuais) da avaliação geral no Baseline, 90 e 180 dias após tratamento.

Variável	Grupo MTZ+AMX	Grupo aPDT
Idade (anos)	44,6 $\pm$ 7,8	48,1 $\pm$ 8,2
Mulheres, n(%)	8 (53,3%)	5 (45,5%)
PS (mm)		
<i>Baseline</i>	3,99 $\pm$ 0,57	3,79 $\pm$ 0,47
90 dias	3,69 $\pm$ 0,38	3,55 $\pm$ 0,47
180 dias	3,77 $\pm$ 0,35	3,68 $\pm$ 0,56
NIC (mm)		
<i>Baseline</i>	4,91 $\pm$ 1,20	4,53 $\pm$ 0,73
90 dias	4,62 $\pm$ 1,07*	4,31 $\pm$ 0,72*
180 dias	4,71 $\pm$ 1,04	4,45 $\pm$ 0,80
SS %		
<i>Baseline</i>	75,04 $\pm$ 19,09	86,30 $\pm$ 9,72
90 dias	60,58 $\pm$ 15,95*	69,60 $\pm$ 12,85*
180 dias	47,42 $\pm$ 9,66*	65,40 $\pm$ 14,56*
IPV		
<i>Baseline</i>	83,57 $\pm$ 13,88	44,39 $\pm$ 13,25
90 dias	71,71 $\pm$ 13,88	29,57 $\pm$ 16,28*
180 dias	61,86 $\pm$ 15,00*	31,12 $\pm$ 15,80*
Bolsas Residuais		
<i>Baseline</i>	45,14 $\pm$ 16,43	44,39 $\pm$ 13,25
90 dias	32,64 $\pm$ 14,84*	29,57 $\pm$ 16,28*
180 dias	32,16 $\pm$ 11,81*	31,12 $\pm$ 15,80*

*Diferença estatisticamente significante quando comparado ao Baseline no mesmo grupo ($P < 0,05$).

Tabela 2: Média ($M \pm DP$) da redução de PS e do ganho de NIC das bolsas avaliadas entre Baseline e 90 dias, e Baseline e 180 dias do Grupo MTZ+AMX.

Grupo MTZ+AMX	0 - 90 dias	0 - 180 dias	P-valor *
Avaliação Geral			
PS (mm)	0,30 $\pm$ 0,32	0,22 $\pm$ 0,32	0,0543
NIC (mm)	0,29 $\pm$ 0,22	0,20 $\pm$ 0,30 [†]	0,0173
Bolsas Moderadas			
PS (mm)	0,49 $\pm$ 0,26	0,46 $\pm$ 0,25	0,3279
NIC (mm)	0,43 $\pm$ 0,44	0,38 $\pm$ 0,45	0,1139
Bolsas Profundas			
PS (mm)	1,93 $\pm$ 0,99	2,15 $\pm$ 1,01	0,1299
NIC (mm)	1,81 $\pm$ 1,37	2,08 $\pm$ 1,53	0,1084

* valor de P para 0 - 90 vs 0 - 180 dias.

† Diferença estatisticamente significativa quando comparado ao intervalo de baseline - 90 dias ($P < 0,05$).

Tabela 3: Média ($M \pm DP$) da redução de PS e do ganho de NIC das bolsas avaliadas entre Baseline e 90 dias, e Baseline e 180 dias do Grupo aPDT.

Grupo aPDT	0 - 90 dias	0 - 180 dias	P-valor *
Avaliação Geral			
PS (mm)	$0,24 \pm 0,12$	$0,10 \pm 0,22^{\dagger}$	0,0101
NIC (mm)	$0,22 \pm 0,13$	$0,08 \pm 0,24^{\dagger}$	0,012
Bolsas Moderadas			
PS (mm)	$0,41 \pm 0,28$	$0,36 \pm 0,34$	0,3557
NIC (mm)	$0,57 \pm 0,57$	$0,40 \pm 0,67^{\dagger}$	0,0238
Bolsas Profundas			
PS (mm)	$1,64 \pm 1,08$	$2,02 \pm 1,58$	0,115
NIC (mm)	$1,65 \pm 1,16$	$1,98 \pm 1,76$	0,1769

* valor de P para 0 - 90 vs 0 - 180 dias.

† Diferença estatisticamente significativa quando comparado ao intervalo de baseline - 90 dias ($P < 0,05$).

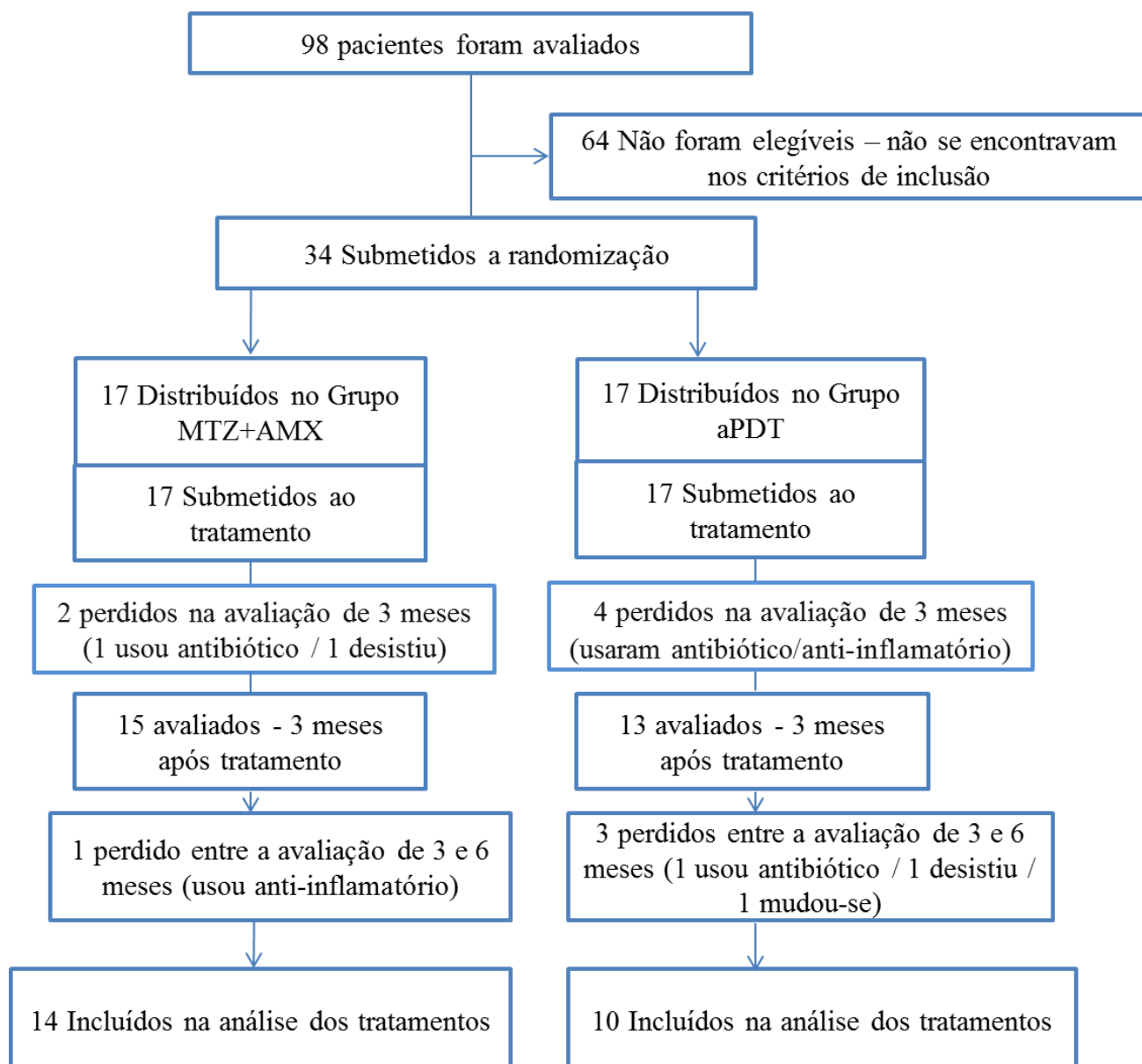


Figura 1. Fluxograma Clínico.

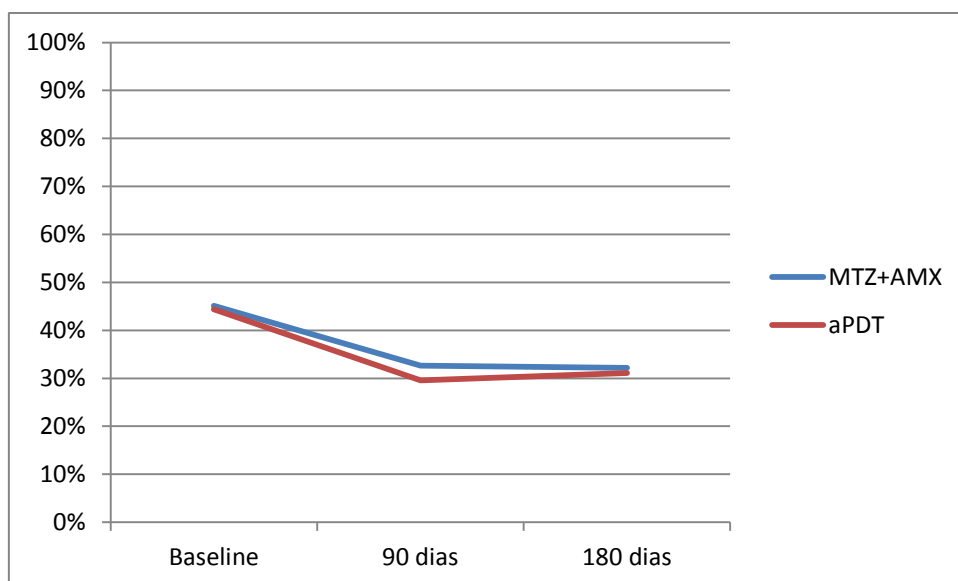


Figura 2. Redução percentual do número de bolsas residuais com sangramento ($\geq 4\text{mm}$).

Anexo A – Certificado da Comissão de Ética em Pesquisa

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA - CÂMPUS DE
ARAÇATUBA - JÚLIO DE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) e do uso sistêmico de Amoxicilina/Metronidazol no tratamento de periodontite crônica: estudo clínico e microbiológico

Pesquisador: Letícia Helena Theodoro

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 05519412.5.0000.5420

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 173.653

Data da Relatoria: 05/11/2012

Apresentação do Projeto:

O presente projeto pretende avaliar 102 indivíduos (fumantes e não fumantes) com doença periodontal crônica que serão tratados com raspagem e alisamento radicular associados com metronidazol, amoxicilina e de múltiplas aplicações da terapia fotodinâmica antimicrobiana sendo coadjuvantes ao tratamento. A análise será por meio de verificações clínicas e microbiológicas. Será analisado índice placa periodontal, sangramento a sondagem, profundidade de sondagem, recessão gengival e nível de inserção clínica. Os riscos serão decorrentes do próprio procedimento terapêutico que será diminuído pelo tratamento realizado com as associações coadjuvantes.

Objetivo da Pesquisa:

indivíduos fumantes e não fumantes com doença periodontal crônica serão tratados com raspagem e alisamento radicular associados ou com terapia fotodinâmica como recurso coadjuvante ao tratamento ou com uso sistêmico de antibióticos ou com uso de placebo, num total de 6 grupos de indivíduos

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

- Riscos decorrente do próprio processo de diagnóstico e tratamento da doença periodontal
- a terapêutica está fundamentada isoladamente, em várias publicações em periódicos indexados.
- Benefícios ao sujeito, tratamento da doença, orientações sobre higienização bucal
- possibilidade de inclusão de métodos terapêuticos associados alternativos mais adequados.

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193

Bairro: VILA MENDONÇA

CEP: 16.015-050

UF: SP

Município: ARACATUBA

Telefone: (18)3636-3200

Fax: (18)3636-3332

E-mail: anacmsn@foa.unesp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA - CÂMPUS DE
ARAÇATUBA - JÚLIO DE



Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A metodologia terapêutica da pesquisa baseia-se na utilização de fármacos de uso freqüente pelos profissionais da saúde sendo o diferencial a associação deste com o laser de baixa potência que também tem sua utilização freqüente em tratamentos odontológicos.

Pesquisa interessante pois busca resultados mais adequados ou alternativas de tratamentos da doença periodontal.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O pesquisador anexou os documentos comprobatórios de identificação e utilização do aparelho laser, a bula dos medicamentos e identificação do placebo que serão utilizados neste projeto

Recomendações:

n.d.n.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O presente processo está de acordo com as normas da Resolução 196, portanto, somos favoráveis a sua aprovação.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O CEP recomenda a aprovação do projeto.

ARACATUBA, 14 de Dezembro de 2012

Assinador por:

Ana Claudia de Melo Stevanato Nakamune
(Coordenador)

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193

Bairro: VILA MENDONÇA

CEP: 16.015-050

UF: SP

Município: ARACATUBA

Telefone: (18)3636-3200

Fax: (18)3636-3332

E-mail: anacmsn@foa.unesp.br

Anexo B - Normas para Publicação segundo o Periódico – Journal of Clinical Periodontology

Author Guidelines

Content of Author Guidelines: [1. General](#), [2. Ethical Guidelines](#), [3. Manuscript Submission Procedure](#), [4. Manuscript Types Accepted](#), [5. Manuscript Format and Structure](#), [6. After Acceptance](#)

Relevant Document:

Useful Websites: [Submission Site](#), [Articles published in Journal of Clinical Periodontology](#), [Author Services](#), [Wiley-Blackwell's Ethical Guidelines](#), [Guidelines for Figures](#)

The journal to which you are submitting your manuscript employs a plagiarism detection system. By submitting your manuscript to this journal you accept that your manuscript may be screened for plagiarism against previously published works.



1. GENERAL

Journal of Clinical Periodontology publishes original contributions of high scientific merit in the fields of periodontology and implant dentistry. Its scope encompasses the physiology and pathology of the periodontium, the tissue integration of dental implants, the biology and the modulation of periodontal and alveolar bone healing and regeneration, diagnosis, epidemiology, prevention and therapy of periodontal disease, the clinical aspects of tooth replacement with dental implants, and the comprehensive rehabilitation of the periodontal patient. Review articles by experts on new developments in basic and applied periodontal science and associated dental disciplines, advances in periodontal or implant techniques and procedures, and case reports which illustrate important new information are also welcome.

Please read the instructions below carefully for details on the submission of manuscripts, the journal's requirements and standards as well as information concerning the procedure after a manuscript has been accepted for publication in *Journal of Clinical Periodontology*. Authors are encouraged to visit [Wiley-Blackwell's Author Services](#) for further information on the preparation and submission of articles and figures.

2. ETHICAL GUIDELINES

Journal of Clinical Periodontology adheres to the below ethical guidelines for publication and research.

2.1. Authorship and Acknowledgements

Authors submitting a paper do so on the understanding that the manuscript have been read and approved by all authors and that all authors agree to the submission of the manuscript to the Journal.

Journal of Clinical Periodontology adheres to the definition of authorship set up by The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). According to the ICMJE authorship criteria should be based

on 1) substantial contributions to conception and design of, or acquisition of data or analysis and interpretation of data, 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2 and 3.

It is a requirement that all authors have been accredited as appropriate upon submission of the manuscript. Contributors who do not qualify as authors should be mentioned under Acknowledgements. Please note that it is a requirement to include email addresses for all co-authors at submission. If any of the email-addresses supplied are incorrect the corresponding author will be contacted by the journal administrator.

Acknowledgements: Under acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited.

2.2. Ethical Approvals

Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association [Declaration of Helsinki](#) (version 2008) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included.

When experimental animals are used the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the Guidelines laid down by the National Institute of Health (NIH) in the USA regarding the care and use of animals for experimental procedures or with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and in accordance with local laws and regulations.

All studies using human or animal subjects should include an explicit statement in the Material and Methods section identifying the review and ethics committee approval for each study, if applicable. Editors reserve the right to reject papers if there is doubt as to whether appropriate procedures have been used.

2.3 Clinical Trials

Clinical trials should be reported using the CONSORT guidelines available at www.consort-statement.org. A [CONSORT checklist](#) should also be included in the submission material.

Journal of Clinical Periodontology encourages authors submitting manuscripts reporting from a clinical trial to register the trials in any of the following free, public clinical trials registries: www.clinicaltrials.gov, <http://clinicaltrials.ifpma.org/clinicaltrials/>, <http://isrctn.org/>. The clinical trial registration number and name of the trial register will then be published with the paper.

2.4 DNA Sequences and Crystallographic Structure Determinations

Papers reporting protein or DNA sequences and crystallographic structure determinations will not be accepted without a Genbank or Brookhaven accession number, respectively. Other supporting data sets must be made available on the publication date from the authors directly.

2.5 Conflict of Interest and Sources of Funding

Authors are required to disclose all sources of institutional, private and corporate financial support for their study. Suppliers of materials (for free or at a discount from current rates) should be named in the source of funding and their location (town, state/county, country) included. Other suppliers will be identified in the text. If no funding has been available other than that of the author's institution, this should be specified upon submission. Authors are also required to disclose any potential conflict of interest. These include financial interests (for example patent, ownership, stock ownership, consultancies, speaker's fee,) or provision of study materials by their manufacturer for free or at a discount from current rates. Author's conflict of interest (or information specifying the absence of conflicts of interest) and the sources of funding for the research will be published under a separate heading entitled "Conflict of Interest and Sources of Funding Statement". See Editor-in-Chief Maurizio Tonetti's [Editorial on Conflict of Interest and Sources of Funding](#) and www.icmje.org/#conflicts for generally accepted definitions.

2.6 Appeal of Decision

Under exception circumstances, authors may appeal the editorial decision. Authors who wish to appeal the decision on their submitted paper may do so by e-mailing the editorial office at atcpeedoffice@wiley.com with a detailed explanation for why they find reasons to appeal the decision.

2.7 Permissions

If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

2.8 OnlineOpen

OnlineOpen is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non-subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen, the author, the author's funding agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley Online Library, as well as deposited in the funding agency's preferred archive. For the full list of terms and conditions, see http://wileyonlinelibrary.com/onlineopen#OnlineOpen_Terms

Prior to acceptance there is no requirement to inform an Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen if you do not wish to. All OnlineOpen articles are treated in the same way as any other article. They go through the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

2.9 Copyright Assignment

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login into Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper.

For authors signing the copyright transfer agreement

If the OnlineOpen option is not selected the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs below:

CTA Terms and Conditions: http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp

For authors choosing OnlineOpen

If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements (OAA):

Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp and visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>.

If you select the OnlineOpen option and your research is funded by The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with Wellcome Trust and Research Councils UK requirements. For more information on this policy and the Journal's compliant selfarchiving policy please visit: <http://www.wiley.com/go/funderstatement>.

For RCUK and Wellcome Trust authors click on the link below to preview the terms and conditions of this license:

Creative Commons Attribution License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp and visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>.

3. MANUSCRIPT SUBMISSION PROCEDURE

Manuscripts should be submitted electronically via the online submission site <http://mc.manuscriptcentral.com/jcpe>. The use of an online submission and peer review site enables immediate distribution of manuscripts and consequentially speeds up the review process. It also allows authors to track the status of their own manuscripts. Complete instructions for submitting a paper is available online and below. Further assistance can be obtained from the Journal Admin, Rosie Ledger, at cpeedoffice@wiley.com.

3.1. Getting Started

Launch your web browser (supported browsers include Internet Explorer 5.5 or higher, Safari 1.2.4, or Firefox 1.0.4 or higher) and go to the journal's online Submission Site: <http://mc.manuscriptcentral.com/jcpe>

- Log-in or, if you are a new user, click on 'register here'.
- If you are registering as a new user.
 - After clicking on 'register here', enter your name and e-mail information and click 'Next'. Your e-mail information is very important.
 - Enter your institution and address information as appropriate, and then click 'Next.'
 - Enter a user ID and password of your choice (we recommend using your e-mail address as your user ID), and then select your areas of expertise. Click 'Finish'.
- If you are registered, but have forgotten your log in details, enter your e-mail address under 'Password Help'. The system will automatically send you your user ID and a new temporary password.
- Log-in and select 'Corresponding Author Center'.

3.2. Submitting Your Manuscript

- After you have logged into your 'Corresponding Author Center', submit your manuscript by clicking the submission link under 'Author Resources'.
- Enter data and answer questions as appropriate. You may copy and paste directly from your manuscript and you may upload your pre-prepared covering letter.
- Click the 'Next' button on each screen to save your work and advance to the next screen.
- You are required to upload your files.
 - Click on the 'Browse' button and locate the file on your computer.
 - Upload your manuscript main document complete with title page, statement concerning source(s) of funding and conflict(s) of interest, abstract, clinical relevance section, references, tables and figure legends as "main document". Upload figures as 'figures'. For clinical trials a Consort Checklist will be required, and it should be uploaded as "supplementary file for review". If any unpublished papers are referenced in the reference list, a digital version of the referenced paper should also be uploaded as "supplementary file for review".
 - Select the designation of each file in the drop down next to the Browse button.
 - When you have selected all files you wish to upload, click the 'Upload Files' button.
- Review your submission (in HTML and PDF format). Notice that all documents uploaded as supplementary files for review will not be viewable in the HTML and PDF format. Click the 'Submit' button when you are finished reviewing.

3.3. Manuscript Files Accepted

Manuscripts should be uploaded as Word (.doc) or Rich Text Format (.rft) files (not write-protected) plus separate figure files. GIF, JPEG, PICT or Bitmap files are acceptable for submission, but only high-resolution TIF or EPS files are suitable for printing. The files will be automatically converted to HTML and PDF on upload and will be used for the review process. The text file must contain the entire manuscript including title page, abstract, clinical reference, main text, references, acknowledgement, statement of source of funding and any potential conflict of interest, tables, and figure legends, but no embedded figures. In the text, please reference any figures as for instance 'Figure 1', 'Figure 2' etc to match the tag name you choose for the individual figure files uploaded. Manuscripts should be formatted as described in the Author Guidelines below.

3.4. Blinded Review

All manuscripts submitted to *Journal of Clinical Periodontology* will be reviewed by two or more experts in the field. Papers that do not conform to the general aims and scope of the journal will, however, be returned immediately without review. *Journal of Clinical Periodontology* uses single blinded review. The names of the reviewers will thus not be disclosed to the author submitting a paper.

3.5. Suggest a Reviewer

Journal of Clinical Periodontology attempts to keep the review process as short as possible to enable rapid publication of new scientific data. In order to facilitate this process, please suggest the name and current email address of one potential international reviewer whom you consider capable of reviewing your manuscript. In addition to your choice the editor will choose one or two reviewers as well.

3.6. Suspension of Submission Mid-way in the Submission Process

You may suspend a submission at any phase before clicking the 'Submit' button and save it to submit later. The manuscript can then be located under 'Unsubmitted Manuscripts' and you can click on 'Continue Submission' to continue your submission when you choose to.

3.7. E-mail Confirmation of Submission

After submission you will receive an e-mail to confirm receipt of your manuscript. If you do not receive the confirmation e-mail after 24 hours, please check your e-mail address carefully in the system. If the e-mail address is correct please contact your IT department. The error may be caused by some sort of spam filtering on your e-mail server. Also, the e-mails should be received if the IT department adds our e-mail server (uranus.scholarone.com) to their whitelist.

3.8. Manuscript Status

You can access ScholarOne Manuscripts (formerly known as Manuscript Central) any time to check your 'Author Centre' for the status of your manuscript. The Journal will inform you by e-mail once a decision has been made.

3.9. Submission of Revised Manuscripts

To submit a revised manuscript, locate your manuscript under 'Manuscripts with Decisions' and click on 'Submit a Revision'. Please remember to delete any old files uploaded when you upload your revised manuscript.

3.10 Resubmissions

If your manuscript was given the decision of reject and resubmit, you might choose to submit an amended version of your manuscript. This should be submitted as a new submission following the guidelines above under 3.2. In addition you should upload comments to the previous review as "supplementary files for review".

4. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED

Journal of Clinical Periodontology publishes original research articles, reviews, clinical innovation reports and case reports. The latter will be published only if they provide new fundamental knowledge and if they use language understandable to the clinician. It is expected that any manuscript submitted represents unpublished original research.

Original Research Articles must describe significant and original experimental observations and provide sufficient detail so that the observations can be critically evaluated and, if necessary, repeated. Original articles will be published under the heading of clinical periodontology, implant dentistry or pre-clinical sciences and must conform to the highest international standards in the field.

Clinical Innovation Reports are suited to describe significant improvements in clinical practice such as the report of a novel surgical technique, a breakthrough in technology or practical approaches to recognized clinical challenges. They should conform to the highest scientific and clinical practice standards.

Case Reports illustrating unusual and clinically relevant observations are acceptable but their merit needs to provide high priority for publication in the Journal. On rare occasions, completed cases displaying non-obvious solutions to significant clinical challenges will be considered.

Reviews are selected for their broad general interest; all are refereed by experts in the field who are asked to comment on issues such as timeliness, general interest and balanced treatment of controversies, as well as on scientific accuracy. Reviews should take a broad view of the field rather than merely summarizing the authors' own previous work, so extensive citation of the authors' own publications is discouraged. The use of

state-of-the-art evidence-based systematic approaches is expected. Reviews are frequently commissioned by the editors and, as such, authors are encouraged to submit a proposal to the Journal. Review proposals should include a full-page summary of the proposed contents with key references.

5. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

5.1. Format

Language: The language of publication is English. Authors for whom English is a second language may choose to have their manuscript professionally edited before submission to improve the English. It is preferred that manuscript is professionally edited. Please refer to English Language Editing Services offered by Wiley at <http://wileyeditingservices.com/en/>. Japanese authors can also find a list of local English improvement services at <http://www.wiley.co.jp/journals/editcontribute.html>. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

Abbreviations, Symbols and Nomenclature: *Journal of Clinical Periodontology* adheres to the conventions outlined in Units, Symbols and Abbreviations: A Guide for Medical and Scientific Editors and Authors. Abbreviations should be kept to a minimum, particularly those that are not standard. Non-standard abbreviations must be used three or more times and written out completely in the text when first used.

5.2. Structure

All articles submitted to *Journal of Clinical Periodontology* should include Title Page, Abstract, and References. In addition, *Journal of Clinical Periodontology* requires that all articles include a section on Clinical Relevance and disclose Source of Funding and Conflict of Interests. Figures, Figure Legends and Tables should be included where appropriate. All manuscripts should emphasize clarity and brevity. Authors should pay special attention to the presentation of their findings so that they may be communicated clearly. Technical jargon should be avoided as much as possible and be clearly explained where its use is unavoidable.

Title Page: The title must be concise and contain no more than 100 characters including spaces. The title page should include a running title of no more than 40 characters; 5-10 key words, complete names of institutions for each author, and the name, address, telephone number, fax number and e-mail address for the corresponding author.

Conflict of Interest and Source of Funding: Authors are required to disclose all sources of institutional, private and corporate financial support for their study. Suppliers of materials (for free or at a discount from current rates) should be named in the source of funding and their location (town, state/county, country) included. Other suppliers will be identified in the text. If no funding has been available other than that of the author's institution, this should be specified upon submission. Authors are also required to disclose any potential conflict of interest. These include financial interests (for example patent, ownership, stock ownership, consultancies, speaker's fee,) or provision of study materials by their manufacturer for free or at a discount from current rates. Author's conflict of interest (or information specifying the absence of conflicts of interest) and the sources of funding for the research will be published under a separate heading entitled "Conflict of Interest and Source of Funding Statement". See Editor-in-Chief Maurizio Tonetti's [Editorial on Conflict of Interest and Source of Funding](#) and www.icmje.org/#conflicts for generally accepted definitions.

Abstract: is limited to 200 words in length and should not contain abbreviations or references. The abstract should be organized according to the content of the paper. For Original Research Articles the abstract should be organized with aim, materials and methods, results and conclusions. For clinical trials, it is encouraged that

the abstract finish with the clinical trial registration number on a free public database such as clinicaltrials.gov.

Clinical Relevance: This section is aimed at giving clinicians a reading light to put the present research in perspective. It should be no more than 100 words and should not be a repetition of the abstract. It should provide a clear and concise explanation of the rationale for the study, of what was known before and of how the present results advance knowledge of this field. If appropriate, it may also contain suggestions for clinical practice. It should be structured with the following headings: scientific rationale for study, principal findings, and practical implications. Authors should pay particular attention to this text as it will be published in a highlighted box within their manuscript; ideally, reading this section should leave clinicians wishing to learn more about the topic and encourage them to read the full article.

Acknowledgements: Under acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited.

5.3. Original Research Articles

These must describe significant and original experimental observations and provide sufficient detail so that the observations can be critically evaluated and, if necessary, repeated. Original articles will be published under the heading of clinical periodontology, implant dentistry or pre-clinical sciences and must conform to the highest international standards in the field.

The word limit for original research articles is 3500 words, and up to 7 items (figures and tables) may be included. Additional items can be included as supplementary files online (please see 5.9 below).

Main Text of Original Research Articles should be organized with Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion. The background and hypotheses underlying the study, as well as its main conclusions, should be clearly explained. Please see Sample Manuscript.

Introduction: should be focused, outlining the historical or logical origins of the study and not summarize the results; exhaustive literature reviews are not appropriate. It should close with the explicit statement of the specific aims of the investigation.

Material and Methods: must contain sufficient detail such that, in combination with the references cited, all clinical trials and experiments reported can be fully reproduced. As a condition of publication, authors are required to make materials and methods used freely available to academic researchers for their own use. This includes antibodies and the constructs used to make transgenic animals, although not the animals themselves.

(a) Clinical trials should be reported using the CONSORT guidelines available at www.consort-statement.org. A **CONSORT checklist** should also be included in the submission material. If your study is a randomized clinical trial, you will need to fill in all sections of the CONSORT Checklist. If your study is not a randomized trial, not all sections of the checklist might apply to your manuscript, in which case you simply fill in N/A.

Journal of Clinical Periodontology encourages authors submitting manuscripts reporting from a clinical trial to register the trials in any of the following free, public clinical trials registries: www.clinicaltrials.gov, <http://clinicaltrials.ifpma.org/clinicaltrials/>. The clinical trial registration number and name of the trial register will then be published with the paper.

(b) Statistical Analysis: As papers frequently provide insufficient detail as to the performed statistical analyses, please describe with adequate detail. For clinical trials intention to treat analyses are encouraged (the reasons for choosing other types of analysis should be highlighted in the submission letter and clarified in the manuscript).

(c) DNA Sequences and Crystallographic Structure Determinations: Papers reporting protein or DNA sequences and crystallographic structure determinations will not be accepted without a Genbank or Brookhaven accession number, respectively. Other supporting data sets must be made available on the publication date from the authors directly.

(d) Experimental Subjects: Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association [Declaration of Helsinki](#) (version 2008) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included.

When experimental animals are used the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the Guidelines laid down by the National Institute of Health (NIH) in the USA regarding the care and use of animals for experimental procedures or with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and in accordance with local laws and regulations.

All studies using human or animal subjects should include an explicit statement in the Material and Methods section identifying the review and ethics committee approval for each study, if applicable. Editors reserve the right to reject papers if there is doubt as to whether appropriate procedures have been used.

Results: should present the observations with minimal reference to earlier literature or to possible interpretations.

Discussion: may usefully start with a brief summary of the major findings, but repetition of parts of the abstract or of the results section should be avoided. The discussion section should end with a brief conclusion and a comment on the potential clinical relevance of the findings. Statements and interpretation of the data should be appropriately supported by original references.

The discussion may usefully be structured with the following points in mind (modified from the proposal by [Richard Horton \(2002\), The Hidden Research Paper, The Journal of the American Medical Association, 287, 2775-2778](#)). Not all points will apply to all studies and its use is optional, but we believe it will improve the discussion section to keep these points in mind.

Summary of key finding

- * Primary outcome measure(s)
- * Secondary outcome measure(s)
- * Results as they relate to a prior hypothesis

Strengths and Limitations of the Study

- * Study Question
- * Study Design
- * Data Collection
- * Analysis
- * Interpretation
- * Possible effects of bias on outcomes

Interpretation and Implications in the Context of the Totality of Evidence

- * Is there a systematic review to refer to?
- * If not, could one be reasonably done here and now?
- * What this study adds to the available evidence
- * Effects on patient care and health policy
- * Possible mechanisms

Controversies Raised by This Study Future Research Directions

- * For this particular research collaboration
- * Underlying mechanisms
- * Clinical research

5.4. Clinical Innovation Reports

These are suited to describe significant improvements in clinical practice such as the report of a novel surgical technique, a breakthrough in technology or practical approaches to recognized clinical challenges. They should conform to the highest scientific and clinical practice standards.

The word limit for clinical innovation reports is 3000 words, and up to 12 items (figures and tables) may be included. Additional items can be included as supplementary files online (please see 5.9 below).

The main text of Clinical Innovation Reports should be organized with Introduction, Clinical Innovation Report, Discussion and Conclusion.

5.5. Case Reports

Case reports illustrating unusual and clinically relevant observations are acceptable but their merit needs to provide high priority for publication in the Journal. On rare occasions, completed cases displaying non-obvious solutions to significant clinical challenges will be considered.

The main text of Case Reports should be organized with Introduction, Case report, Discussion and Conclusion.

5.6. Reviews

Reviews are selected for their broad general interest; all are refereed by experts in the field who are asked to comment on issues such as timeliness, general interest and balanced treatment of controversies, as well as on scientific accuracy. Reviews should take a broad view of the field rather than merely summarizing the authors' own previous work, so extensive citation of the authors' own publications is discouraged. The use of state-of-the-art evidence-based systematic approaches is expected. Reviews are frequently commissioned by the editors and, as such, authors are encouraged to submit a proposal to the Journal. Review proposals should include a full-page summary of the proposed contents with key references.

The word limit for reviews is 4000 words.

The main text of Reviews should be organized with Introduction, Review of Current Literature, Discussion and Conclusion.

5.7. References

It is the policy of the Journal to encourage reference to the original papers rather than to literature reviews. Authors should therefore keep citations of reviews to the absolute minimum.

We recommend the use of a tool such as Reference Manager for reference management and formatting. Reference Manager reference styles can be searched for here: <http://www.refman.com/support/rmstyles.asp>

Please note that all unpublished papers (submitted or in press) included in the reference list should be provided in a digital version at submission. The unpublished paper should be uploaded as a supplementary file for review.

Reference style (Harvard):

References in the text should quote the last name(s) of the author(s) and the year of publication (Brown & Smith 1966). Three or more authors should always be referred to as, for example, Brown et al. 1966. A list of references should be given at the end of the paper and should follow the recommendations in Units, Symbols and Abbreviations: A Guide for Biological and Medical Editors and Authors, (1975), p. 36. London: The Royal Society of Medicine.

- a) The arrangement of the references should be alphabetical by first author's surname.
- b) The order of the items in each reference should be:
 - (i) for journal references: name(s) of author(s), year, title of paper, title of journal, volume number, first and last page numbers.
 - (ii) for book references: name(s) of author(s), year, chapter title, title of book in italics, edition, volume, page number(s), town of publication, publisher.
- c) Authors' names should be arranged thus: Smith, A. B., Jones, D. E. & Robinson, F. C. Note the use of the ampersand and omission of comma before it. Authors' names when repeated in the next reference are always spelled out in full.
- d) The year of publication should be surrounded by parentheses: (1967).
- e) The title of the paper should be included without quotation marks.
- f) The journal title should be written in full, italicised (single underlining in typescript), and followed by volume number in bold type (double underlining on typescript) and page numbers.

Examples: Botticelli, D., Berglundh, T. & Lindhe, J. (2004) Hard-tissue alterations following immediate implant placement in extraction sites. *Journal of Clinical Periodontology* 10, 820-828. doi:10.1111/j.1600-051X.2004.00565.x

Lindhe, J., Lang, N.P. & Karring, K. (2003) *Periodontology and Implant Dentistry*. 4th edition, p. 1014, Oxford. Blackwell Munksgaard.

Bodansky, O. (1960) Enzymes in tumour growth with special reference to serum enzymes in cancer. In *Enzymes in Health and Disease*, eds. Greenberg, D. & Harper, H. A., pp. 269-278. Springfield: Thomas.

URL: Full reference details must be given along with the URL, i.e. authorship, year, title of document/report and URL. If this information is not available, the reference should be removed and only the web address cited in the text. Example: Smith A. (1999) Select Committee Report into Social Care in the Community [WWW document]. URL <http://www.dhss.gov.uk/reports/report0394498.html> [accessed on 7 November 2003]

5.8. Tables, Figures and Figure Legends

Tables: should be double-spaced with no vertical rulings, with a single bold ruling beneath the column titles. Units of measurements must be included in the column title.

Figures: All figures should be planned to fit within either 1 column width (8.0 cm), 1.5 column widths (13.0 cm) or 2 column widths (17.0 cm), and must be suitable for photocopy reproduction from the printed version of the manuscript. Lettering on figures should be in a clear, sans serif typeface (e.g. Helvetica); if possible, the same typeface should be used for all figures in a paper. After reduction for publication, upper-case text and numbers should be at least 1.5-2.0 mm high (10 point Helvetica). After reduction symbols should be at least 2.0-3.0 mm high (10 point). All half-tone photographs should be submitted at final reproduction size. In general, multi-part figures should be arranged as they would appear in the final version. Each copy should be marked with the figure number and the corresponding author's name. Reduction to the scale that will be used on the page is not necessary, but any special requirements (such as the separation distance of stereo pairs) should be clearly specified.

Unnecessary figures and parts (panels) of figures should be avoided: data presented in small tables or histograms, for instance, can generally be stated briefly in the text instead. Figures should not contain more than one panel unless the parts are logically connected; each panel of a multipart figure should be sized so that the whole figure can be reduced by the same amount and reproduced on the printed page at the smallest size at which essential details are visible.

Figures should be on a white background, and should avoid excessive boxing, unnecessary colour, shading and/or decorative effects (e.g. 3-dimensional skyscraper histograms) and highly pixelated computer drawings. The vertical axis of histograms should not be truncated to exaggerate small differences. The line spacing should be wide enough to remain clear on reduction to the minimum acceptable printed size. Figures divided into parts should be labelled with a lower-case, boldface, roman letter, a, b, and so on, in the same typesize as used elsewhere in the figure. Lettering in figures should be in lower-case type, with the first letter capitalized. Units should have a single space between the number and the unit, and follow SI nomenclature or the nomenclature common to a particular field. Thousands should be separated by thin spaces (1 000). Unusual units or abbreviations should be spelled out in full or defined in the legend. Scale bars should be used rather than magnification factors, with the length of the bar defined in the legend rather than on the bar itself. In general, visual cues (on the figures themselves) are preferred to verbal explanations in the legend (e.g. broken line, open red triangles etc.)

Preparation of Electronic Figures for Publication

Although low quality images are adequate for review purposes, print publication requires high quality images to prevent the final product being blurred or fuzzy. Submit EPS (lineart) or TIFF (halftone/photographs) files only. MS PowerPoint and Word Graphics are unsuitable for printed pictures. Do not use pixel-oriented programmes. Scans (TIFF only) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size (see below). EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible). For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: lineart: >600 dpi; half-tones (including gel photographs): >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi.

Detailed information on our digital illustration standards can be found

at <http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>.

Check your electronic artwork before submitting it: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/eachecklist.asp>.

Permissions: If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

Figure Legends: should be a separate section of the manuscript, and should begin with a brief title for the whole figure and continue with a short description of each panel and the symbols used; they should not contain any details of methods.

5.9. Supplementary Material

Supplementary material, such as data sets or additional figures or tables that will not be published in the print edition of the Journal but which will be viewable in the online edition, can be uploaded as 'Supporting information for review and online publication only'. Please see <http://authorservices.wiley.com/bauthor/suppmat.asp> for further information on the submission of Supplementary Materials.

6. AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of a paper for publication, the manuscript will be forwarded to the Production Editor who is responsible for the production of the journal.

6.1 Proof Corrections

The corresponding author will receive an email alert containing a link to a web site. A working email address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following Web site: www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html. This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Hard copy proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs. Proofs must be returned to the Production Editor within three days of receipt. As changes to proofs are costly, we ask that you only correct typesetting errors. Excessive changes made by the author in the proofs, excluding typesetting errors, will be charged separately. Other than in exceptional circumstances, all illustrations are retained by the publisher. Please note that the author is responsible for all statements made in his work, including changes made by the copy editor.

6.2 Early View (Publication Prior to Print)

The Journal of Clinical Periodontology is covered by Wiley-Blackwell's Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not yet have volume, issue or page numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

6.3 Production Tracking

Online production tracking is available for your article once it is accepted by registering with [Wiley-Blackwell's Author Services](#).

6.4 Accepted Articles

'Accepted Articles' have been accepted for publication and undergone full peer review but have not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process. Accepted Articles are published online a few days after final acceptance, appear in PDF format only (without the accompanying full-text HTML) and are given a Digital Object Identifier (DOI), which allows them to be cited and tracked. The DOI remains unique to a given article in perpetuity. More information about DOIs can be found online at <http://www.doi.org/faq.html>. Given that Accepted Articles are not considered to be final, please note that changes will be made to an article after Accepted Article online publication, which may lead to differences between this version and the Version of Record. The Accepted Articles service has been designed to ensure the earliest possible circulation of research papers after acceptance. Given that copyright licensing is a condition of publication, a completed copyright form is required before a manuscript can be processed as an Accepted Article.

Accepted articles will be indexed by PubMed; therefore the submitting author must carefully check the names and affiliations of all authors provided in the cover page of the manuscript, as it will not be possible to alter these once a paper is made available online in Accepted Article format. Subsequently the final copyedited and proofed articles will appear either as Early View articles in a matter of weeks or in an issue on Wiley Online Library; the link to the article in PubMed will automatically be updated.