UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO
PROGRAMA DE DOUTORADO EM MEDICINA BIOFOTÔNICA

TÂNIA OPPIDO SCHALCH

COMPARAÇÃO ENTRE PROTOCOLOS DE TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA COMO TRATAMENTO ADJUNTO NO MANEJO DE PERICORONARITE INICIAL: ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO, CONTROLADO, DUPLO CEGO

São Paulo, SP
2024

TÂNIA OPPIDO SCHALCH

COMPARAÇÃO ENTRE PROTOCOLOS DE TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA COMO TRATAMENTO ADJUNTO NO MANEJO DE PERICORONARITE INICIAL: ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO, CONTROLADO, DUPLO CEGO

Tese apresentada à Universidade Nove de Julho, para a obtenção do Título de Doutora em Medicina Biofotônica

Orientadora: Profª Dra.Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana

São Paulo, SP

2024

Schalch, Tânia Oppido.

Comparação entre protocolos de terapia fotodinâmica antimicrobiana como tratamento adjunto no manejo de pericoronarite inicial: estudo clínico randomizado, controlado, duplo cego. / Tânia Oppido Schalch. 2024.

90 f.

Tese (Doutorado)- Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2024.

Orientador (a): Profª. Drª. Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana

1. Terceiro molar. 2. Pericoronarite. 3. Terapia fotodinâmica. 4. Laser. 5. Estudo clínico randomizado controlado.

I. Horliana, Anna Carolina Ratto Tempestini. II. Título

CDU 615.831

São Paulo, 18 de dezembro de 2024.

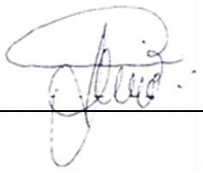
TERMO DE APROVAÇÃO

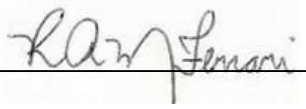
Aluno (a): Tânia Oppido Schalch

Título da Tese: “Comparação entre protocolos de terapia fotodinâmica antimicrobiana como tratamento adjunto no manejo de pericoronarite inicial: estudo clínico randomizado, controlado, duplo-cego”.

Presidente: PROFª. DRª. ANNA CAROLINA RATTO TEMPESTINI HORLIANA

Membro: PROFª. DRª. CHRISTIANE PAVANI

Membro: PROFª. DRª. PATRICIA APARECIDA DA ANA

Membro: PROFª. DRª. RAQUEL AGNELLI MESQUITA FERRARI

Membro: PROFª. DRª. ILKA TIEMY KATO

AGRADECIMENTOS

Mais uma etapa da vida muito almejada concluída... Quero exprimir minha mais sincera gratidão a todos que, de alguma forma, contribuíram para mais uma realização pessoal.

Primeiramente, agradeço aos meus pais, Rosa Maria O. Schalch e Obyratam Schalch, por me transmitirem, além de maravilhosos valores morais, o apreço pela educação e estudo. Obrigada por sempre estarem ao meu lado em todas as empreitadas que decidi seguir.

Agradeço minha irmã Fabia O. Schalch, por ser exemplo de pessoa e profissional. Seus valores e cuidados, buscando ser uma profissional da saúde humana e que exerce seu trabalho baseado em ciência, sempre me inspiraram e deram força para seguir buscando aprimoramento incessante.

Ao meu marido Rodrigo Baldy, meu muito obrigada por toda compreensão pelos momentos que estive ausente ou com a atenção focada nos assuntos da pós-graduação. Obrigada pelo companheirismo, zelo e amor.

Ao meu filho Gustavo, que participou ainda dentro da minha barriga, de muitas coletas clínicas desse trabalho. Você é mola propulsora que me faz querer ser melhor a cada dia.

Muito obrigada às minhas amigas Ana Carolina Moraes, Caroline Miyazaki, Patrícia Bermejo, Silvia Ueki e Vivian dos Reis que sempre me apoiaram nessa jornada acadêmica e, há anos, representam um pilar importantíssimo em minha vida.

Um agradecimento a todos os amigos que fiz na pós-graduação. A troca com muitos foi extremamente enriquecedora e necessária para seguirmos firmes em nossos objetivos.

Agradeço imensamente Debora Simão, colega de profissão que foi essencial para concluir esse trabalho. Sua força e determinação me inspiram. Obrigada pela cumplicidade e carinho ao longo dessa caminhada.

Um especial agradecimento à querida Ellen Sayuri, quem admiro há anos desde minha época de iniciação científica. Você foi fundamental nessa reta final do projeto e uma grande inspiração. Minha eterna gratidão por toda sua generosidade, paciência e parceria.

A todos os professores do programa da pós-graduação que sempre foram muito importantes me apoiando, transmitindo seus conhecimentos e experiências. Admiro imensamente todos.

Agradeço a Profª. Dra. Marcia Pinto Alves Mayer, que me abriu as portas de seu laboratório há mais de 20 anos, fez eu me apaixonar pela pesquisa e, principalmente, me ensinou a realizá-la com ética, dedicação e amor.

Para encerrar, meu muitíssimo obrigada à minha querida orientadora Profª. Dra. Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana. Agradeço por toda confiança depositada em mim, por todo carinho e preocupação. Obrigada por nunca soltar minha mão, por sempre acreditar que tudo daria certo... Sua positividade e empatia foram imprescindíveis para eu chegar até aqui. Gratidão eterna por estar sempre ao meu lado nessa jornada. Espero poder ainda te acompanhar em muitas outras...

RESUMO

A pericoronarite é comum durante o irrompimento dos terceiros molares, afetando a qualidade de vida. Apesar dos danos locais e sistêmicos, a literatura sobre tratamentos é limitada, sem um padrão ouro definido. A terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFA - do inglês *Antimicrobial Photodynamic Therapy* - aPDT) é uma alternativa eficaz, de fácil execução, que não causa resistência bacteriana. O azul de metileno utilizado na aPDT tem sido estudado em uma nova formulação oral, cuja veiculação dificulta a agregação, com promissores efeitos fotoquímicos e fotofísicos. O objetivo deste estudo foi avaliar a efetividade de dois protocolos de aPDT com diferentes formulações de azul de metileno em pericoronarite inicial, por meio da análise microbiológica, clínica e imunorregulatória, além do impacto na saúde oral na qualidade de vida utilizando o questionário OHIP-14 (*Oral Health Impact Profile* - 14). Este ensaio clínico randomizado, controlado e duplo-cego foi realizado com 34 pacientes jovens, saudáveis e com pericoronarite. Os grupos foram: G1 (controle positivo, n=17), irrigação com soro fisiológico e aPDT com azul de metileno convencional (0,005%, laser λ=660 nm, 9J por ponto, 318 J/cm²), e G2 (experimental, n=17), com a mesma terapia, mas utilizando nova fórmula patenteada de azul de metileno. A análise microbiológica foi realizada através de PCRq-RT para detecção de *Tannerella forsythia* e bactérias totais. Já as citocinas (IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α, IFN-γ, IL-17, IL-10, IL-12) foram avaliadas por LUMINEX® no *baseline* e no 4º dia após a aPDT. Ambos os grupos mostraram melhora significativa na dor (G1: p=0,022; G2: p=0,001) e na abertura de boca (G1: p<0,001; G2: p=0,002). Não houve diferença significativa entre G1 e G2 para dor e abertura de boca (p=0,845 e p=0,318, respectivamente). Houve redução significativa de IL-1β (p=0,001) e do número de bactérias totais no biofilme do G2 (p<0,001). Não houve diferença estatística intra e entre os grupos para outros parâmetros. A aPDT, tanto com a fórmula tradicional quanto com a nova fórmula de azul de metileno, foi eficaz na redução da dor e na melhora da abertura de boca. No grupo que fez uso da nova fórmula de azul de metileno reduziu-se significativamente os níveis de IL-1β e 16Srna de bactérias totais no biofilme.

Palavras chave: terceiro molar, pericoronarite, terapia fotodinâmica,laser, estudo clínico randomizado controlado

ABSTRACT

Pericoronitis is common during the eruption of third molars, affecting quality of life. Despite local and systemic damage, the literature on treatments is limited, with no defined gold standard. Antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) is an effective and easy-to-perform alternative that does not cause bacterial resistance. Methylene blue, used in aPDT, has been studied in a new oral formulation whose composition prevents aggregation with promising photochemical and photophysical effects. This study aimed to evaluate the effectiveness of two aPDT protocols with different methylene blue formulations in initial pericoronitis through microbiological, clinical, and immunoregulatory analysis, as well as the impact on oral health-related quality of life using the OHIP-14 (Oral Health Impact Profile - 14) questionnaire. This randomized, controlled, and double-blind clinical trial was conducted with 34 young, healthy patients with pericoronitis. The groups were: G1 (positive control, n=17), irrigation with saline solution and aPDT with conventional methylene blue (0.005%, laser λ=660 nm, 9J per point, 318 J/cm²), and G2 (experimental, n=17), using the same therapy but with a patented new formulation of methylene blue. QRT-PCR performed microbiological analysis for *Tannerella forsythia* and *Universal 16S*. Interleukins and chemokines (IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α, IFN-γ, IL-17, IL-10, IL-12) were evaluated using LUMINEX® at baseline and on the 4th day after aPDT. Both groups showed significant improvement in pain (G1: p=0.022; G2: p=0.001) and mouth opening (G1: p<0.001; G2: p=0.002). There was no significant difference between G1 and G2 for pain and mouth opening (p=0.845 and p=0.318, respectively). A significant reduction in IL-1β (p=0.001) and in the number of Universal 16S copies in the G2 biofilm (p<0.001) was observed. No statistical differences were found within or between groups for other parameters. Both aPDT with the traditional and the new methylene blue formulations effectively reduced pain and improved mouth opening. In the group that used the new methylene blue formulation, there was a significant reduction in IL-1β levels and Universal 16S copies in the biofilm.

Keywords: third molar, pericoronitis, photodynamic therapy, laser, randomized controlled clinical trial.

DESTAQUES

- Proposta de tratamentos não invasivos, sem efeitos colaterais e que não induzem resistência bacteriana.
- Resultados promissores do uso da aPDT como terapia adjunta para redução de dor e aumento da abertura bucal em pacientes com pericoronarite.
- Aplicação de uma nova formulação de azul de metileno para potencializar os efeitos da aPDT.
- Grupo tratado com a nova formulação de azul de metileno apresentou redução significativa dos níveis de IL-1β e Universal no biofilme dental afetado.
- Estudo clínico randomizado e controlado para aumentar o nível de evidência para o uso de aPDT em pericoronarite inicial

HIGHLIGHTS

- Proposal for non-invasive treatments free of side effects and without inducing bacterial resistance.
- Promising results of aPDT as an adjunct therapy for pain reduction and increased mouth opening in patients with pericoronitis.
- Apply a new methylene blue formulation to enhance the effects of aPDT.
- The group treated with the new methylene blue formulation showed a significant reduction in IL-1β levels and Universal in the affected dental biofilm.
- Randomized controlled clinical trial to strengthen the evidence level for using aPDT in initial pericoronitis.

RESUMO PARA LEIGOS

Este é um trabalho clínico em que se investigou a eficiência da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) como tratamento adjunto para pericoronarite.

Foram determinados dois grupos: No G1 foi realizada a irrigação com soro fisiológico e aPDT com azul de metileno convencional e no G2 foi realizada a irrigação com soro fisiológico mais aPDT com uma nova fórmula de azul de metileno. Em ambos os grupos foram feitas análise clínica, microbiológica e inflamatória antes e depois de 4 dias dos tratamentos.

Os dois grupos mostraram melhora da dor e abertura de boca dos pacientes. Adicionalmente, no grupo que foi usada nova fórmula, observou-se redução da quantidade total microbiana do biofilme e redução da quantidade de IL-1β, mediador químico correlacionado fortemente à inflamação, indicando que a aPDT pode ser um ótimo tratamento para pericoronarite, principalmente usando a nova fórmula de azul de metileno proposta.

LAY SUMMARY

This clinical study investigated the effectiveness of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) as an adjunct treatment for pericoronitis. Two groups were established: In G1, irrigation with saline solution and aPDT with conventional methylene blue were performed.

In G2, irrigation with saline solution plus aPDT with a new methylene blue formulation was applied. Both groups underwent clinical, microbiological, and inflammatory analysis before and 4 days after the treatments.

Both groups showed an improvement in pain and mouth opening. Additionally, in the group that used the new formulation, a reduction in the total microbial load of the biofilm and a decrease in IL-1β, a chemical mediator strongly correlated with inflammation, were observed. These results indicate that aPDT can be an excellent treatment for pericoronitis, especially when using the proposed new methylene blue formulation.

LISTA DE FIGURAS, TABELAS E GRÁFICOS

Página

Figura 1 – Diagrama de Jablonski 21

Figura 2 – Gráfico de absorção de monômeros e dímeros de azul de metileno em veículo aquoso 23

Figura 3 – Sequência da aPDT 29

Figura 4- Ilustração dos pontos de irradiação do laser de baixa potência 30

Figura 5 - Escala VAS de dor 31

Figura 6 - Aferição da abertura de boca com paquímetro digital 31

Figura 7- Medidas utilizadas para mensurar edema facial 32

Figura 8- Classificação da posição do terceiro molar 33

Figura 9 – Fluxograma do estudo 38

Figura 10- Radiografia panorâmica mostrando dente 38 AIIV segundo classificação de Pell, Gregory e Winter 43

Figura 11- Radiografia panorâmica mostrando dente 38 AIV segundo classificação de Pell, Gregory e Winter 44

Tabela 1- Parâmetros dosimétricos utilizados na terapia fotodinâmica antimicrobiana 30

Tabela 2- Sequências e referências dos *primers* a serem utilizados. 36

Tabela 3- Variáveis idade, sexo e região tratada segundo os grupos 39

Tabela 4 - Comparação da dor, abertura de boca e edema entre os grupos, antes e depois do tratamento 40

Tabela 5 - Comparação da dor, abertura de boca e edema intragrupos, antes e depois do tratamento 40

Tabela 6- Comparação entre as somatórias de OHIP TOTAL e PARCIAL, entre os grupos, antes e depois do tratamento 42

Tabela 7- Comparação entre as somatórias de OHIP TOTAL e PARCIAL, intra grupos, antes e depois do tratamento 42

Tabela 8 - Número de casos do estudo segundo Pell, Gregory e Winter e suas respectivas porcentagens 43

Tabela 9- Comparação das concentração de IL 1- β e IL-8 entre os grupos, antes e depois do tratamento. 45

Tabela 10- Comparação das concentração de IL 1- β e IL-8 intragrupos, antes e depois do tratamento. 45

Tabela 11- Comparação do n° de cópias de 16S de *T. forsythia*/μL na saliva e biofilme, entre os grupos antes e depois do tratamento 47

Tabela 12- Comparação do n° de cópias de 16S de *T. forsythia*/μL na saliva e biofilme, intragrupos antes e depois do tratamento 47

Tabela 13- Comparação do n° cópias de 16S de *Universal*/μL na saliva e biofilme, intragrupos, antes e depois do tratamento 49

Tabela 14 - Comparação do n° cópias de 16S de *Universal*/μL na saliva e biofilme, entre os grupos, antes e depois do tratamento 49

Gráfico 1. Avaliação da dor de ambos os grupos, antes e depois do tratamento com aPDT 41

Gráfico 2. Avaliação da abertura de boca em ambos os grupos antes e depois do tratamento com aPDT 41

Gráfico 3. Avaliação IL 1-β em ambos os grupos, antes e depois do tratamento 46

Gráfico 4. Avaliação IL- 8 em ambos os grupos, antes e depois do tratamento 46

Gráfico 5. Avaliação do número de cópias 16S *T. forsythia*/μL no biofilme de ambos os grupos, antes e depois do tratamento 48

Gráfico 6. Avaliação do número de cópias 16S *T. forsythia*/μL na saliva de ambos os grupos, antes e depois do tratamento 48

Gráfico 7. Avaliação do número de cópias 16S Universal/μL na saliva de ambos os grupos, antes e depois do tratamento 50

Gráfico 8. Avaliação do número de cópias 16S Universal/μL no biofilme de ambos os grupos, antes e depois do tratamento 50

LISTA DE SÍMBOLOS

%	por cento
α	alfa
β	beta
ʎ	comprimento de onda
ºC	graus Celsius
©	direito do autor
®	marca registrada

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UNINOVE	Universidade Nove de Julho
TCLE	termo de consentimento livre esclarecido
FFOUSP	Fundação da faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
3Ms	terceiros molares
aPDT	terapia fotodinâmica antimicrobiana
G	grupo
n	Tamanho da amostra
QVRS	qualidade de vida relacionada a saúde
nm	nanômetros
J	Joules
J/cm^2	Joules por centímetro quadrado
PCRq-RT	reação de polimerase em cadeia quantitativo em tempo real
Tf	*Tannerella forsythia*
IL1-β	interleucina 1-beta
TNF-α	fator de necrose tumoral alfa
FS	fotossensibilizador
AM	azul de metileno
ROS	espécies reativas de oxigênio
DNA	ácido desoxirribonucleico
OHIP	Perfil de impacto da saúde oral

QV	qualidade de vida
FBM	fotobiomodulação
IL-6	interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IL-10	interleucina 10
Il-17	interleucina 17
ICC	coeficiente de correlação intraclasse
ASA	Sociedade americana de anestesiologia
µm	micrômetros
W/cm^2	Watts por centímetro quadrado
cm^2	centímetro quadrado
mL	mililitro
µl	microlitro
pg	picograma
Tris	hidroximetilaminometano
EDTA	ácido etilenodiamino tetra-acético
mM	milimolar
VAS	escala visual analógica
FGC	fluido gengival crevicular
MA	Massachusetts
USA	Estados Unidos da América
p	probabilidade
mm	milímetros

SUMÁRIO

	Página
1. CONTEXTUALIZAÇÃO	15
1.1 Pericoronarite	15
1.2 Terapia Fotodinâmica	19
2. OBJETIVOS	25
2.1 Geral	25
2.2 Específicos	25
3. MÉTODO	26
3.1 Calibração	26
3.2 Cálculo do tamanho da amostra	26
3.3 Descrição da amostra	27
3.4 Critérios de Inclusão/Exclusão	27
3.5 Randomização	27
3.6 Desenho experimental	28
3.7 Metodologia da irradiação	28
3.8 Variáveis do estudo	30
4. ANÁLISE DE DADOS	37
5. RESULTADOS	38
6. DISCUSSÃO	51
7.CONCLUSÃO	59
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
Anexo 1 - Protocolo publicado na revista Medicine	74
Anexo 2 - Protocolo publicado na revista Medicine	75
Anexo 3 - Parecer consubstanciado CEP	76
Anexo 4- Termo de consentimento Livre e Esclarecido	81
Anexo 5- Termo de Assentimento	84
Anexo 6- Anamnese	85
Anexo 7- Questionário OHIP-14	87
Anexo 8- CONSORT- Fluxograma	88
Anexo 9- CONSORT *checklist*	89

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

Pericoronarite é o termo usado para descrever a inflamação dos tecidos moles ao redor das coroas dentárias, geralmente observada em terceiros molares inferiores semi-irrompidos (Wehr *et al.*, 2019, Rolek *et al*., 2024, Arekhi et al., 2024). Representa a principal infecção oral aguda de adultos jovens (Sencimen *et al.*, 2014), com maior prevalência entre 21 e 25 anos de idade (*Wehr et al*., 2019).

Apesar de dados sobre prevalência serem limitados (Folayan *et al*., 2014), estudos mostram que a pericoronarite representa a principal razão que leva a extração de terceiros molares (Alves-Pereira *et al*., 2017; Katsarou *et al*., 2019). Segundo Patel *et al*. (2017), de 1198 extrações realizadas em uma universidade na Índia, 33,81% foram em decorrência da pericoronarite. Em outro estudo observou-se que de 472 terceiros molares encaminhados para extração, 64% apresentavam pericoronarite (Knutsson *et al*., 1996). Tal quadro inflamatório foi observado em 46,8% de 2252 terceiros molares inferiores extraídos (Baitaneh *et al*., 2003). Pepper *et al.*, (2016) atribuíram a 88% das queixas odontológicas em militares britânicos, à pericoronarite. Esta, foi ainda observada em 28,4% de 1763 indivíduos avaliados em uma universidade (Adeyemo *et al.*, 2008) e, em 4,92% de jovens militares (Katsarou *et al.,* 2019).

A pericoronarite pode estar ou não acompanhada de infecção (Catão; Costa 2004; Tang *et al*., 2014). Os sinais e sintomas são dor, presença de opérculo gengival (porção de tecido gengival que sobrepõe parcialmente a face visível da coroa do dente semi-irrompido), edema na face, secreção purulenta, halitose e maceração da mucosa (proveniente do trauma oclusal por aumento do volume alveolar). São ainda relatados como manifestações clínicas comuns: linfoadenopatia, dor reflexa em ouvido e cabeça, dificuldade para deglutir e dificuldade de abertura de boca devido ao trismo muscular (Dicus -Brookes *et al*.,2013). Sabe-se que os sintomas e a evolução da doença são individuais, pois resultam da interação patógeno-resposta imune do hospedeiro. (Gelesko *et al.,* 2009).

A pericoronarite pode ser classificada como aguda ou crônica, em função do tempo de duração (Mansfield *et al.*, 2012) e como branda ou severa, dependendo da gravidade dos sinais e sintomas presentes (Catão; Costa 2004).

Inicialmente, o indivíduo relata dor, mas não apresenta febre ou supuração (Tang *et al.,* 2014). A resposta inflamatória implica na produção de mediadores (IL1-β e TNF-α) (Beklen et *al.,* 2005; Corrêa *et al*., 2016; Kellesarian *et al*., 2017) e recrutamento de células do sistema imunológico (neutrófilos, linfócitos e macrófagos) (Laine *et al*., 2003; Gelesko *et al.,* 2009). Quadros clínicos brandos podem evoluir para quadros mais severos, com infecção do tecido pericoronário e formação de exsudato purulento (Rajasuo *et al.,* 2007), com presença de bactérias produtoras de β lactamases (Sixou *et al*., 2003; Sencimen *et al.,* 2014). Estes casos mais graves, podem ser acompanhados de febre, linfonodo palpável e mal-estar (Johri;Piecuch, 2011). A pericoronarite pode, em alguns casos, sofrer disseminação, promovendo processos infecciosos de ordem sistêmica, tais como a septicemia, osteítes e osteomielites (Li *et al.*; 2024), infecção da pleura e do mediastino e, infecção dos espaços faciais profundos (Pinto *et al*., 2005), sendo necessária hospitalização (Peterson *et al*., 2000).

Várias são as causas da pericoronarite, dentre elas: sulco distal profundo (Sixou *et al.,* 2003), falta de suporte ósseo para o periodonto, (em decorrência da proximidade do dente com o ramo ascendente da mandíbula), dente parcialmente irrompido, presença de opérculo gengival (Rajasuo *et al*., 1996), trauma mecânico causado pelo antagonista e consequente formação de exsudato inflamatório (Gelesko *et al*., 2009), dificuldade de higienização e desenvolvimento de colônias bacterianas entre o espaço da coroa do dente e a margem de gengiva que o recobre (Sixou *et al*., 2003). Alguns fatores sistêmicos também são descritos, como infecção do trato respiratório (Nguyen *et al.,* 2024), tonsilites e estresse físico e emocional, por diminuírem a defesa do organismo (Batineh;Al, 2003).

Durante a irrupção do terceiro molar, essa região apresenta dificuldade em ser higienizada, havendo formação de biofilme na superfície dentária (McArdle *et al*., 2014). Dentes semi-irrompidos permitem uma comunicação direta entre cavidade bucal e cavidade pericoronal. A presença do opérculo gengival (Van Winkelhoff; Steenbergen, 1988), somado aos restos alimentares, favorece a penetração de microrganismos na região pericoronal, implicando na formação de bolsas periodontais (Kandasamy *et al.,* 2009; Gelesko *et al*., 2009). Nestas, a colonização e proliferação de patógenos mostram-se facilitadas, por serem ambientes anaeróbicos (Ge *et al*., 2013)

Indivíduos portadores de pericoronarite enfrentam a decisão de extrair o terceiro molar ou monitorá-lo, escolha essa, que deve ser tomada em conjunto com o cirurgião-dentista, pesando riscos e benefícios, principalmente quando o caso é assintomático. A extração previne futuras patologias, porém pode levar a complicações cirúrgicas no pós operatório como dor, edema e trismo (Sampaio-Filho, 2016), além de causar um impacto na qualidade de vida nos primeiros dias pós cirurgia (Negreiros *et al.*, 2012). Algumas complicações pós-operatórias podem evoluir para infecção (Johri;Piecuch, 2011), ou ainda ter evoluções mais graves, como disseminação de infecção para espaços fasciais da cabeça, pescoço e tórax, podendo até levar a óbito (Jorge *et al.,* 2009).

A microbiota oral compreende uma imensa variedade de bactérias aeróbicas, anaeróbicas facultativas, estritamente microaerófilas e obrigatoriamente anaeróbias (Peltroche-Llacsahuanga *et al.,* 2000). Os microrganismos presentes na pericoronarite são basicamente anaeróbicos e Gram-negativos (Gutiérrez-Pérez*,* 2004). No estudo de Sencimen *et al*. (2014), as bactérias encontradas predominantemente associadas à pericoronarite foram: *Aggregatibacter actinomycemcomitans, Prevotella intermedia e Tannerella forsythia.* Rajasuo *et al*. (2007) relacionaram pericoronarite com *Prevotella intermedia, Tannerella forsythia e Porphyromonas gingivalis.* Na pesquisa de Mansfield *et al*. (2012) foi evidenciada *Tannerella forsythia* em abundância. No estudo de Peltroche-Llacsahuanga *et al.* (2000) encontraram, bactérias obrigatoriamente anaeróbias (dos gêneros *Actinomyces e Prevotella*) e anaeróbicas facultativas relacionadas a patologia em questão.

A bactéria *Tannerella forsythia* parece exercer papel importante no desenvolvimento dos sintomas clínicos da pericoronarite (Mendes *et al*., 2015), já que sua presença no biofilme aumenta em oito vezes o risco de desenvolver essa patologia, quando comparados a indivíduos sem a presença desta bactéria no biofilme dos 3Ms (Sencimen *et al*., 2014). No estudo de Jakovljevic *et al.*, (2017), *Tannerella forsythia* também foi associada ao desenvolvimento de pericoronarite, estando presente em 40% das amostras.

No biofilme, a presença de lipopolissacarídeos, antígenos e outros fatores de virulência bacterianos, desencadeiam resposta inflamatória no hospedeiro, ocorrendo a ativação de leucócitos polimorfonucleados e secreção de mediadores inflamatórios, tais como citocinas e quimiocinas (Yucel-Lindberg;

Båg, 2013), as quais são detectadas em fluidos orais. (Syndergaard *et al.,* 2014). Marcadores inflamatórios na saliva e fluido gengival crevicular (FGC) são importantes para determinar a presença, risco e fase de transição entre tecido gengival saudável e inflamado (Santos *et al.,* 2010; Kinney *et al.,*2014). Estudos mostram que a inflamação gengival está associada com o aumento de mediadores como IL-1β, TNF-α e IL-6 em saliva e fluido gengival crevicular (Boronat-Catala *et al.,* 2014; Lee *et al.,* 2012; Heasman *et al*., 1993). Yoshida *et al*. (2019), mostraram que o tratamento periodontal em pacientes com paralisia cerebral e gengivite resultou na redução dos níveis salivares de TNF-α, IL-1β, IL-6 e IL-8. Offenbacher *et al.* (2010), avaliando biomarcadores no FGC, em indivíduos nos quais a gengivite foi induzida, observaram alteração significativa dos níveis de TNF-α, MIP-1β (*Macrophage Inflammatory Protein-1 beta*), IL-1α, IL-1β e IL-8 desde a indução da gengivite até a resolução do quadro inflamatório. Estes trabalhos sugerem que as alterações do quadro inflamatório no tecido gengival refletem em mudanças do perfil dos marcadores inflamatórios nos fluidos orais. Na inflamação aguda, espera-se um aumento na expressão dos mediadores inflamatórios (Capelli Jr *et al.*, 2010; Krishnan *et al.*, 2006), como as interleucinas (IL). A interleucina IL-1β é um importante e sensível marcador de inflamação, pois além de ser encontrada precocemente nas regiões inflamadas, recruta outros mediadores celulares para o local. (Giannopoulos *et al*., 2006). Um aumento na concentração de IL-1β também parece estar relacionado a um aumento de dor (Giannopoulos *et al*., 2006, Yao et al., 2003; Yamauchi et al., 2009).

Apesar dos danos locais e sistêmicos que a pericoronite pode gerar, os dados na literatura sobre seus tratamentos são limitados. Diversas terapias já foram propostas, sendo relatados debridamento local seguido de irrigação com soro fisiológico, administração de antiinflamatórios e antibióticos, laserterapia, bochechos com clorexidina entre outros, sem, entretanto, existir uma padronização e eleição de um padrão ouro de tratamento (Schalch *et al.* 2022). Tal fato gera um desafio para desenvolver diretrizes terapêuticas baseadas em evidências para esta patologia, dificultando o manejo clínico da mesma.

Geralmente, o tratamento clínico da pericoronarite é feito de acordo com a intensidade da inflamação, com o grau da infecção que atinge os tecidos

periodontais (Quayle *et al.,* 1987), e complicações sistêmicas presentes (Catão; Costa 2004). Em todos os casos, a motivação do paciente em relação à higienização bucal é indispensável para tratá-la. O objetivo básico do tratamento é eliminar o agente causal, desinfetando a região (Eroglu *et al.,* 2018).

Quando a pericoronarite está restrita e bem localizada, sem exsudação purulenta e sem dor forte, o tratamento adotado tende a ser conservador: debridamento e irrigação local, visando desinfetar a bolsa pericoronária, com digluconato de clorexidina 0,12%, soro fisiológico morno ou água oxigenada a 10 volumes, pelo menos duas vezes ao dia e, administração de analgésicos, quando necessário (Johri;Piecuch, 2011).

Na evolução do quadro, é recomendada antibioticoterapia via oral, além do tratamento já proposto anteriormente. Entretanto, estudos mostram que o uso indiscriminado e desnecessário de antibióticos para pericoronarite representa uma realidade na prática clínica (Schmidt *et al*., 2021).

Nas últimas décadas, nota-se um aumento cada vez maior de resistência bacteriana a antibióticos, principalmente aos beta-lactâmicos, classe de antibiótico mais utilizada, que compreende penicilinas, cefalosporina, cefamicinas e carbapenemas (Bush; Breadford, 2016). Estes, têm como elemento comum em suas estruturas moleculares um anel de quatro átomos conhecido como beta-lactâmico (Bush; Breadford, 2016). Dos mecanismos de resistência bacteriana, destaca-se a ação de enzimas chamadas β-lactamases (Williams, 1999). Estas, quebram o anel beta-lactâmico dos antibióticos, desativando suas propriedades antibacterianas, tornando seu uso ineficaz para controle de muitas infecções (Williams, 1999).

A exodontia do terceiro molar costuma ser a solução final para pericoronarite, porém deverá ser realizada somente após tratamentos que controlem a infecção (Johri;Piecuch, 2011). A remoção do opérculo inflamado também não deve ser realizada, pois pode resultar em osteomielite ou celulite. A exodontia imediata pode introduzir bactérias nos espaços fasciais, causando celulite, que por sua vez, pode evoluir levando a óbito (Johri;Piecuch, 2011).

Visando reduzir as chances de disseminação sistêmica da infecção e diminuir o uso de antibióticos indiscriminadamente, torna-se necessário testar tratamentos efetivos na fase inicial da pericoronarite, evitando-se a evolução do quadro infeccioso. A terapia fotodinâmica antimicrobiana (do inglês *antimicrobial*

photodynamic therapy - aPDT) é uma alternativa interessante por ser um tratamento antimicrobiano eficaz, de fácil execução e que não causa resistência bacteriana (Batinjan *et al*., 2013; Bacellar *et al*., 2015; Birang *et al.,* 2017); tem sido amplamente utilizada para descontaminação de canais endodônticos (Pourhajibagher *et al*., 2018), bolsas periodontais (Kikuchi *et al*., 2015) e diminuição de halitose em adolescentes (Mota *et al*., 2016), sendo uma alternativa não invasiva (Birang et *al.,* 2017) e um método terapêutico antimicrobiano eficiente (Eroglu *et al.,* 2018).

A terapia fotodinâmica é utilizada para redução microbiana (Park et al., 2020; Pires *et al.,* 2024) e se baseia na combinação adequada de um fotossensibilizador (FS), luz em um comprimento de onda específico e oxigênio (Mota *et al.,* 2015, Aebisher *et al*., 20204). De acordo com Bacellar *et al.* (2016) o primeiro passo necessário para ocorrer a aPDT é a absorção da luz pelo FS, o que desencadeará uma série de reações descritas pelo diagrama de Jablosnki (Figura1): o FS no estado fundamental é ativado pela luz no comprimento de onda adequado, passando para um estado excitado singleto, o qual pode perder energia por fluorescência, ou passar para o estado tripleto (Bacellar *et al*., 2015). Este pode perder energia por fosforescência, ou participar da formação de espécies reativas de oxigênio por dois mecanismos, reação do tipo I e tipo II. Na reação tipo I ocorre transferência de elétrons e produção de radicais livres; na reação tipo II ocorre transferência de energia (do FS para o Oxigênio tripleto) transformando o oxigênio em singleto que é extremamente reativo (George;Kishen, 2007; Nunez *et al.,* 2015). Embora os produtos gerados pelas reações de tipo I e tipo II sejam citotóxicas, a efetividade antimicrobiana da aPDT está mais associada com a produção de oxigênio singleto (Sharman *et al*.,1999; Jimenez-Banzo *et al.,* 2008).

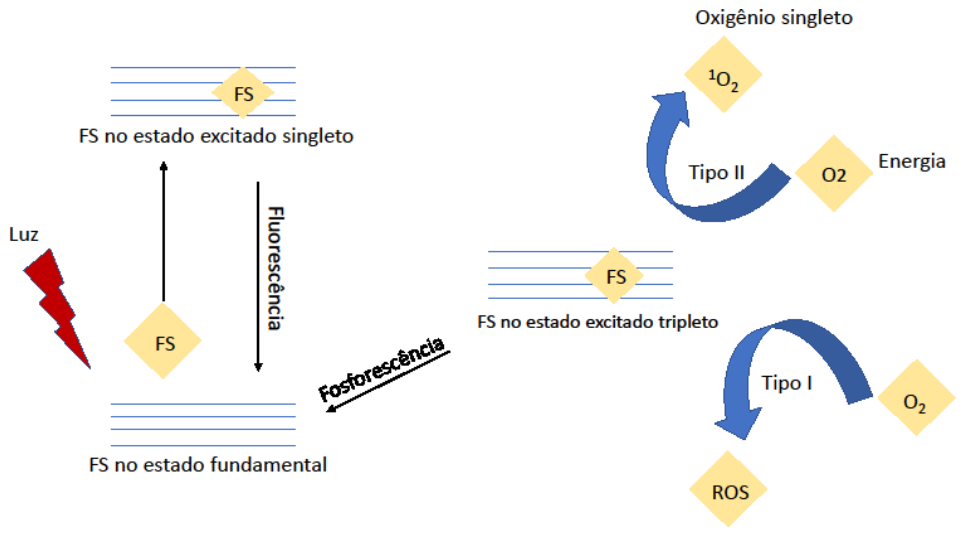


Figura 1- Diagrama de Jablonski. Fonte: adaptado de Fernandes *et al.,* 2017.

Segundo Mota *et al.* (2016), a aPDT causa destruição da parede celular e consequente morte dos microrganismos, sendo eficaz em eliminar patógenos periodontais (Oruba et *al.,* 2017). O efeito antimicrobiano da aPDT também se dá pelos danos causados pelas espécies reativas de oxigênio (ROS) ao DNA e proteínas celulares dos microorganismos (Joseph *et al.,*2017; Azaripour *et al*., 2018).

A terapia fotodinâmica tem efeitos benéficos adicionais do ponto de vista clínico e imunológico. Tal terapia permite fotobiomodulação no tecido (Joseph *et al*., 2017), melhorando sua reparação e diminuindo o processo inflamatório periodontal. Consequentemente, modula a resposta imunoinflamatória do hospedeiro, interferindo nos níveis de citocinas inflamatórias (Joseph *et al*., 2017). Eroglu *et al.* (2018) mostraram que a associação da aPDT ao uso de antibióticos mostrou melhores resultados clínicos e histológicos no tratamento de pericoronarite, quando comparado ao uso exclusivo de antibiótico. Em estudo com pericoronarite inicial, Elsadek *et al*. (2020), mostraram que a associação da irrigação com soro fisiológico à aPDT resultou numa redução mais significante de TNF-α e periodontopatógenos, quando comparado ao uso exclusivo de irrigação. Tais estudos sugerem que a aPDT, quando utilizada como terapia adjunta a tratamentos já consagrados,

promove melhorias significativas nos casos de pericoronarite, ressaltando a necessidade de estudos adicionais sobre sua aplicação.

Na aPDT é necessária a utilização de fotossensibilizadores, que devem agir por um tempo antes da irradiação (Fernandes *et al*., 2017). As fenotiazinas, como o azul de metileno, são fotossensibilizadores (FS) catiônicos que são bem absorvidos pela luz vermelha (Nunez *et al*., 2015), e representam o FS mais usado na Odontologia visando a ação antimicrobiana (Camacho-Alonso *et al.,* 2017; Joseph *et al.,* 2017). São moléculas tricíclicas planas que possuem um átomo de nitrogênio quaternário com eficiente fototoxicidade contra microorganismos (Nunez *et al*., 2015).

Dependendo da concentração do azul de metileno (AM), da força iônica, da temperatura, do veículo e da interação com o tecido alvo, (Bacellar *et al.,* 2015), moléculas desse FS podem reagir entre si e ocorrer a agregação, formando dímeros (George;Kishen, 2007), fator que influenciará nas reações tipo I ou tipo II. A tendência em agregar do AM, implica em uma maior quantidade de reação tipo I, diminuição da formação de oxigênio singlete e alteração do espectro de absorção do AM, mudando o comprimento de onda em que este é melhor absorvido (George;Kishen, 2007). Estudos revelam que a quantidade de dímeros no AM modulam as reações fotoquímicas e fotofísicas desse FS (Gabrielli *et al*., 2004). A presença de glicerol, polietilenoglicol ou álcool com glicerol em formulações de AM preveniram a agregação desse FS, sugerindo que a veiculação pode favorecer a aPDT. (George;Kishen, 2007). Collina *et al*, (2018) mostraram que, em comparação a outras veiculações (água, solução fisiológica - NaCl 0,9%, tampão fosfato salino - PBS, e ureia 1 mol/L), o dodecil sulfato de sódio 0,25% foi o único que aumentou a eficiência do AM na aPDT, por controlar a agregação molecular, confirmando a importância do veículo na eficiência do FS.

Patil *et al*. (2000), por meio de análise em espectofotômetro, revelaram que há diferença nos picos de absorção entre monômeros e dímeros de AM usando veículo aquoso, o que deve ser levado em conta ao se realizar aPDT e analisar sua efetividade. O monômero mostra melhor absorbância no comprimento de onda próximo a 660nm, enquanto o dímero próximo a 600nm.

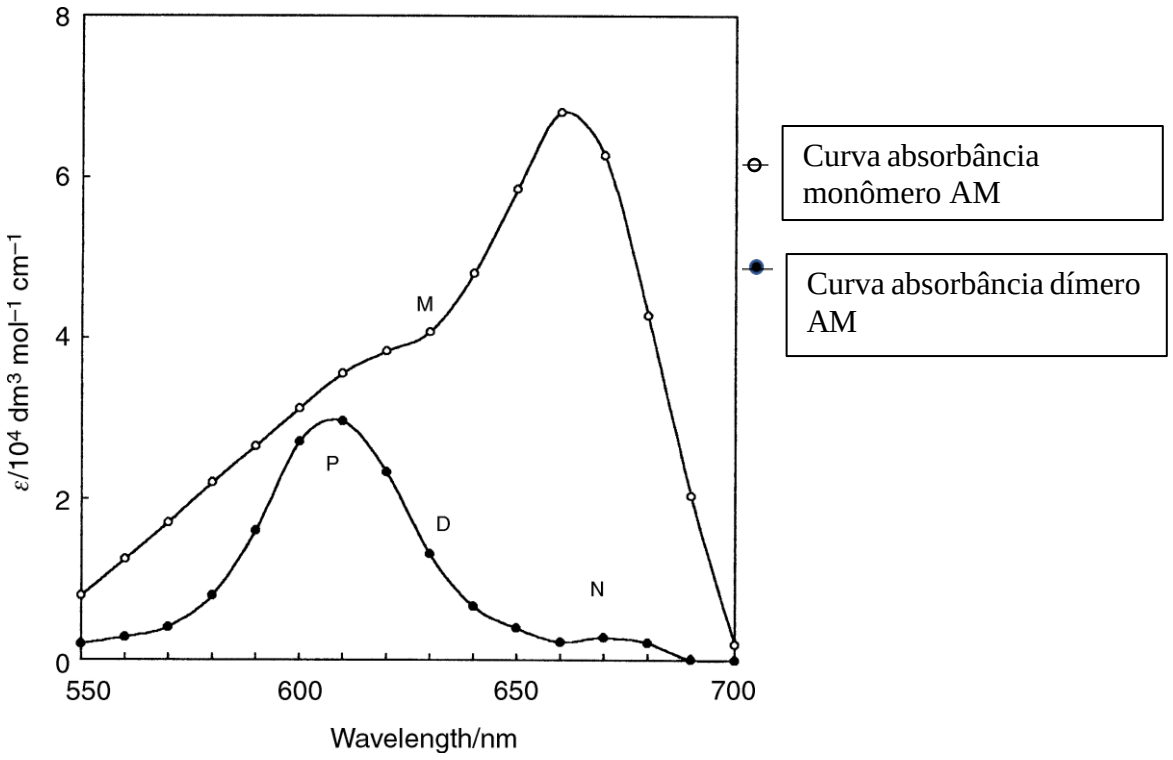


Figura 2- Diferença dos picos de absorção entre monômeros e dímeros de AM em veículo aquoso

Fonte: Patil *et al*., 2000

Estudos demonstram que o impacto da sintomatologia da pericoronarite na qualidade de vida do indivíduo pode ser grande (McNutt *et al.,*2008). Na Odontologia, um dos indicadores mais utilizados, internacionalmente, para avaliar a qualidade de vida relacionada a saúde oral é o questionário de Perfil de Impacto da Saúde Oral (OHIP)-14 (Slade *et al.,* 2004). Tal questionário pergunta sobre os impactos adversos das condições orais sobre o bem-estar, incluindo dor, estado psicossocial, interação social e atividades diárias (Slade *et al.,* 2004). Seu resultado é calculado por método aditivo variando o resultado de 0 a 56. Consiste em 14 perguntas, com respostas de 0 a 4 para cada uma delas (Oliveira; Nadanoysky, 2005), e está associado à necessidade percebida de tratamento (Ibikunle; Adeyemo, 2017). Baseia-se no modelo de saúde oral de Locker que considera que as doenças provocam deficiências e limitações funcionais ao nível do órgão, podendo o indivíduo ficar incapacitado ou com uma desvantagem na sociedade. (Allen; Locker, 1997). O

OHIP-14 integra duas perguntas para cada uma das sete dimensões: Limitação funcional, Dor física, Desconforto Psicológico, Incapacidade física, Incapacidade psicológica, Incapacidade social e Desvantagem, podendo ser analisado por meio desses 7 domínios ou sob 3 aspectos: físico, psicológico e social (Zucoloto; Campos, 2014).

O desenvolvimento dos indicadores que relacionam problemas bucais com a qualidade de vida surgiu da necessidade de conhecer a condição de saúde percebida subjetivamente e saber o impacto dos problemas de saúde bucal sobre a qualidade de vida (QV) (Ferreira *et al.,* 2004). A QV é considerada tão válida quanto as tradicionais medidas psicológicas, biológicas e de avaliações clínicas (Shugars *et al*., 1996), porém sua mensuração, relacionada a determinado problema de saúde, pode ser difícil não só porque tem significados subjetivos (Savin; Ogden, 1997), mas também por ser um conceito multidimensional (Avellaneda-Gimeno, 2017).

Magraw *et al.* (2015) estudaram o impacto da dor na qualidade de vida em pacientes com pericoronarite e, concluíram, que a dor implica na piora da qualidade de vida relacionada a saúde (QVRS), levando à decisão de exodontia do terceiro molar (Tang *et al.,* 2014. Resultados similares foram observados por Tang *et al*. (2014), que observaram diminuição dos índices do OHIP-14, bem como melhora da qualidade de vida, em indivíduos com pericoronarite, após extração do terceiro molar. O indicador OHIP-14 também foi utilizado por Yurtutan *et al*. (2020) para avaliar o impacto da saúde bucal em indivíduos com pericoronarite e, revelou, que houve redução significante dos índices do OHIP-14 depois do tratamento, seja com extração dentária ou cuidados periodontais. Estes trabalhos indicam que a pericoronarite pode interferir negativamente na QVRS (McNutt 2008; Avellaneda-Gimeno, 2017), sendo de extrema importância os cirurgiões dentistas saberem abordar tal quadro, melhorando os parâmetros de saúde do indivíduo. (Silvestri; Singh, 2003).

Portanto, visando reduzir o impacto negativo da pericoronarite, torna-se necessário o estudo de métodos alternativos que tratem essa patologia em sua fase inicial de forma efetiva, evitando-se sua agudização e consequente uso de antibioticoterapia.

2 – OBJETIVOS

2.1- Geral

Avaliar e comparar a eficácia de dois protocolos de aPDT (uma nova fórmula patenteada de azul de metileno em veículo surfactante - dodecil sulfato de sódio e o AM convencional) como tratamento adjunto no manejo de pericoronarite inicial, em terceiros molares inferiores, de jovens saudáveis sistemicamente, por meio da avaliação clínica, microbiológica e de resposta imunorregulatória.

2.2 – Específicos

- Avaliar a dor dos participantes, por meio da escala analógica visual (VAS) (objetivo primário do estudo);
- Avaliar o edema dos participantes, por meio de medições com régua flexível (em milímetros);
- Avaliar a abertura bucal dos participantes, por meio de aferições com paquímetro digital (em milímetros);
- Avaliar a posição dos terceiros molares, segundo a classificação de Pell e Gregory e Winter;
- Avaliar citocinas inflamatórias TNF-α, IL1-β, IL-6, IL-8, IL-12 e IL-17 e regulatórias IL-10 no fluido gengival crevicular pelo método LUMINEX®;
- Avaliar a presença da bactéria *T. forsythia* e bactérias totais na saliva e biofilme, através de PCR em tempo real;
- Mensurar o impacto da saúde bucal na qualidade de vida em indivíduos com pericoronarite, por meio do questionário OHIP-14;

3- MÉTODO

Este é um estudo controlado, randomizado e duplo cego. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Nove de Julho (UNINOVE) sob número 2.696.699 (Anexo 2). Após explicação verbal e por escrito do estudo, os indivíduos que aceitaram participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 3). Caso o paciente fosse menor de idade, era aplicado o termo de assentimento (Anexo 4). Os indivíduos envolvidos na pesquisa foram provenientes de dois centros de estudos: indivíduos que procuraram a clínica Odontológica de graduação da Universidade Nove de Julho (UNINOVE) (centro coordenador), e os indivíduos que procuraram a triagem do Curso de Especialização em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofaciais coordenado pelo Prof. Dr. Waldyr Antônio Jorge e equipe, na Fundação – FFOUSP, para avaliação de terceiros molares.

3.1 Calibração

Houve apenas um examinador que avaliou 10 indivíduos com pericoronarite, os quais não fizeram parte do estudo. Foram feitas avaliações clínicas de abertura de boca exatamente como proposto pelo presente trabalho. A correlação foi avaliada pelo teste de Kappa de forma a avaliar a concordância intra-examinador. Foi obtido um valor de ≥ 0,87 em relação ao parâmetro abertura de boca, que foi considerado satisfatório.

3.2- Cálculo do tamanho da amostra

O cálculo amostral foi realizado com auxílio do programa G*Power 3.1, considerando o desfecho primário dor. Para cálculo do tamanho do efeito, foram utilizados os dados estatísticos de Sezer *et al.,* 2012 e a fórmula a seguir, onde M_1 e M_2 são os valores médios dos grupos e S_1 e S_2 são seus respectivos desvios padrão.

$$\textit{Tamanho do efeito} = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{[(s_1^2 + s_2^2) / 2}$$

O tamanho de efeito foi de 0,4 e, considerando-se um poder de 0,8, obtivemos um tamanho amostral total de 34, ou seja, dois grupos com 17 indivíduos em cada.

3.3- Descrição da amostra

A amostra foi composta por 34 indivíduos saudáveis, de ambos os sexos, com idade entre 13 a 35 anos com pericoronarite em fase inicial (sem febre e sem secreção purulenta).

3.4- Critérios de inclusão/exclusão

Foram incluídos neste estudo indivíduos sem comorbidades, com idades entre 13 e 35 anos, com terceiro molar inferior irrompido ou semiirrompido, com pericoronarite.

Foram excluídos do trabalho os seguintes indivíduos: alérgicos ao azul de metileno, aqueles que tinham usado antiinflamatórios ou antibióticos nos últimos três meses, mulheres grávidas ou amamentando, indivíduos com exudato purulento e aqueles com febre (com temperatura acima de 37,8º C), o que pode sugerir infecção. A temperatura local foi medida na região do ângulo mandibular, 2cm acima da borda mais baixa da mandíbula (modelo "*No touch Forehead*", Columbus, USA).

Se incluídos na pesquisa, os indivíduos eram submetidos a anamnese. (Anexo 5)

3.5 Randomização e cegamento

Um pesquisador externo à pesquisa (ACRTH) realizou a randomização por meio do programa sealedenvelope.com, para distribuir aleatoriamente 10 blocos com 4 indivíduos. Randomizamos 6 indivíduos a mais caso ocorresse alguma perda (*drop out*), ou seja, foram randomizados 40 participantes. Como o estudo é duplo-cego, o participante e o operador não souberam qual o tratamento executado. A única pessoa que sabia era o pesquisador responsável

pela confecção dos envelopes, sendo esse dado revelado somente após análise estatística dos dados. Os números sorteados foram colocados no interior de envelopes opacos identificados com números sequenciais. Os envelopes foram selados e permaneceram lacrados nessa mesma ordem numérica em um lugar seguro até o momento do tratamento.

3.6 Desenho Experimental

Este é um ensaio clínico controlado, randomizado e duplo-cego. Os 34 indivíduos foram distribuídos em 2 grupos:

G1 (n=17): grupo controle positivo- irrigação com soro fisiológico estéril + azul de metileno tradicional na concentração de 0,005% e irradiação com laser no comprimento de onda vermelho (λ=660 nm, exposição radiante de 318 J/cm^2). A terapia fotodinâmica foi realizada em três pontos, um vestibular, um lingual e outro na região do opérculo/sulco distal do terceiro molar.

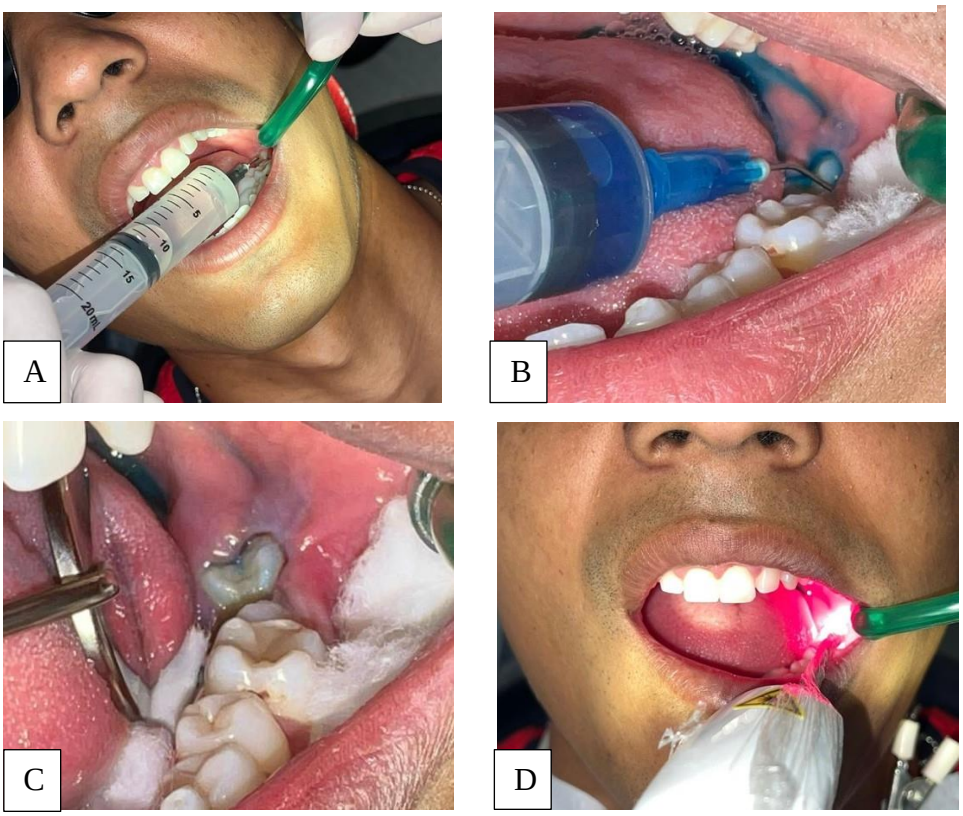
G2 (n=17): grupo experimental - irrigação com soro fisiológico estéril + nova fórmula de azul de metileno patenteada 0,005% (INPI BR 1020170253902) e irradiação com laser no comprimento de onda vermelho (λ=660 nm, exposição radiante de 318 J/cm^2). A terapia fotodinâmica foi realizada em três pontos, um vestibular, um lingual e outro na região do opérculo/sulco distal do terceiro molar.

3.7 Metodologia da irradiação- especificações do laser de baixa potência e dosimetria

Todos os indivíduos (G1 e G2) foram irrigados com 10 ml de soro fisiológico estéril, na região do opérculo/ sulco gengival do terceiro molar inferior. Antes de irradiar, foi utilizado como fotossensibilizador 0,5 ml de solução de azul de metileno na concentração de 0,005%, que podia ser o azul de metileno tradicional ou a nova fórmula para uso oral, patenteada. Aguardamos 1 minuto e, então, perpendicularmente ao tecido, iniciamos a irradiação com emissão de luz vermelha, com comprimento de onda 660nm (λ=660 nm ±10nm) (Therapy XT DMC, São Carlos, Brasil) (ANVISA 800308110157), entregando 9 J por ponto

por 90 segundos, gerando exposição radiante (fluência) de 318 J/cm^{2}· A área de spot foi 0.002826 cm^{2} e a irradiância foi de 3,5 W/cm^{2} (Quadro 1) Participantes receberam irradiação em três pontos, um vestibular, um lingual e outro na região do opérculo/sulco distal do terceiro molar (Figura 4). Durante a aplicação o operador (TOS) usou luvas e óculos de proteção; o voluntário também usou óculos de proteção. A ponta ativa do instrumento foi protegida com plástico transparente descartável adaptado à ponta, evitando-se infecção cruzada (Mota *et al.,*2016). As fotos a seguir ilustram as etapas descritas:

Figura 3. Sequência da aPDT



A-irrigação com soro fisiológico; B- aplicação da fórmula de AM, segundo randomização C-tempo de pré irradiação de 1minuto; D- irradiação com laser de baixa potência. Fonte: própria

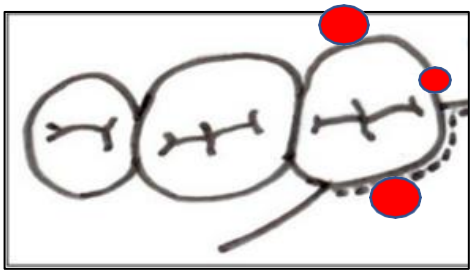


Figura 4- Ilustração dos pontos de irradiação Fonte: própria

Tabela 1. Parâmetros dosimétricos utilizados para a realização da terapia fotodinâmica antimicrobiana

PARÂMÊTROS	
Comprimento de onda [nm]	660
Modo de funcionamento	Contínuo
Potência [mW]	100
Irradiância [mW/cm^2]	3,538
Área do feixe [cm^2]	0,002826
Tempo de exposição [s]	90
Fluência [J/cm^2]	318
Energia [J]	9
Número de pontos irradiados	3
Técnica de aplicação	Contato
Número de sessões e frequência	sessão única

3.8 Variáveis de desfecho do estudo

Todas as variáveis descritas a seguir foram avaliadas pelo mesmo operador, antes da PDT (T0) e quatro dias depois da PDT (T1).

3.8.1 Sinais e sintomas clínicos

a) <u>Dor</u>: foi mensurada por meio da escala visual analógica (do inglês *Visual Analogic Scale* - VAS,), que consiste em uma linha de 100 mm, numerada em centímetros, com suas extremidades fechadas. Em uma extremidade escrito 0 (significa sem dor) e na outra extremidade, o número 100 (significa pior dor) o paciente foi instruído a marcar uma linha vertical no ponto que melhor se reproduzia a intensidade da dor que estava sentindo (Sampaio Filho, 2016).



Figura 5. Escala VAS de dor. Fonte Google imagens

b) <u>Abertura de boca</u>: foi mensurada por meio da utilização de paquímetro digital, verificando a distância interincisal do incisivo central direito superior e inferior (Sampaio Filho, 2016).



Figura 6- Aferição da abertura de boca com paquímetro digital. Fonte: própria

c) <u>Edema</u>: foi mensurado utilizando a soma de três medidas faciais pré-estabelecidas (I-canto do olho e angulo da mandíbula, II- tragus e comissura labial e III- tragus e pogônio) através de régua flexível (Sierra *et al.*, 2016).

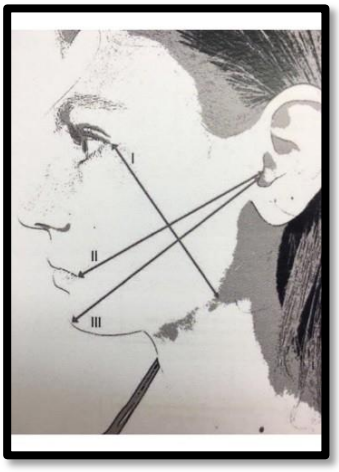


Figura 7- Medidas faciais edema. Fonte: Sampaio-Filho *et al*., (2016)

e) <u>Impacto da saúde bucal no bem estar e na qualidade de vida</u>: utilizando questionário OHIP-14 mensuramos o impacto da saúde bucal no bem estar dos indivíduos com pericoronarite, avaliando os domínio: limitação funcional, dor física, desconforto psicológico, incapacidade física, incapacidade psicológica, incapacidade social e desvantagem (Anexo 6) (Negreiros *et al*, 2012). Fizemos uma avaliação total, somando todos os domínios, e uma avaliação parcial, no qual somamos apenas os domínios dor física e incapacidade física.

f) <u>Posição e classificação dos terceiros molares inferiores</u>: a posição dos dentes foi avaliada por meio de radiografia panorâmica, segundo a classificação de Pell e Gregory e Winter (1942), realizada apenas por uma avaliadora, seguindo os critérios de linhas imaginárias conforme proposto por Almendros-Marques, (2008).

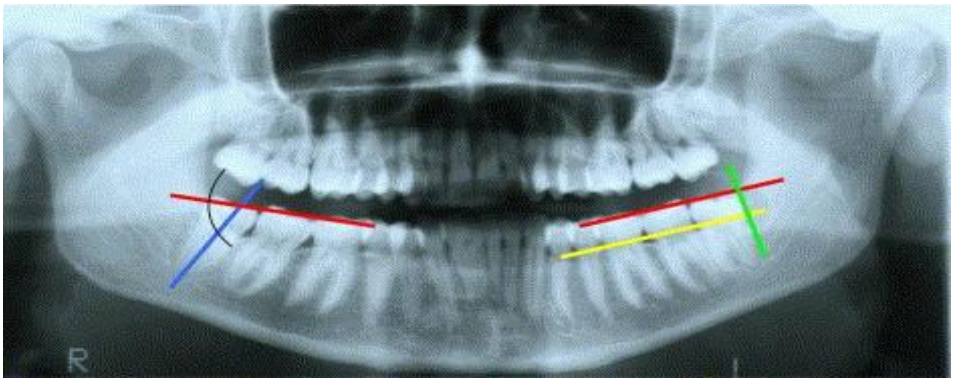


Figura 8- Classificação da posição do 3M. Fonte: Almendros-Marques, (2008**)**

3.8.2 Perfil de citocinas salivares e do fluido gengival crevicular:

As coletas de saliva e fluido gengival crevicular (FGC) foram realizadas antes da coleta de biofilme. Como já descrito, foram obtidos 3mL de amostra de saliva não estimulada, dos quais 2,5mL foram mantidas em tubos em recipiente com gelo e armazenadas a -80 °C para análise posterior no Laboratório da UNINOVE.

O fluido gengival crevicular foi coletado da região do opérculo/sulco distal. A região foi isolada usando roletes de algodão e seca usando leve jato de ar, tomando-se cuidado para não incidir o jato no sulco-bolsa gengival. Um cone de papel estéril foi inserido no sulco gengival até sentir resistência. Esse cone foi mantido em posição por 15 segundos, descartando-se aqueles que apresentaram sangue após coleta (Kinney *et al*., 2014). Nesse caso, depois de 90 segundos foi repetida a coleta como descrita. Os cones com FGC foram armazenados em tubos de microcentrifuga a -80ºC, onde permaneceram até análise (Kinney *et al*., 2014).

A cada tudo foi acrescetado 150 µL de PBS (*Phosphate Buffered Saline*), os quais foram, na sequência, submetidos a 10 segundos no vórtex e agitação por 20min em plataforma. Seguiu-se com centrifugação por 5min, 5800 g a 4 ºC e 130 µL do sobrenadante de cada amostra foi transferido para novos microtubos os quais foram armazenados a -80ºC.

Foram feitas determinações de níveis plasmáticos dos marcadores inflamatórios TNF-α, IL1-β, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 e IL-17 do FGC por Luminex®,

usando kits comerciais (R&D Systems, MN, EUA) conforme instruções do fabricante.

3.8.3 Análise microbiológica

Utilizando-se curetas periodontais minifive, foi coletado biofilme de 3 sítios diferentes (*pool* de 3 sítios) dos 3Ms: sulco disto-vestibular, sulco disto-lingual e região do opérculo/sulco distal. Essa coleta foi feita realizando-se movimento único em direção ao biofilme do fundo do sulco nas regiões disto-vestibular e disto-lingual. Na região de opérculo/sulco distal, esse movimento foi realizado duas vezes. O material coletado foi transferido para microtubos contendo 200 µL Tris-EDTA, guardados a -80 ºC para posterior análise no Laboratório da UNINOVE.

Também foi coletado de cada paciente, em tubo para centrífuga de 50mL, cerca 3mL de saliva não estimulada, dos quais 500 µL foram separados e adicionados a um microtubo já contendo 500 µl de Tris-EDTA. Esses tubos foram armazenados em freezer -80 ºC para posterior analise microbiológica salivar dos participantes.

A análise microbiológica foi realizada, por meio de PCR quantitativo em tempo real (PCRq-RT) para avaliação *de bactérias totais (Universal) e* da bactéria *T. forsythia*. A extração de DNA foi feita, com Meta-G-Nome™ DNA Isolation - MGN0910 (Epicentre Technologies Corp., Chicago, IL, USA). As amostras foram submetidas ao vortex por um minuto. Para iniciar a extração da saliva e biofilme utilizamos uma quantidade de 100µL de cada; essas quantidades foram colocadas em novos tubos de 1.5ml e, então, centrifugadas a a 4ºC por 10 minutos. Na sequência preparou-se o MIX em tubo falcon (300µL TCL + 2 µl Prot K para cada amostra – sempre fazendo o cálculo para 2 amostras a mais). Retirou-se o sobrenadante com pipeta, deixando 25µL de volume + o precipitado formado. Submeteu-se ao vortex por 10s para ressuspender o precipitado, adicionou-se 302 µL de MIX em cada amostra e levou-se ao vortex por 10s, novamente. Incubou-se a 65 ºC por 15 min, agitando no vortex a cada 5 min. As amostras foram colocadas no gelo por 5 min. Adicionou-se 150 µL de MPC (*protein precipitation reagente)* às amostras qie foram submetidas ao vortex por 10 segundos. Centrifugou-se a 10.000 rpm a 4ºC por 10 minutos, removendo

todo o sobrenadante e o transferindo para tubo novo, descartando o tubo com precipitado. Foi adicionado 25 µL de MPC (*protein precipitation)* ao sobrenadante (já colocado no tubo novo). Centrifugou-se a 10.000 rpm a 4ºC por 10 minutos. Foram adicionados 500 µL de isopropanol ao sobrenadante, invertendo os tubos 40x. Centrifugou-se a 10.000 rpm a 4ºC por 10 minutos. As amostras foram retiradas da centrifuga, deixando-as no gelo, para não soltar o precipitado. Verteu-se o isopropanol e removeu-se o restante com pipeta de 50 µL. Lavou-se com 200 µL de etanol 70% cuidadosamente para não desalojar o precipitado. Centrifugou-se a 10.000 rpm a 4 ºC por 3 minutos. Todo etanol residual foi removido. Lavou-se novamente com 200 µL de etanol 70% cuidadosamente para não desalojar o pellet. Centrifugou-se a 10.000 rpm a 4 ºC por 3 minutos. Todo etanol residual foi removido, deixando os microtubos 30 min invertidos secando. Foram acresecentados 20 µL de TE, congelando-se a -20 ºC.

Após a extração, a quantidade e qualidade do DNA foram estimadas por espectrometria (Nanodrop ND1000 - Thermo Fisher Scientific Inc.). Foi considerada aceitável a quantidade de 10-200ng/ µL para a realização da quantificação. Os pacientes com as amostras fora dessem range, foram excluídos para análise estatística.

Para a quantificação de *T. forsythia* nas amostras de biofilme e fluído gengival, foram utilizados oliginucleotídeos 16SrRNA espécie específico (Tabela 2, Shelburne et al. 2000). A reação será realizada com um volume total de 10µL contendo 5 µL do Syber Green (marca), 2 µL de amostra e 200mM de cada oligonucleotídeo. A ciclagem foi realizada *Holding* de 95C/10min, 40 ciclos a 95ºC/15s, 60ºC/1min e 74ºC/10seg; e uma curva de dissociação a 95ºC/15s, 60ºC/1 min (+0,6 °C coleta) e 95ºC/15s. Foram consideradas apenas as reações em que a eficiência fosse de 100% (+ou – 10) R^2 próximo de 1. Para a quantificação de bactérias totais nas amostras de biofilme e fluido gengival foram utilizados oligonucleotídeos 16SrRNA *Universal* espécie específicos (Tabela 2) (Shelburne et al., 2000). A reação foi realizada com um volume total de 10µL contendo 5 µL do Syber Green (marca e qual é), 2 µL de amostra e 200mM de cada primer para 16SrRNA. A ciclagem foi realizada *Holding* de 95C/10min, 40 ciclos de 95ºC/15s e 60ºC/1min; e uma curva de dissociação a 95ºC/15s, 60ºC/1 min (+0,6 °C coleta) e 95ºC/15s. Foram consideradas apenas as reações em que a eficiência fosse de 100%(+ou – 10) R^2 próximo de 1.

Os valores da quantificação bacteriana foram expressos em número de cópias de 16Srna/ μL.

Tabela 2: Sequências e referências dos *primers* a serem utilizados.

Bactéria	Sequência (5'-3')	Referência
T forsythia	5' GGGTGAGTAACGCGTATGTAACCT 3"e 5'ACCCATCCGCAACCAATAAA 3'	Shelburne et al., 2000
Universal	5' CCATGAAGTCGGAATCGCTAG 3''e 5' GCTTGACGGGCGGTGT 3'	Shelburne et al., 2000

4. ANÁLISE DE DADOS

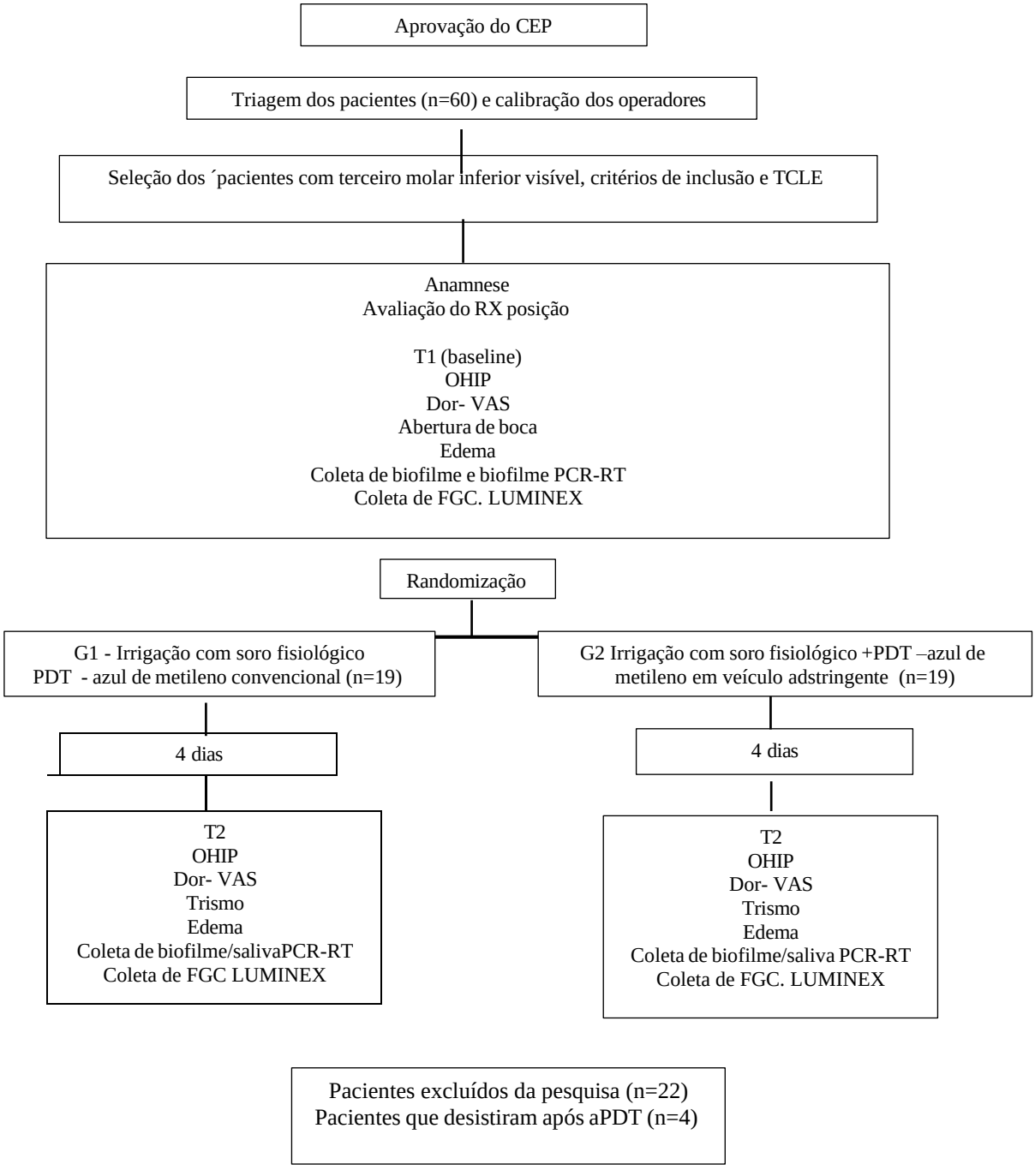
Para as análises estatísticas, foi utilizado o pacote do programa SPSS 29 for Windows (SPSS, Chicago, USA). O teste de Shapiro-Wilk foi usado para verificar a normalidade dos dados.

Os dados não paramétricos foram normalizados através de transformação logarítmica, sendo os dados normais expressos em média e desvio padrão, para análise descritiva. Para análise inferencial, o teste ANOVA de duas vias, complementado pelo teste de Bonferroni, foram aplicados para verificar as diferenças intra e entre os tratamentos com aPDT. Valores de $p<0.05$ foram considerados como significantes.

5. RESULTADOS

Ao longo das coletas clínicas, 4 participantes não retornaram, sendo imediatamente eliminados da pesquisa. Dessa forma, para atingir o n=34, atendemos um total de 38 indivíduos, seguindo a randomização pré-estabelecida. Durante as triagens, 22 pacientes foram excluídos da pesquisa, 6 por terem feito uso recente de anti-inflamatórios, 4 usos recente de antibiótico e 2 por apresentarem supuração local e 10 por apresentarem pouca ou nenhuma dor. O protocolo ocorreu no período de novembro de 2020 a maio de 2024.

Figura 9 – Fluxograma do estudo



A idade média e desvio padrão do grupo que fez uso do AM tradicional foi de 26,05 ±5,02 anos. O grupo que fez uso da nova fórmula de AM apresentou média de idade e desvio padrão de 26,52 ±3,89 anos. As variáveis categóricas sexo do participante e região tratada também estão descritas na tabela a seguir:

Tabela 3. Variáveis idade, sexo e região tratada segundo os grupos

		AM tradicional (n=17)	AM nova fórmula (n=17)
Idade (anos)		26,05 ± 5,02	26,52 ± 3,89
Sexo	feminino	12 (70,58%)	11 (64,70%)
	masculino	5 (29,41%)	7 (35,29%)
Região tratada	dente 38	8 (47,05%)	10 (58,82%)
	dente 48	9 (52,94%)	7 (41,17%)

Idade descrita em média e ± desvio padrão

5.1 Avaliação da dor, abertura de boca e edema

Ambos os grupos mostraram melhora significativa da dor após o tratamento com aPDT, sendo o valor de p=0,022 no grupo com AM tradicional e de p=0,001 no grupo que fez uso da nova fórmula de AM. Entretanto, não foi observada diferença estatística entre os dois grupos no que diz respeito aos valores de dor iniciais e finais (p=0,151 e p=0,845, respectivamente). Após o tratamento com aPDT, ambos os grupos apresentaram melhora estatística na abertura de boca, sendo o valor de $p<0.001$ no grupo submetido ao AM tradicional e de p=0,002 no grupo que fez uso da nova fórmula de AM. Apesar de haver diferença estatística entre os dois grupos referente aos valores iniciais de abertura de boca (p<0,001), não se notou diferença significante entre os dois grupos em relação aos resultados (p=0,318). Em relação ao edema de face, não foi observada diferença estatística antes e após aPDT tanto no grupo submetido ao AM tradicional (p= 1,0) bem como no grupo com a nova fórmula de AM (p=0,735). Também não se notou diferença significante entre os grupos em relação aos valores iniciais e finais de edema (p=0,800 e p=0,822, respectivamente). As tabelas e gráfico a seguir resumem os dados encontrados:

Tabela 4. Comparação da dor, abertura de boca e edema entre os grupos, antes e depois do tratamento

		AM tradicional	AM nova fórmula	*p*	IC 95% Menor limite	IC 95% Maior limite
Dor (VAS)	Baseline	32,60 ± 17,98	36,8 ± 23,65	0,151	6,81	30,81
	4dias	8,27 ± 10,87	4,0 ± 6,42	0,845	0,53	0,62
Ab. boca (mm)	Baseline	44,59 ± 9,46	43,26 ± 7,95	< 0,001	37,22	46,02
	4dias	50,38 ± 6,39	47,84 ± 7,25	0,318	2,72	7,80
Edema (mm)	Baseline	355,41 ± 12,07	356,52 ± 16,43	0,800	8,07	10,31
	4dias	355,42 ± 11,98	356,41 ± 16,59	0,822	8,25	10,25

Valores de dor aferidos com escala VAS; valores de abertura de boca e edema aferidos em milímetros; valores esses descritos em média e desvio padrão. Valores de p e IC 95% calculados através de ANOVA de 2vias, sendo considerado valor de significância $p < 0,05$; ajuste para comparações múltiplas: Bonferroni.

Tabela 5. Comparação da dor, abertura de boca e edema intragrupos, antes e depois do tratamento

		Baseline	4dias	*p*	IC 95% Menor limite	IC 95% Maior limite
Dor (VAS)	AM tradicional	32,60 ±17,98	8,27 ± 10,87	0,022	6,58	49,21
	AM nova fórmula	36,8 ± 23,65	4,0 ± 6,42	0,001	30,95	48,93
Ab. boca (mm)	AM tradicional	44,59 ± 9,46	50,38 ± 6,39	< 0,001	45,23	52,24
	AM nova fórmula	43,26 ± 7,95	47,84 ± 7,25	0,002	2,02	7,12
Edema (mm)	AM tradicional	355,41 ± 12,07	355,42 ± 11,98	1,000	0,315	0,315
	AM nova fórmula	356,52 ± 16,43	356,41 ± 16,59	0,735	0,607	0,842

Valores de dor aferidos com escala VAS; valores de abertura de boca e edema aferidos em milímetros; valores esses descritos em média e desvio padrão. Valores de p e IC 95% calculados através de ANOVA de 2vias, sendo considerado valor de significância $p < 0,05$; ajuste para comparações múltiplas: Bonferroni.

Gráfico 1. Avaliação da dor entre os grupos antes e após tratamento

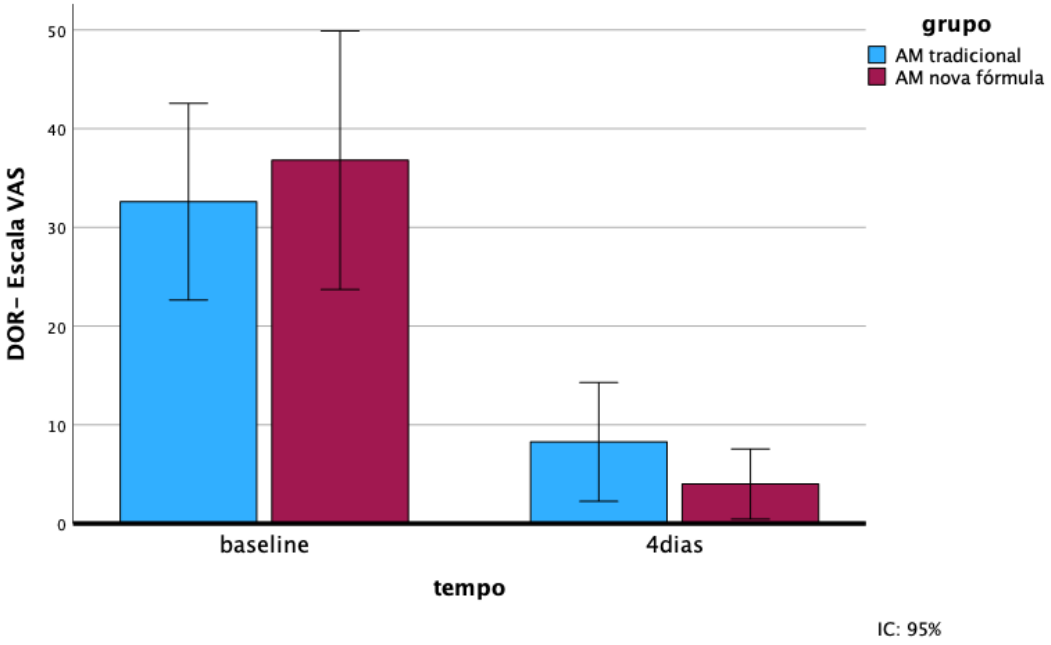
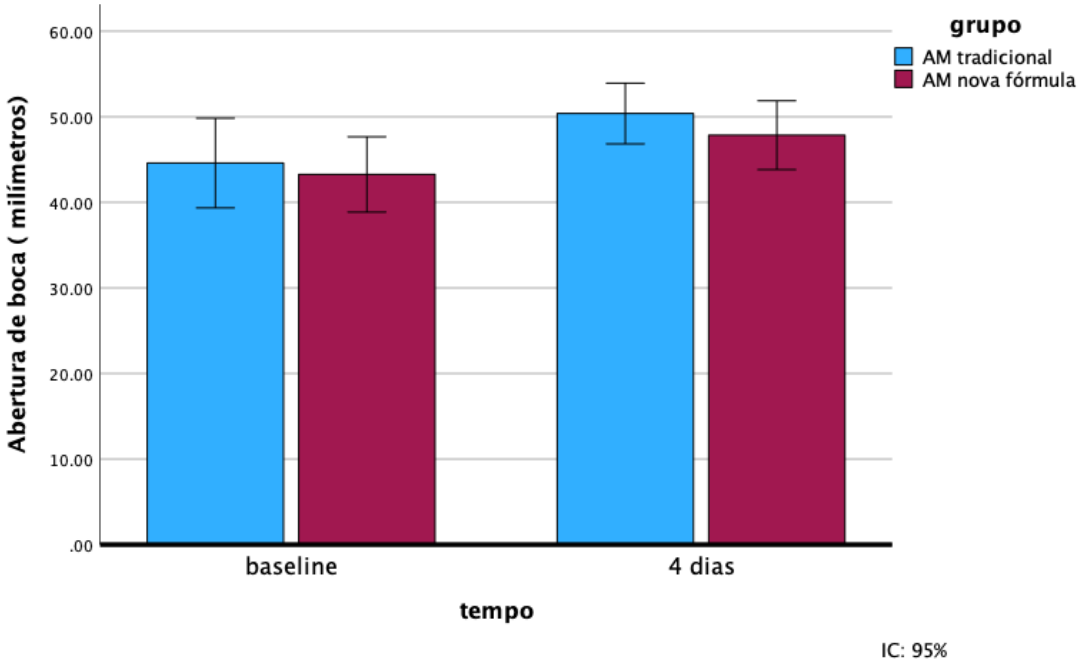


Gráfico 2. Avaliação da abertura de boca entre os grupos antes e após tratamento



5.2 Impacto da saúde bucal no bem-estar e na qualidade de vida

A análise estatística da somatória do OHIP TOTAL (todos os domínios) não revelou diferença significante, antes e após o tratamento, entre os grupos (p=0,096) e intragrupos (AM tradicional p=0,059 e AM nova fórmula p=0,600). Também não se notou diferença significante da somatória do OHIP PARCIAL (apenas domínios dor física e incapacidade física), antes e após o tratamento entre os grupos (p=0,691) e intragrupos, (AM tradicional p=0,329 e AM nova fórmula p=0,307). As tabelas 6 e 7 resumem os valores encontrados.

Tabela 6. Comparação entre as somatórias de OHIP TOTAL e PARCIAL, entre os grupos, antes e depois do tratamento

		AM tradicional	AM nova fórmula	*p*	IC 95% Menor limite	IC 95% Maior limite
OHIP TOTAL	Baseline	20,12 ± 8,90	23,41± 9,89	0,226	2,25	8,84
	4dias	18,35 ± 8,50	22,76±10,80	0,096	0,87	9,70
OHIP PARCIAL	Baseline	9,06 ± 3,28	9,59± 3,65	0,612	1,63	2,69
	4dias	8,35 ± 3,04	8,88 ± 4,35	0,691	2,24	3,29

Valores das somatórias do OHIP TOTAL e PARCIAL expressos em média e desvio padrão. Valores de p e IC95% foram calculados através de ANOVA 2vias, sendo considerado valor de significância p 0,05; ajuste para comparações múltiplas: Bonferroni

Tabela 7. Comparação entre as somatórias de OHIP TOTAL e PARCIAL, intragrupos, antes e depois do tratamento

		Baseline	4dias	*p*	IC 95% Menor limite	IC 95% Maior limite
OHIP TOTAL	AM tradicional	20,12 ± 8,90	18,35 ± 8,50	0,059	0,76	3,70
	AM nova fórmula	23,41± 9,89	22,76±10,80	0,600	1,91	3,21
OHIP PARCIAL	AM tradicional	9,06 ± 3,28	8,35 ± 3,04	0.329	0,77	2,19
	AM nova fórmula	9,59± 3,65	8,88 ± 4,35	0,307	0,71	2,12

Valores das somatórias do OHIP TOTAL e PARCIAL expressos em média e desvio padrão. Valores de p e IC95% foram calculados através de ANOVA 2vias, sendo considerado valor de significância p 0,05; ajuste para comparações múltiplas: Bonferroni

5.3 Posição e classificação dos terceiros molares inferiores

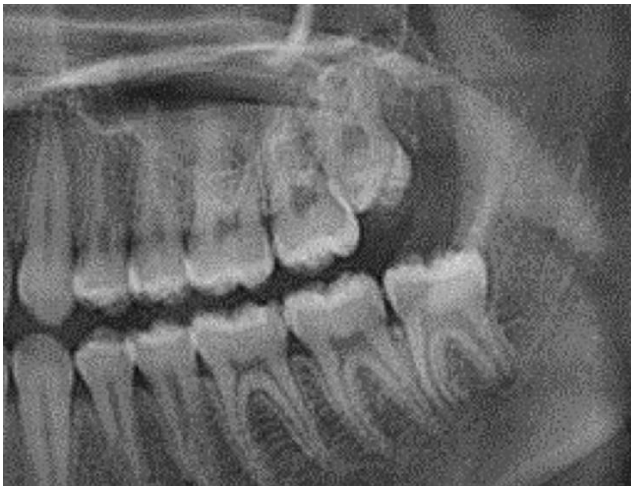
A posição dos terceiros molares da pesquisa segundo classificação de Pell, Gregory e Winter, números de casos e respectivas porcentagens encontram-se na tabela 8. As figuras 10 e 11 representam as duas posições mais prevalentes na pesquisa (AIIV e AIV).

Tabela 8. Número de casos do estudo segundo Pell, Gregory e Winter e suas respectivas porcentagens

Posição segundo classificação de Pell, Gregory e Winter	N° casos	Porcentagem dos casos (%)
AIIV	15	44%
AIV	10	30%
BIIV	5	15%
BIV	2	5%
AIIH	1	3%
BIID	1	3%

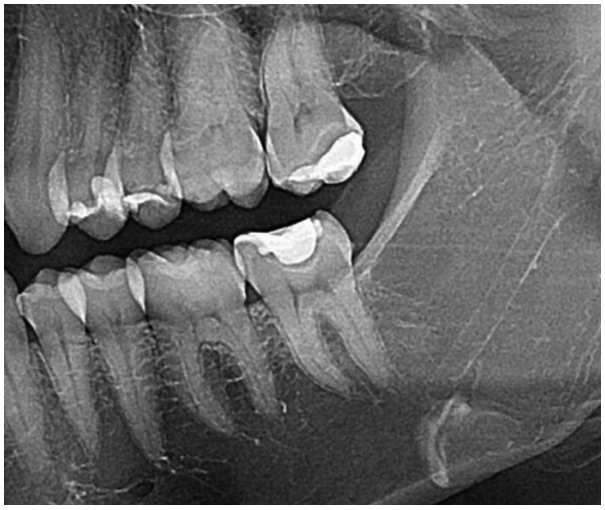
As letras A,B e C registradas referem-se à profundidade de impactação do dente; os números romanos referem-se à relação do dente com ramo mandibular;as letras V, H e D referem-se à orientação do dente segundo seu longo eixo (verticalizado, horizontal e distalizado)

Figura 10. Radiografia panorâmica mostrando dente 38 AIIV segundo classificação de Pell, Gregory e Winter



Fonte: própria

Figura 11. Radiografia panorâmica mostrando dente 38 AIV segundo classificação de Pell, Gregory e Winter



Fonte: própria

5.4 Perfil de citocinas do fluido gengival crevicular

Apesar de terem sido submetidas para análise as citocinas TNF-α, IL1-β, IL-6, IL-8, IL-10 e IL-17 do FGC pelo método Luminex®, apenas as citocinas IL1-β e IL-8 apresentaram quantidades detectáveis relevantes.

A análise estatística não revelou diferença significante entre os dois grupos, nos dois tempos, para ambas as citocinas, com exceção do IL1-β no baseline, que mostrou diferença estatística entre os dois grupos (p=0,009).

Entretanto, ao se fazer uma análise intragrupos, notou-se redução significante de IL1-β após tratamento no grupo que fez uso do AM nova fórmula (p=0,001), o que não foi observado no grupo com AM tradicional (p=0,252). Não houve diferença significante referente a IL-8 intragrupos, após aPDT. As tabelas e gráficos a seguir resumem e evidenciam os resultados citados.

Tabela 9. Comparação das concentrações de IL 1- β e IL-8 entre os grupos, antes e depois do tratamento.

		AM tradicional (pg/mL)	AM nova fórmula (pg/mL)	*p*	IC 95% Menor limite	IC 95% Maior limite
IL 1- β	Baseline	563,71 ± 534,29	716,25 ± 934,12	0,009	178,86	943,26
	4dias	466,32 ± 396,52	310,79 ± 212,23	0,383	228,17	539,23
IL-8	Baseline	204,94 ± 168,67	208,18 ±152,45	0,970	188,87	195,35
	4dias	204,80± 186,71	187,85 ±138,43	0,816	143,51	177,42

Concentração de IL 1- β e IL-8 no baseline e 4dias após tratamento entre os grupos AM tradicional e AM nova fórmula, expressas em média e desvio padrão pg/mL. Valores de p e IC de 95% foram calculados através de ANOVA de 2vias, sendo considerado Valor de significância p <0,05; ajuste para comparações múltiplas: Bonferroni.

Tabela 10. Comparação das concentrações de IL 1- β e IL-8 intragrupos, antes e depois do tratamento.

		Baseline (pg/ml)	4dias (pg/ml)	*p*	IC 95% Menor limite	IC 95% Maior limite
IL 1- β	AM tradicional	563,71 ± 534,29	466,32 ± 396,52	0,252	82,58	277,38
	AM nova fórmula	716,25 ± 934,12	310,79 ± 212,23	0,001	156,23	460,04
IL-8	AM tradicional	204,94 ± 168,67	204,80± 186,71	0,997	90,33	90,61
	AM nova fórmula	208,18 ±152,45	187,85 ±138,43	0,757	123,69	164,36

Concentração de IL 1- β e IL-8 no baseline e 4dias após tratamento entre os grupos AM tradicional e AM nova fórmula, expressas em média e desvio padrão pg/ml. Valores de p e IC de 95% foram calculados através de ANOVA de 2vias, sendo considerado Valor de significância p <0,05; ajuste para comparações múltiplas: Bonferroni.

Gráfico 3. Avaliação IL 1-β em ambos os grupos, antes e depois do tratamento

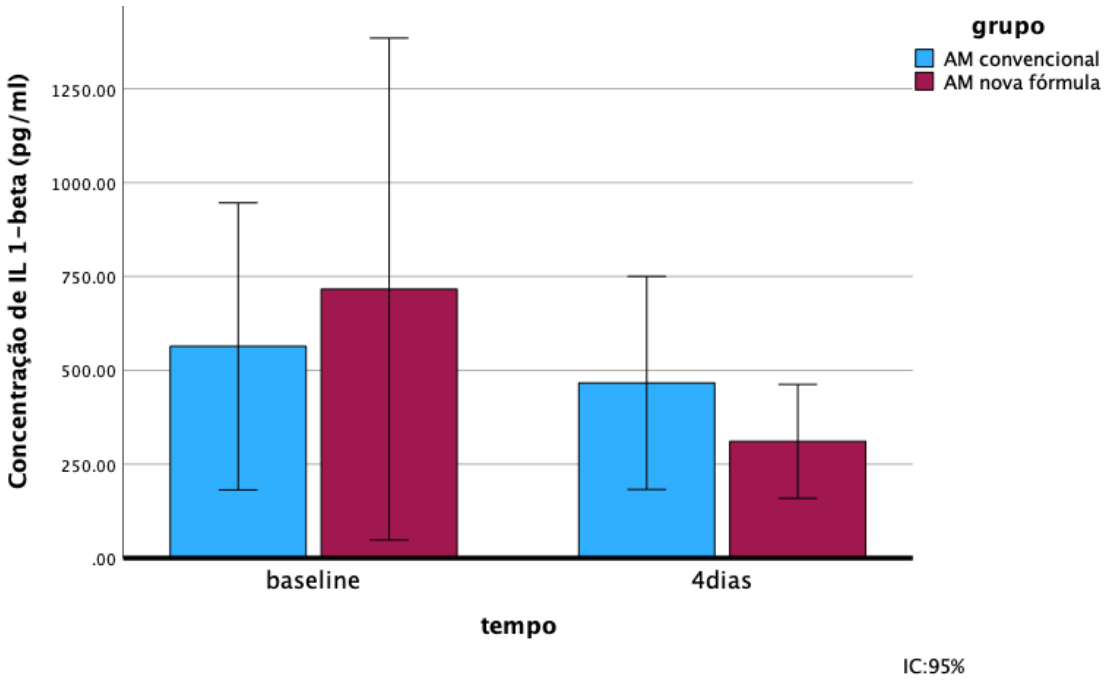
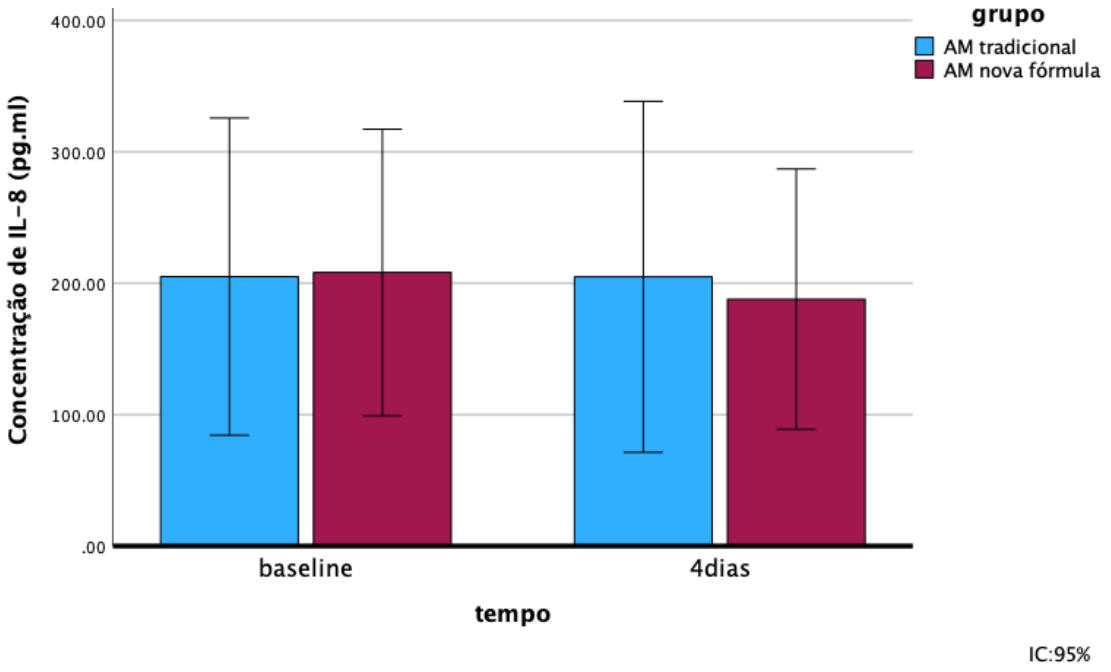


Gráfico 4. Avaliação de IL-8 em ambos os grupos, antes e depois do tratamento



5.4.1 Pesquisa microbiológica na saliva e biofilme *T. forsythia*

Na análise de *T.forsythia* na saliva, não foi observada diferença entre os grupos no baseline e 4dias após (p=0,581 e p= 0,123) e nem diferença significante intragrupos (p=0,621 e 0,881), no que diz respeito à *T. forsythia*.

No biofilme, não foi observada diferença entre os grupos no baseline e 4dias após (p=0,442 e 0,806) e nem diferença significante intragrupos (p=0,538 e 0,518), em relação ao número de pares de 16S de *T. forsythia*/μl. Os dados resumidos bem como os gráficos encontram-se a seguir:

Tabela 11. Comparação do n° de cópias de 16Srna de *T. forsythia*/μL na saliva e biofilme, entre os grupos antes e depois do tratamento

		AM tradicional (16S/μl)	**AM nova fórmula (16S/μl)**	***p***	**IC 95%**	
					Menor limite	**Maior limite**
Saliva	Baseline	1566,47±1086,09	1313,48±1261,,38	0,581	718,23	1224,20
	4dias	1880,32±1593,03	1136,12±1277,99	0,123	206,85	1520,97
Biofilme	Baseline	37712359,1 ±135814437	12300,20± 32977,10	0,442	0,915	1,967
	4dias	21192,16± 56828,65	11202,88±34075,30	0,806	0,465	0,586

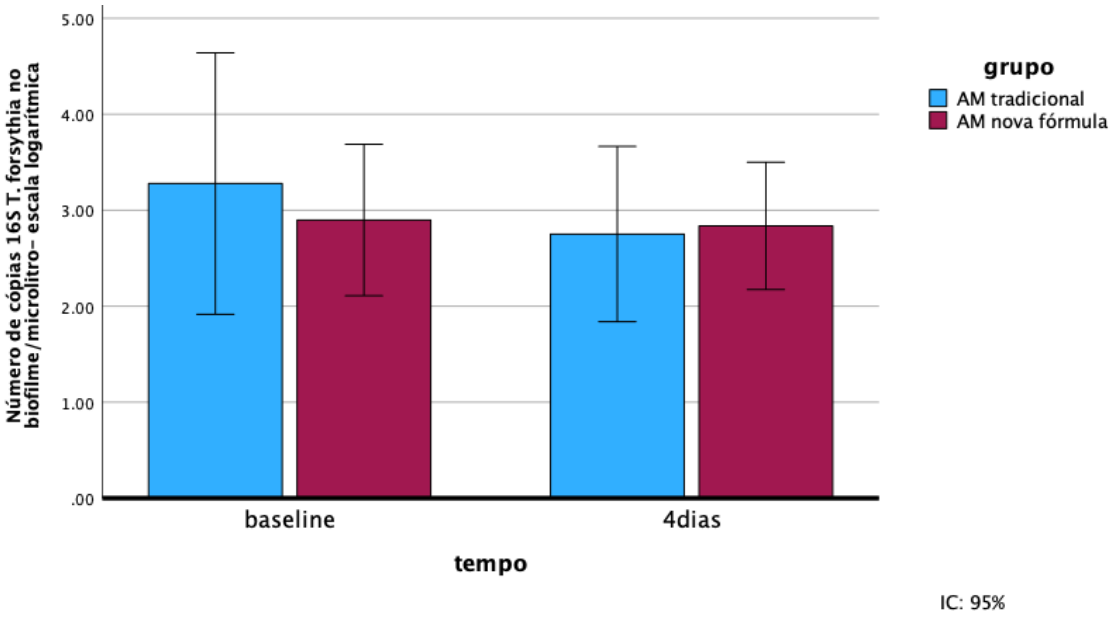
Números de cópias de 16S de *T. forsythia* descritos em média e desvio padrão. Valores de p e IC 95% calculados através de ANOVA de 2vias, sendo considerado valor de significância $p < 0,05$; ajuste para comparações múltiplas: Bonferroni.

Tabela 12. Comparação do n° cópias de 16Srna de *T. forsythia*/μL na saliva e biofilme, intragrupos, antes e depois do tratamento

		Baseline (16S/μl)	**4dias (16S/μl)**	***p***	**IC 95%**	
					Menor limite	**Maior limite**
Saliva	AM tradicional	1566,47±1086,09	1880,32±1593,03	0,538	764,78	1392,49
	AM nova fórmula	1313,48±1261,,38	1136,12±1277,99	0,518	205,13	385,58
Biofilme	AM tradicional	37712359,1 ±135814437	21192,16± 56828,65	0,621	1,254	2,014
	AM nova fórmula	12300,20± 32977,10	11202,88±34075,30	0,881	1,127	1,297

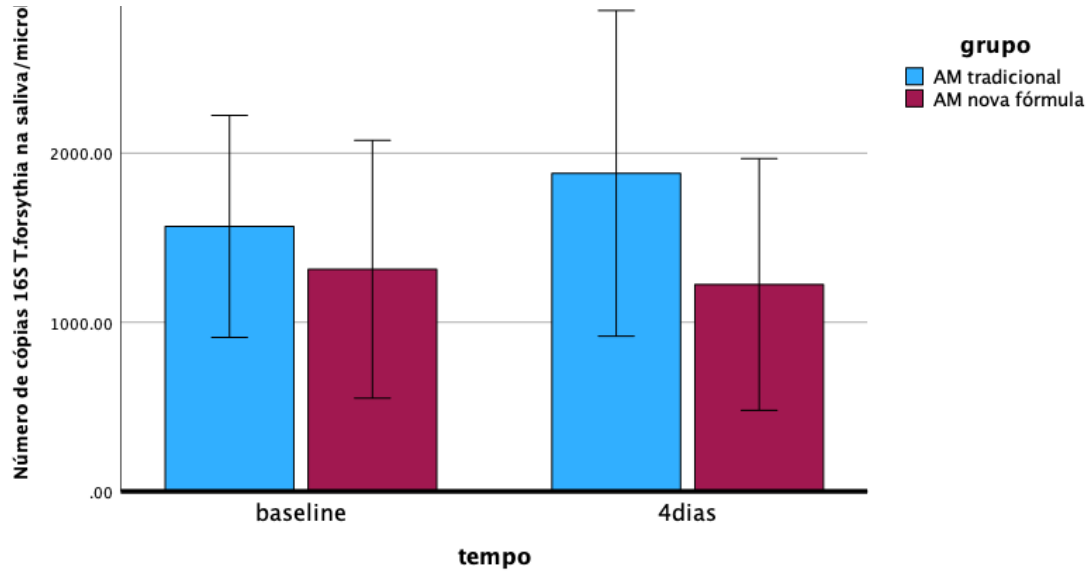
Números de pares de 16S de *T. forsythia* descritos em média e desvio padrão. Valores de p e IC 95% calculados através de ANOVA de 2vias, sendo considerado valor de significância $p < 0,05$; ajuste para comparações múltiplas: Bonferroni.

Gráfico 5. Avaliação do número de cópias 16Srna *de T. forsythia*/μ*l*L no biofilme em ambos os grupos, antes e depois do tratamento lo



IC: 95%

Gráfico 6. Avaliação do número de cópias 16Srna *de T. forsythia*/μ*L* na saliva em ambos os grupos, antes e depois do tratamento



IC: 95%

5.4.2 Pesquisa microbiológica na saliva e biofilme *bactérias totais*

No que diz respeito a bactérias totais na saliva, não foi notada diferença significante entre e intragrupos no baseline e 4dias após tratamento (p=0,908 e p=0,392; p= 0,414 e p=0,747)

Todavia, a análise do biofilme revelou redução significativa de bactéris totaisno grupo da nova fórmula (p< 0,001), o que não se deu no grupo do AM tradicional (p=0,223). Houve também diferença estatística dos valores finais dos dois grupos, quando feita análise entre grupos (p< 0,001). As tabelas e gráficos a seguir resumem os dados obtidos. Não houve nenhum efeito adverso na pesquisa.

Tabela 13. Comparação do n° cópias de 16Srna de *bactérias totais*/μL na saliva e biofilme, intragrupos, antes e depois do tratamento

		Baseline (16S/μl)	4dias (16S/μl)	*p*	IC 95% Menor limite	IC 95% Maior limite
Saliva	AM tradicional	95308344,4±137142735	355759324±1051893544	0,414	0,205	0,403
	AM nova fórmula	96838247,9±123021145	78535287,2±82258346,9	0,747	0,301	0,411
Biofilme	AM tradicional	20.742.749,7±18.664.574,5	50.578.283,6± 96.343.048,0	0,223	0,107	0,415
	AM nova fórmula	31.059.421,2±33.274.364,9	24.099.284,1±18815135,0	< 0,001	12729404,7	35469149,3

Números de cópias de 16S de *Universal* descritos em média e desvio padrão. Valores de p e IC 95% calculados através de ANOVA de 2vias, sendo considerado valor de significância p < 0,05; ajuste para comparações múltiplas: Bonferroni.

Tabela 14. Comparação do n° de cópias de 16Srna de bactérias totais/μL na saliva e biofilme, entre grupos, antes e depois do tratamento

		AM tradicional (16S/μl)	AM nova fórmula (16S/μl)	*p*	IC 95% Menor limite	IC 95% Maior limite
Saliva	Baseline	95308344,4±137142735	96838247,9±123021145	0,908	0,373	0,410
	4dias	355759324±1051893544	78535287,2±82258346,9	0,392	0,297	0,718
Biofilme	Baseline	20.742.749,7±18.664.574,5	31.059.421,2±33.274.364,9	0,778	0,557	0,727
	4dias	50.578.283,6± 96.343.048,0	24.099.284,1±18815135,0	< 0,001	12729404,6	35469148,9

Números de cópias de 16S de *Universal* descritos em média e desvio padrão. Valores de p e IC 95% calculados através de ANOVA de 2vias, sendo considerado valor de significância p < 0,05; ajuste para comparações múltiplas: Bonferroni.

Gráfico 7. Avaliação do número de cópias 16Srna bactérias totais/μL na saliva em ambos os grupos, antes e depois do tratamento

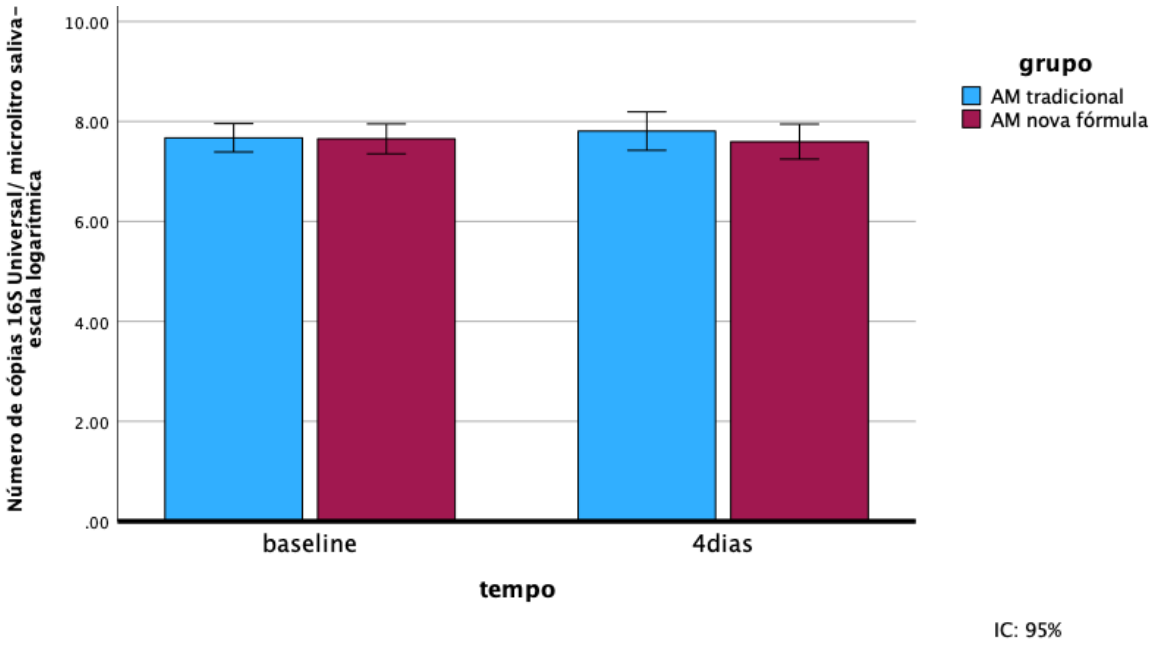
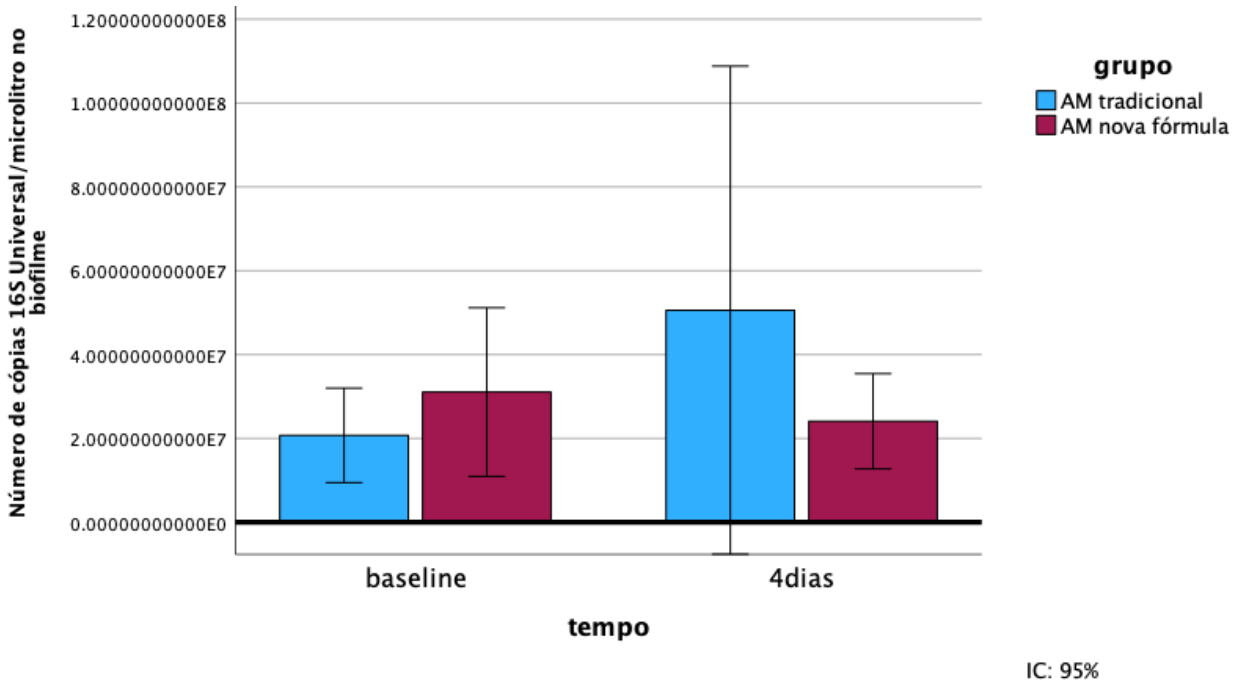


Gráfico 8. Avaliação do número de cópias 16Srna bactérias totais/μL no biofilme em ambos os grupos, antes e depois do tratamento



6. DISCUSSÃO

A dor representa um dos principais sintomas relatados pelos pacientes com pericoronarite (Chishi *et al.,* 2023). Sua mensuração foi feita no baseline e 4dias após, usando-se a escala VAS. Tanto o grupo que fez uso do AM tradicional quanto o grupo que fez uso do AM nova fórmula, apresentaram redução do score final da escala VAS, o que sugere que a aPDT, associada a irrigação com soro, é um tratamento eficaz na melhora da dor para pericoronarite. Elsadek *et al.* (2020), também mostraram essa melhora em pacientes com pericoronarite submetidos a aPDT com azul de metileno na concentração de 0,0005%, associado a irrigação com soro e leve debridamento do sulco. Comparados ao baseline, os autores mostraram redução significativa da dor após 7 e 14dias, porém não encontraram diferença estatística entre esse tratamento e o exclusivo com soro e debridamento. Todavia, o grupo submetido a aPDT mostrou redução bacteriana de *P. gingivalis e T. forsythia* e de TNF- alfa mais significante do que no grupo onde se fez apenas irrigação com soro e debridamento, confirmando os benefícios do ponto de vista microbianos e inflamatórios que a aPDT pode trazer. Tal fato nos instiga a pensar se a mudança dos parâmetros do laser aplicado não implicaria em uma superioridade clínica do grupo com aPDT observada pelos autores. Eroglu *et al*. (2018), compararam o tratamento de pericoronarite com antibiótico ao tratamento antibiótico+ aPDT. Apesar dos autores usarem indocianina verde como fotossensibilizador e laser com comprimento de onda de 810nm, também foi verificada melhora significativamente superior da dor após 7dias no grupo que fez uso associado de aPDT, corroborando com a ideia que tal terapia pode ser interessante no tratamento da pericoronarite.

Não há na literatura nenhum trabalho que avalie a abertura de boca dos pacientes com pericoronarite, usando-se aPDT. Entretanto, Sezer *et al*. (2012) mostraram melhora significativa da abertura de boca de pacientes com pericoronarite após 7dias de aplicação de laser de diodo 660nm, laser de diodo 808nm e laser Nd:YAG. Não houve, contudo, diferença estatística entre os 3 tipos de tratamento. Mesquita-Ferrari *et al*. (2011) relataram que o laser de baixa potência diminuiu a liberação de citocinas pró-inflamatórias após 7dias de

injúrias musculares em ratos. Embora não tenhamos realizado nenhuma investigação bioquímica até o momento, o efeito bioestimulador da aPDT na pericoronite pode estar relacionado ao seu impacto supressor na liberação de citocinas pró-inflamatórias, implicando na melhora clínica da abertura de boca.

A variável edema não mostrou, no presente trabalho, diferença intra e entre os grupos pós tratamento. Muito provavelmente esse fato se deve por termos incluído apenas pacientes com pericoronarite iniciais, estágio onde geralmente não há edema expressivo (Renton, 2016). Este quando verificado estava associado a presença de exudato purulento na região de terceiro molar, sendo o paciente imediatamente excluído do estudo.

O presente trabalho contou com uma maior prevalência de terceiros molares na posição AIIV e AIV (44% e 30%, respectivamente), segundo classificação de Pell, Gregory e Winter, indo de encontro aos dados de Galvão *et al.* (2019), cuja revisão sistemática e meta-análise mostraram maior associação de pericoronarite a dentes vestibularizados nas posições A de impactação. Hazza'a *et al.* (2009) também concluíram em seu trabalho que casos de pericoronarite estavam mais correlacionados a dentes verticalizados, erupcionados em nível oclusal ou acima, o que equivale a classificação A de Pell e Gregory. Corroborando, os terceiros molares inferiores no mesmo nível ou próximo ao plano oclusal e exibindo inclinação vertical foram considerados os de maior risco para o desenvolvimento de pericoronite, segundo Yamalik *et al.* (2008). Muito provavelmente tais posições contribuem para pericoronarite, pois estando verticalizados na altura ou logo abaixo do plano oclusal (A e B), ficam expostas todas as irregularidades da superfície oclusal dentária que favorece o acúmulo de restos alimentares e formação de biofilme. Além disso, a coroa do 3M estando totalmente fora ou parcialmente dentro da mandíbula (I e II) favorece a formação do opérculo gengival na região, o que dificulta a higienização, facilitando a instalação de um processo inflamatório. Em nosso estudo não realizamos a correlação das posições dentárias com a severidade dos casos e o grau de melhora dos mesmos. Isso seria interessante para tentarmos traçar uma maior previsibilidade de prognóstico dependendo dos casos, o que poderia ajudar na decisão de tomadas clínicas. Santos *et al*. (2020), por exemplo, mostraram uma pior qualidade de vida referida com 3Ms na posição IIA de Pell e Gregory do que nas demais posições.

Para avaliar o impacto da saúde bucal na qualidade de vida, todos os participantes responderam ao questionário OHIP-14 antes e após os tratamentos. Em nosso estudo, não houve redução significativa na soma total de todos os domínios do questionário em ambos os grupos, indicando uma possível ausência de percepção de melhora na qualidade de vida. Até o momento, não encontramos na literatura outro estudo que tenha avaliado pacientes com pericoronarite tratados com aPDT utilizando o OHIP-14. Contudo, alguns estudos aplicaram o questionário em pacientes com pericoronarite submetidos a raspagem periodontal ou extração dentária. Yurttutan et al. (2020) observaram uma redução significativa na pontuação total do OHIP-14 após 1, 3 e 6 meses desses tratamentos, enquanto Passarelli et al. (2020) relataram resultados semelhantes com redução nas pontuações após 1 semana, 1 mês e 6 meses. Diferentemente desses estudos, em nossa pesquisa, os participantes foram reavaliados apenas 4 dias após os tratamentos, e esse curto intervalo pode ter contribuído para a ausência de percepção de melhora na qualidade de vida.

Além disso, como o OHIP-14 não é um questionário específico para pericoronarite, realizamos uma análise parcial considerando apenas os domínios "dor física" e "incapacidade física", apontados por McNutt et al. (2008) e Santos et al. (2020) como os de maior pontuação em estudos sobre pericoronarite. Essa análise parcial também não revelou uma redução significativa nas pontuações em ambos os grupos. O curto intervalo para reavaliação pode novamente justificar essa ausência de diferença. No entanto, é importante destacar que o OHIP-14 avalia a frequência (sempre, muitas vezes, às vezes, quase nunca e nunca) das dificuldades vivenciadas nos últimos seis meses. Sendo a pericoronarite uma condição transitória, os pacientes podem ter dificuldade para relatar com precisão o impacto da saúde bucal em sua qualidade de vida nesse período.

A aplicação de um questionário focado no grau de satisfação pós-tratamento, em vez do OHIP-14, provavelmente teria gerado resultados diferentes. A maioria dos participantes, 4 dias após o tratamento, relatou espontaneamente uma melhora significativa da dor já no segundo dia, o que implicou em melhorias na alimentação e no convívio social. Esse fato reforça que, ao contrário dos resultados obtidos com o OHIP-14, os tratamentos realizados impactaram positivamente a qualidade de vida dos pacientes.

As análises microbiológicas de *T. forsythia* revelaram a presença dessa bactéria em 100% das amostras de saliva e biofilme, corroborando dados da literatura que indicam alta prevalência dessa espécie em casos de pericoronarite (Mendes *et al*., 2015; Sencimen et al. 2014); Jakovljevic *et al.*, 2017). Sencimen et al. (2014) correlacionaram a presença de *T. forsythia* aos principais sinais e sintomas clínicos dessa patologia. Contudo, apesar de nosso estudo ter demonstrado melhora da dor e da abertura bucal nos dois grupos avaliados, não observamos uma redução significativa de *T. forsythia* na saliva ou no biofilme. Resultado semelhante foi apresentado por Kolbe *et al.* (2014) que não observaram redução significativa dessa espécie 3 e 6 meses após tratamento de pacientes periodontais com aPDT associada a raspagem. Isso sugere que outras espécies bacterianas ou fatores adicionais, como inflamatórios, podem estar também associados à sintomatologia da pericoronarite. Junto com as espécies P. *gingivalis* e *T. denticola*, a *T. forsythia* forma o chamado complexo vermelho, conjunto de bactérias anaeróbias fortemente correlacionadas com doenças periodontais que tendem a se estruturar em biofilme maduro e nas regiões mais profundas de sulco (Oliveira *et al*, 2016; Socransky *et al*,1998; Fernandes *et al,* 2024). Portanto, devido à própria organização do biofilme, o azul de metileno pode não ter interagido eficazmente com a Tf, o que explicaria a ausência de eficácia na eliminação dessa bactéria. Contudo, a interação da nova fórmula de AM com bactérias localizadas mais superficialmente no biofilme poderia justificar a redução significativa de bactérias totais no biofilme do grupo que a utilizou. Esse resultado também sugere que as diferenças químicas desse novo composto podem, de fato, melhorar os resultados da aPDT, já que não se observou tal redução no grupo que fez uso do AM tradicional. Quando comparado com alguns outros veículos (água, solução fisiológica, tampão salino fosfato e uréia), o dodecilsulfato de sódio a 0,25% foi o único que melhorou a eficácia do AM na aPDT em uma cultura planctônica de *C. albicans* (Collina *et al.,* 2018) Em outro estudo in vitro, observou-se que aPDT usando AM associado a SDS 0,25% mostrou ação antimicrobiana significativa de *P. gingivalis* ATCC 33577, eliminando todas as colônias bacterianas dentro de 1 min após a irradiação, enquanto com o AM associado com tampão salino fosfato esta eliminação só ocorreu após 5 min de irradiação (Tortamano *et al.,* 2020) .

Alvarenga *et al.* (2019), em ensaio clínico, alcançou, após 5 minutos de irradiação, níveis significativos de redução microbiana usando aPDT mediado por AM em SDS nas bolsas periodontais, o que não foi observado com AM em veículo aquoso. Em outro estudo clínico, pacientes com bolsas periodontais foram submetidos a aPDT com AM associada à SDS'/. Houve redução no número de UFC/ml e as colônias apresentaram menor volume quando comparados àqueles antes da irradiação. Esses resultados provavelmente ocorreram porque o SDS parece reduzir o processo de agregação do AM, estabilizando seus monômeros e modulando as reações fotoquímicas.

Ao contrário do biofilme, a análise salivar não revelou uma redução de *bactérias totais* para ambos os tratamentos. Estudos anteriores indicam que a redução da carga bacteriana em biofilmes orais, em muitos casos, resulta em uma diminuição correspondente das bactérias na saliva. Isso ocorre porque as terapias de controle microbiano não apenas reduzem as bactérias no biofilme, mas também pode diminuir a transferência de microrganismos para a saliva, ajudando no controle da microbiota bucal. (Kaur *et al*, 2019; Haririan *et al*, 2014, Reddahi *et al*, 2023). No entanto, a maioria desses estudos foi conduzida em pacientes com doenças periodontais, nos quais vários sítios orais foram tratados simultaneamente, frequentemente associados à raspagem de toda a boca. No nosso estudo, a aPDT foi aplicada em apenas um único sítio, o que pode explicar a ausência de redução da carga bacteriana na saliva do grupo que utilizou a nova fórmula de antimicrobiano (AM), mesmo com a redução significativa observada no biofilme local. Bargrizan *et al*. (2018) observaram uma redução significativa de *Streptococcus mutans* na saliva de crianças após duas sessões de aPDT, nas quais a irradiação foi realizada na língua, toda a mucosa lingual, bucal e palato. De maneira semelhante, Panhoca *et al.* (2016) trataram pacientes ortodônticos com aPDT, observando uma redução significativa de *S. mutans* salivar pós-tratamento. Nesse estudo, também foram irradiadas toda a mucosa bucal e lingual. Esses achados sugerem que, para obter uma repercussão significativa na redução bacteriana salivar, provavelmente seja necessário tratar múltiplos sítios simultaneamente, seja com aPDT ou tratamentos convencionais de raspagem.

Para uma melhor compreensão dos resultados microbiológicos obtidos, seria interessante realizar uma análise mais aprofundada do microbioma subgengival dos participantes tratados. Isso permitiria entender melhor as espécies bacterianas presentes nas amostras, bem como identificar aquelas que foram diretamente afetadas pela aPDT.

Embora tenhamos analisado uma variedade de citocinas do fluido gengival crevicular (FGC) utilizando o sistema Luminex® (TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 e IL-17), apenas as citocinas IL-1β e IL-8 apresentaram concentrações detectáveis e relevantes em todas as amostras, permitindo a realização de análises estatísticas. As demais citocinas apresentaram níveis indetectáveis ou extremamente baixos, motivo pelo qual foram excluídas das análises subsequentes.

A IL-1β é um mediador inflamatório crucial, desempenhando um papel fundamental na resposta imune inicial, promovendo vasodilatação e aumentando a permeabilidade vascular, o que facilita o recrutamento de células inflamatórias (Gabay *et al*, 2010). Blakey *et al* (1996), mostraram uma quantidade aumentada de IL-1β no FGC de pacientes com 3M sintomático, em relação a pacientes assintomáticos. Diversos estudos demonstram que essa citocina está fortemente associada a alterações periodontais, sendo observada em concentrações significativamente mais elevadas em pacientes com doenças periodontais, em comparação com indivíduos saudáveis (Neupane *et al.,* 2022; Murakami *et al*. 2020; Ertugrul *et al*, 2013). A redução significativa de IL-1β no grupo que utilizou a nova fórmula de antimicrobianos pode estar associada à diminuição estatística de *bactérias totais* no biofilme desse grupo, já que a presença de lipopolissacarídeos, antígenos e outros fatores de virulência bacteriana desencadeia uma resposta inflamatória no hospedeiro (Yucel-Lindberg & Båg, 2013). Moreira *et al.* (2015) observaram uma redução significativa de IL-1β no FGC em um grupo que associou a terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) à raspagem periodontal, após 14 e 90 dias de tratamento. Essa redução foi estatisticamente superior ao grupo controle, que foi submetido apenas à raspagem. Resultado semelhante foi apresentado por Kolbe et al. (2014), que relataram uma diminuição significativa de IL-1β no FGC, após 3 e 6 meses, em um grupo periodontal tratado com raspagem associada à aPDT, em comparação

com o grupo submetido apenas à raspagem. Por outro lado, Giannopoulou *et al.* (2012) não observaram uma redução estatística em um painel de 13 citocinas, incluindo IL-1β, no FGC, 14 dias, 2 e 6 meses após a aplicação de aPDT. No entanto, neste estudo, não foi realizado nenhum tratamento adjunto, como raspagem ou irrigação com soro fisiológico. Esse fato sugere que a desorganização do biofilme possa ser um fator importante para a obtenção de melhores resultados com a aPDT.

Devido a irradiação direta nos tecidos, pode-se levantar a hipótese se adicionalmente não houve melhora da IL-1β em nossa pesquisa decorrente da fotobiomodulação nas áreas onde foram feitas as aPDT. Liu et al. (2010), Makhlouf *et a*l. (2012), Qadri *et al*. (2005) e Gundogar *et al.* (2016), compararam o comportamento dessa citocina no FGC entre um grupo onde só se fez raspagem com um grupo que associou a aplicação de laser de baixa potência à raspagem. Todos os trabalhos revelaram redução significativa de IL-1β no FGC intragrupos, não havendo diferença estatística entre os grupos. Esses resultados sugerem que em nosso estudo, a diferença do mediador inflamatório deve estar mais associado aos benefícios da aPDT do que da fotobiomodulação.

A IL-8 é uma quimiocina importante no contexto das doenças periodontais. É uma citocina quimiotática potente e ativadora dos neutrófilos em regiões inflamatórias, sendo liberada por células endoteliais, fibroblastos gengivais, neutrófilos, monócitos e fagócitos no sulco gengival. (Sfakianani *et al*, 2002). A expressão coordenada única de IL-8 facilita o trânsito dos neutrófilos do tecido gengival altamente vascularizado para o sulco gengival. (Finoti et al, 2017). Assim como a IL-1β, a IL-8 no FGC parece estar em quantidades aumentadas em pacientes com alterações periodontais, quando comparadas com indivíduos saudáveis (Finoti *et a*l, 2017, Venza *et al*., 2010, Cesar-Neto *et al*, 2007, Tsai et al., 1995, Gamonal et al, 2000). Tsai *et al.* (1995) sugeriram que os níveis de IL-8 no FGC são influenciados pelas atividades de IL-1β local, o que justificaria os altos níveis de detecção dessas citocinas em nosso estudo. O fato de não observarmos redução significativa da IL-8, assim como da IL-1β no grupo que fez uso da nova fórmula de AM, pode-se dever ao fato da reavaliação ter sido feita em apenas 4dias. Da Cruz et al. (2017) mostraram redução significativa de IL-8 no FGC de pacientes em manutenção periodontal, porém as reavaliações

dessa citocina se deram a partir de 1 semana de tratamento. Luchesi *et al* (2013) revelaram redução significativa de IL-8 em pacientes periodontais nos quais se associou aPDT e raspagem, quando comparados somente com o grupo raspagem. Nesse trabalho, a reavaliação da citocina foi feita a partir de 3meses, o que reforça a ideia que nosso intervalo para novo exame, pode ter sido insuficiente para que houvesse alteração dos níveis de IL-8.

Uma reavaliação dos participantes entre 1 e 3 meses após o baseline poderia trazer informações adicionais relevantes. Esse intervalo permitiria identificar se uma das duas fórmulas de AM utilizadas estaria associada a benefícios mais duradouros, reduzindo a recorrência da sintomatologia da pericoronarite. Esses achados poderiam auxiliar o clínico na escolha da fórmula mais adequada, considerando o tempo até a realização da extração do terceiro molar, que é o tratamento definitivo para a resolução da pericoronarite.

Este estudo representa uma contribuição inédita, demonstrando melhorias clínicas significativas no tratamento da pericoronarite. A simplicidade na execução, o baixo custo, a ausência de efeitos colaterais e a incapacidade de induzir resistência bacteriana tornam a aPDT uma terapia altamente relevante, que deve ser incorporada à rotina do cirurgião-dentista para o manejo dessa condição.

A nova fórmula de AM com veículo surfactante mostrou-se especialmente promissora. Os resultados deste e de outros estudos indicam que seu uso pode oferecer vantagens clínicas significativas, justificando sua ampla pesquisa e divulgação na prática odontológica.

7. CONCLUSÃO

- Ambos os grupos mostraram melhora significativa da dor e abertura de boca após o tratamento com aPDT, não havendo, contudo, diferença entre eles;
- Houve uma maior prevalência de 3Ms na posição AIIV, segundo classificação de Pell, Gregory e Winter;
- Houve redução significativa de IL-1β e bactérias totais no biofilme após o tratamento de aPDT usando-se a nova fórmula de AM;
- Não houve diferença estatística intra e entre grupos no que diz respeito a edema, impacto da saúde bucal na qualidade de vida, IL-8 e quantidade de *T. forsythia* no biofilme e saliva.

REFERÊNCIAS

Adeyemo WL, James O, Ogunlewe MO, Ladeinde AL, Taiwo OA, Olojede ACO. Indications for Extraction of Third Molars: A Review of 1763 Cases Niger Postgrad. Med J 15 (1), 42-6 Mar 2008 PMID: 18408783

Aebisher D, Czech S, Dynarowicz K, Misiołek M, Komosińska-Vassev K, Kawczyk-Krupka A, Bartusik-Aebisher D. **Photodynamic Therapy**: Past, Current, and Future. Int J Mol Sci. 2024 Oct 21;25(20):11325. doi: 10.3390/ijms252011325.PMID: 39457108

Allen PF, Locker D.Do item weights matter? An assessment using the oral health impact profile. Community Dent Health. 1997 Sep;14(3):133-8.

Almendros-Marqués N, Berini-Aytés L, Gay-Escoda C. Evaluation of intraexaminer and interexaminer agreement on classifying lower third molars according to the systems of Pell and Gregory and of Winter. JOral Maxillofac Surg 2008;66:893–9.

Alvarenga LH, Gomes AC, Carribeiro P, Godoy-Miranda B, Noschese G, Ribeiro MS, Kato IT, Bussadori SK, Pavani C, Geraldo YGE, da Silva DFT, Horliana ACRT, Wainwright M, Prates RA. Parameters for antimicrobial photodynamic therapy on periodontal pocket- randomized clinical trial.

Alves-Pereira D, Pereira-Silva D, Figueiredo R, Gay-Escoda C, Valmaseda-Castellón E. Clinician-related factors behind the decision to extract an asymptomatic lower third molar. A cross-sectional study based on Spanish and Portuguese dentists Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2017. PMID 28809364

Arekhi N, Mortazavi N, Bahramnejad E, Khouri V, Tajaldini M, Asgari N, Sohrabi A. Assessment of a combined mouthwash on pain relief in **pericoronitis**: a randomized clinical study. BMC Oral Health. 2024 Jul 27;24(1):855. doi: 10.1186/s12903-024-04660-5.PMID: 39068391

Avellaneda-Gimeno V, Figueiredo R, Valmaseda-Castellón E. Quality of life after upper third molar removal: A prospective longitudinal study Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2017 Nov 1;22(6):e759-e766. doi: 10.4317/medoral.21781.

Azaripour A, Dittrich S, Van Noorden CJF, Willershausen B. Efficacy of photodynamic therapy as adjunct treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. Lasers Med Sci. 2018 Feb;33(2):407-423. doi: 10.1007/s10103-017-2383-7. Epub 2017 Nov 25.

Bacellar IO, Tsubone TM, Pavani C, Baptista MS. Photodynamic Efficiency: From Molecular Photochemistry to Cell Death. Int J Mol Sci. 2015 Aug 31;16(9):20523-59. doi: 10.3390/ijms160920523.

Bataineh AB; AL QM. The predisposing factors of pericoronitis of mandibular third molars in a Jordanian population. Quintessence Int. 2003. p.227-31.

Bargrizan M , Fekrazad R, , Goudarzi N, Goudarzi N. Effects of antibacterial photodynamic therapy on salivary mutans streptococci in 5- to 6-year-olds with severe early childhood caries Lasers Med Sci . 2019 Apr;34(3):433-440.doi: 10.1007/s10103-018-2650-2. Epub 2018 Oct 11.

Batinjan G, Filipović Zore I, Rupić I, Bago Jurič I, Zore Z, Gabrić Pandurić D. Assessing Health-Related Quality of Life with Antimicrobial Photodynamic Therapy (APDT) and Low Level Laser Therapy (LLLT) after Third Molar Removal. J Lasers Med Sci. 2013 Summer;4(3):120-6.

Beklen A, Laine M, Ventä I, Hyrkäs T, Konttinen YT. Role of TNF-alpha and its receptors in pericoronitis J Dent Res. 2005 Dec;84(12):1178-82.

Birang E, Talebi Ardekani MR, Rajabzadeh M, Sarmadi G, Birang R, Gutknecht N Evaluation of Effectiveness of Photodynamic Therapy With Low-level Diode Laser in Nonsurgical Treatment of Peri-implantitis. J Lasers Med Sci. 2017 Summer;8(3):136-142. doi: 10.15171/jlms.2017.25. Epub 2017 Jun 27.

Blakey GH, White RP Jr, Offenbacher S, Phillips C, Delano EO, Maynor GClinical/biological outcomes of treatment for pericoronitis. .J Oral Maxillofac Surg. 1996 Oct;54(10):1150-60. doi: 10.1016/s0278-2391(96)90339-0.PMID: 8859232

Boronat-Catala M, Catala-Pizarro M, Bagan Sebastian JV.. Salivary and crevicular fluid interleukins in gingivitis. J Clin Exp Dent 2014; 6: e175–e179

Bush K, Bradford PA. β-Lactams and β-Lactamase Inhibitors: An Overview. Cold Spring Harb Perspect Med. 2016 Aug 1;6(8). pii: a025247. doi: 10.1101/cshperspect.a025247.

Camacho-Alonso F, Julián-Belmonte E, Chiva-García F, Martínez-Beneyto Y. Bactericidal Efficacy of Photodynamic Therapy and Chitosan in Root Canals Experimentally Infected with Enterococcus faecalis: An In Vitro Study. Photomed Laser Surg. 2017 Apr;35(4):184-189. doi: 10.1089/pho.2016.4148. Epub 2017 Jan 9.

Catão, M.H.C.V.; Costa, LJ. Treatment of pericoronitis with low power laser. RGO, n52 v 3, 2004, p 175-86.

Cesar-Neto JB, Duarte PM, de Oliveira MC, et al. Smoking modulates interleukin-6:interleukin-10 and RANKL:osteoprotegerin ratios in the periodontal tissues. J Periodontal Res 2007;42:184–91.

Chisci D, Parrini S, Baldini N, Chisci G. Patterns of Third-Molar-Pericoronitis-Related Pain: A Morphometrical Observational Retrospective Study. Healthcare(Basel).2023Jun30;11(13):1890.doi:10.3390/healthcare11131890. PMID: 37444724

Collina GA, Freire F, Santos TPC, Sobrinho NG, Aquino S, Prates RA, Silva, Horliana ACRT, Pavani C. Controlling Methylene Blue Aggregation: A More Efficient Alternative to Treat Candida Albicans Infections Using Photodynamic Therapy. Photochem Photobiol Sci 17 (10), 1355-1364. 2018 Oct 10 PMID: 30183793 DOI: 10.1039/c8pp00238j

Corrêa MG, Oliveira DH, Saraceni CH, Ribeiro FV, Pimentel SP, Cirano FR, Casarin RC. Short-term microbiological effects of photodynamic therapy in non-surgical periodontal treatment of residual pockets: A split-mouth RCT. Lasers Surg Med. 2016 Dec;48(10):944-950. doi: 10.1002/lsm.22449. Epub 2015 Dec 10.

da Cruz Andrade PV, Euzebio Alves VT, de Carvalho VF, De Franco Rodrigues M, Pannuti CM, Holzhausen M, De Micheli G, Conde MC. Photodynamic therapy decrease immune-inflammatory mediators levels during periodontal maintenance.Lasers Med Sci. 2017 Jan;32(1):9-17. doi: 10.1007/s10103-016-2076-7. Epub 2016 Oct 4.PMID: 27704296

Dicus-Bookes C, Patrick M, Blakey GH, Faulk-Eggleston J, Offenbacher S, Phillips C, White RP Jr Removal of symptomatic third molar may improve periodontal status of remaining dentition. J Oral Maxillofac Surg. 2013;71(10):1639-646.

Elsadek MF, Ahmed BM, Eskandrani RM. Level of pain intensity, cytokine profiling and microbial load after photodynamic therapy in acute severe pericoronitis. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2020 Jun 5:101830. doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.101830. Epub ahead of print. PMID: 32512248.

Eroglu CN, Tunc SK, Erten R, Usumez. A Clinical and Histological Evaluation of the Efficacy of Antimicrobial Photodynamic Therapy used in addition to Antibiotic Therapy in Pericoronitis Treatment. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2018 Feb 24. pii: S1572-1000(17)30526-4. doi:10.1016/j.pdpdt.2018.02.018.

Ertugrul AS, Sahin H, Dikilitas A, Alpaslan N, Bozoglan AComparison of CCL28, interleukin-8, interleukin-1β and tumor necrosis factor-alpha in subjects with gingivitis, chronic periodontitis and generalized aggressive periodontitis..J Periodontal Res. 2013 Feb;48(1):44-51. doi: 10.1111/j.1600-0765.2012.01500.x. Epub 2012 Jul 19.PMID: 22812409

Fernandes Kristianne Porta Santos; Ferrari, Raquel Agnelli Mesquita; França, Cristiane Miranda. Biofotonica conceitos e aplicações. Uninove, Sao Paulo: Universidade Nove de Julho, 2017. 249.

Fernandes GVO, Mosley GA, Ross W, Dagher A, Martins BGDS, Fernandes JCH. Revisiting Socransky's Complexes: A Review Suggesting Updated New Bacterial Clusters (GF-MoR Complexes) for Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. Microorganisms. 2024 Oct 31;12(11):2214. doi: 10.3390/microorganisms12112214.PMID: 39597602

Finoti LS, Nepomuceno R, Pigossi SC, Corbi SC, Secolin R, Scarel-Caminaga RM. Association between interleukin-8 levels and chronic periodontal disease: A PRISMA-compliant systematic review and meta-analysis.Medicine (Baltimore). 2017 Jun;96(22): e6932. doi: 10.1097/MD.0000000000006932.

Folayan MO, Ozeigbe EO, Onyejaeka N, Chukwumah NM, Oyedele T. Non-third molar related pericoronitis in a sub-urban Nigeria population of children. Niger J Clin Pract. 2014;17(1):18-22.

Gabay C, Lamacchia C, Palmer G. IL-1 pathways in inflammation and human diseases. Nat Rev Rheumatol. 2010 Apr;6(4):232-41. doi: 10.1038/nrrheum.2010.4. Epub 2010 Feb 23.PMID: 20177398 Review.

Gabrielli D, Belisle E, Severino D, Kowaltowski AJ, Baptista MS Binding, Aggregation and Photochemical Properties of Methylene Blue in Mitochondrial Suspensions. Photochem Photobiol. 79 (3), 227-32
Mar 2004 PMID: 15115294 DOI: 10.1562/be-03-27.1

Galvão EL, da Silveira EM, de Oliveira ES, da Cruz TMM, Flecha OD, Falci SGM, Gonçalves PF Association between mandibular third molar position and the occurrence of pericoronitis: A systematic review and meta-analysis.Arch Oral Biol. 2019 Nov;107:104486. doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.104486. Epub 2019 Jul 25.PMID: 31374491

Gamonal J, Acevedo A, Bascones A, Jorge O, Silva A.J Periodontol. 2000 Oct;71(10):1535-45. doi: 10.1902/jop.2000.71.10.1535.PMIDLevels of interleukin-1 beta, -8, and -10 and RANTES in gingival crevicular fluid and cell populations in adult periodontitis patients and the effect of periodontal treatment. : 11063385

Ge X, Rodriguez R, Trinh M, Gunsolley J, Xu P Oral microbiome of deep and shallow dental pockets in chronic periodontitis. PLoS One. 2013 Jun 6;8(6):e65520. doi: 10.1371/journal.pone.0065520. Print 2013.

George S, Kishen A. Photophysical, photochemical, and photobiological characterization of methylene blue formulations for light-activated root canal disinfection. J Biomed Opt. 2007 May-Jun;12(3):034029.

Gelesko, Savannah; Blakley, George H; Patrick, Maura; White, Raymond P; Offenbacker, Steven; Phillips, Ceih; Haug, Richard. Comparison of periodontal inflammatory disease in Young adults with and without pericoronaritis involving mandibular third molar.Am Association of oral and Maxilofac Surg. 2009, p 134-39.

Giannopoulou C, Cappuyns I, Cancela J, Cionca N, Mombelli A (2012) Effect of photodynamic therapy, diode laser, and deep scaling on cytokine and acute-phase protein levels in gingival crevicular fluid of residual periodontal pockets. J Periodontol 83:1018-27.

Gündoğar H, et al. The effect of low-level laser therapy on non-surgical periodontal treatment: a randomized controlled, single-blind, split-mouth clinical trial.Lasers Med Sci. 2016. PMID: 27523046 Clinical Trial.

Haririan H, Andrukhov O, Bertl K, Lettner S, Kierstein S, Moritz A, Rausch-Fan X. Microbial analysis of subgingival plaque samples compared to that of whole saliva in patients with periodontitis. Journal of periodontology. 2014 Jun;85(6):819-28.

Hazza'a AM, Bataineh AB, Odat AA.JAngulation of mandibular third molars as a predictive factor for pericoronitis.Contemp Dent Pract. 2009 May 1;10(3):51-8. PMID: 19430626

Heasman PA, Collins JG, Offenbacher S. Changes in crevicular fluid levels of interleukin-1 beta, leukotriene B4, prostaglandin E2, thromboxane B2 and tumour necrosis factor alpha in experimental gingivitis in humans. J Periodontal Res. 1993;28:241–247

Jakovljevic A, Andric M, Milicic AKB, Beljic-Ivanovic K, Perunovic N, Nikolic N, JMilasin J.. Herpesviral-bacterial co-infection in mandibular third molar pericoronitis. Clin Oral Invest. 2017 21(5), 1639-46

Joseph B, Janam P, Narayanan S, Anil S. Is Antimicrobial Photodynamic Therapy Effective as an Adjunct to Scaling and Root Planing in Patients with Chronic Periodontitis? A Systematic Review. Biomolecules. 2017 Nov 24;7(4). pii: E79. doi: 10.3390/biom7040079.

Johri, A; Piecuch, JF. Should teeth be Extracted Immediately in presence of acute infection?. Oral Maxillofac. Srg Clin N Am. N 23,2011,p 507-11.

Kandasamy S, Rinchuse DJ, Rinchuse DJ.The wisdom behind third molar extractions.Aust Dent J. 2009 Dec;54(4):284-92. doi: 10.1111/j.1834-7819.2009.01152.x.

Kassa CT, Salviatto LTC, Tortamano ACAC, Rost-Lima KS, Damante CA, Pavani C, Deana A, Kato IT, Wainwright M, Prates RA. Antimicrobial photodynamic therapy mediated by methylene blue in surfactant vehicle as

adjuvant to periodontal treatment. Randomized, controlled, double-blind clinical trial. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2022 Nov 17;41:103194. doi: 10.1016/j.pdpdt.2022.103194. Epub ahead of print. PMID: 36402375.

Katsarou T, Kapsalas A, Souliou C, Stefaniotis T, Kalyvas D. Pericoronitis: A Clinical and Epidemiological Study in Greek Military Recruits. J Clin Exp Dent 11 (2), e133-e137 2019 Feb 1 eCollection Feb 2019 PMID: 30805117 DOI: 10.4317/jced.55383

Kaur A, Kaur H, Jain S, Saxena D,Sumit K, Gaurav P Microbiological Analysis Of The Saliva Of Chronic Periodontitis Patients Before And After Scaling And Root Planing For Selected Pathogens-A Clinical Study. Journal of Health Sciences (2447-8938), 2019, Vol 21, Issue 3, p274

Kellesarian SV, Malignaggi VR, Majoka HA, Al-Kheraif AA, Kellesarian TV, Romanos GE, Javed F. Effect of laser-assisted scaling and root planing on the expression of pro-inflammatory cytokines in the gingival crevicular fluid of patients with chronic periodontitis: A systematic review. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2017 Jun;18:63-77. doi: 10.1016/j.pdpdt.2017.02.010. Epub 2017 Feb 21.

Kinney JS, Morelli T, Oh M. Crevicular fluid biomarkers and periodontal disease progression. J Clin Periodontol 2014;41:113–20.

Kikuchi T, Mogi M, Okabe I, Okada K, Goto H, Sasaki Y, Fujimura T, Fukuda M, Mitani A. Adjunctive Application of Antimicrobial Photodynamic Therapy in Nonsurgical Periodontal Treatment: A Review of Literature. Int J Mol Sci. 2015 Oct; 16(10): 24111–24126

Knutsson K, Brehmer B, Lyesell L, Rohlin Ml. Pathoses associated with mandibular third molars subjected to removal. Oral Surg oral med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1996;82(1):10-7.

Kolbe MF, Ribeiro FV, Luchesi VH, Casarin RC, Sallum EA, Nociti Jr FH, Ambrosano GM, Cirano FR, Pimentel SP, Casati MZ (2014) Photodynamic therapy during supportive periodontal care: clinical, microbiologic, immunoinflammatory, and patient-centered performance in a split-mouth randomized clinical trial. J Periodontol 85:e277-86.

Krishnan V, Davidovitch Z. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force.Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2006 Apr;129(4):469.e1-32. doi: 10.1016/j.ajodo.2005.10.007.PMID: 16627171

Laine M, Ventä I, Hyrkäs T, Ma J, Konttinen YT. Chronic inflammation around painless partially erupted third molars.Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2003 Mar;95(3):277-82.

Lee A, Ghaname CB, Braun TM, et al. Bacterial and salivary biomarkers predict the gingival inflammatory profile. J Periodontol. 2012;83:79–89.

Li Z, Fan B, Wu T, Li Z, Yu X, Zhang B. Special diffusion pathway of pericoronitis of the third molar: A case report and literature review.
Int J Surg Case Rep. 2024 Jun;119:109709. doi: 10.1016/j.ijscr.2024.109709. Epub 2024 Apr 28.

Liu Y-CG, Lerner UH, Teng Y-T a (2010) Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. Periodontol 52:163–206. doi:10.1111/j.1600-0757.2009.00321.x

Luchesi VH, Pimentel SP, Kolbe MF, Ribeiro FV, Casarin RC, Nociti FH Jr, Sallum EA, Casati MZ. Photodynamic therapy in the treatment of class II furcation: a randomized controlled clinical trial.J Clin Periodontol. 2013 Aug;40(8):781-8. doi: 10.1111/jcpe.12121. Epub 2013 Jun 3.PMID: 23731242 Clinical Trial.

Makhlouf M, Dahaba MM, Tunér J et al (2012) Effect of adjunctive low level laser therapy (LLLT) on nonsurgical treatment of chronic periodontitis. Photomed Laser Surg 30:160–6. doi:10.1089 /pho.2011.3069

Magraw, C.; Golden, B; Phillips, C; Tang, D; Munson, J; Nelson, BP; White, RP. Pain with pericoronitis affects quality of life. J Oral Maxillofac Surg. 73, 2015. P 7-12

Mansfield JM, Campbell JH, Bhandari AR, Jesionowski AM, Vickerman MM. Molecular analysis of 16S rRNA genes identifies potentially periodontal pathogenic bacteria and archaea in the plaque of partially erupted third molars. J Oral Maxillofac Surg. 2012 Jul;70(7):1507-14.e1-6

Mendes L, Azevedo NF, Felino A, Pinto MG. Relationship between invasion of the periodontium by periodontal pathogens and periodontal disease: a systematic review. Virulence. 2015;6(3):208-15. doi: 10.4161/21505594.2014.984566. Review.

Mesquita–Ferrari, R.A., Martins M.D., Silva J.A., Jr., et al. (2011). Lasers Med. Sci. 26, 335–340.

McArdle LW, McDonald F, Jones J..Distal cervical caries in the mandibular second molar: an indication for the prophylactic removal of the third molar? Br J Oral Maxillofac Surg. 2014;52(2):185-9.

McNutt M, Patrick M, Shugars DA, Phillips C, White RP. Impact of symptomatic pericoronitis on health related quality of life. J Oral Maxillofac Surg, 2008;66(12):2482-7.

Moreira AL, Novaes Jr AB, Grisi MF, Taba Jr M, Souza SL, Palioto DB, de Oliveira PG, Casati MZ, Casarin RC, Messora MR (2015) Antimicrobial photodynamic therapy as an adjunct to non-surgical treatment of aggressive periodontitis: A split-mouth randomized controlled trial. J Periodontol 86:376-86.

Mota AC, França CM, Prates R, Deana AM, Costa Santos L, Lopes Garcia R, Leal Gonçalves ML, Mesquita Ferrari RA, Porta Santos Fernandes K, Kalil Bussadori S. Effect of Photodynamic therapy for treatment of halitosis in adolescentes- a controlled, microbiological, clinical trial. Effect of photodynamic therapy for the treatment of halitosis in adolescents - a controlled, microbiological, clinical trial.J.Biophotonics. v.9,n.11-12,p.1337-43, 2016.

Mota AC, Gonçalves ML, Bortoletto C, Olivan SR, Salgueiro M, Godoy C, Altavista OM, Pinto MM, Horliana AC, Motta LJ, Bussadori SK. Evaluation of the effectiveness of phodynamic for endodontic treatment of primary teeth: study protocol for a randomized controlled clinical trial. Trial.n.16,551, 2015.

Murakami T, Takahata Y, Hata K, Nishimura R. Role of interleukin-1 and inflammasomes in oral disease.
.J Oral Biosci. 2020 Sep;62(3):242-248. doi: 10.1016/j.job.2020.07.003. Epub 2020 Aug 6.PMID: 32771408

Negreiros RM, Biazevic MGH, Jorge WA, Michel-Crosato, E. Relationship between oral health-related quality of life and the position of the lower third molar: postoperative follow-up. J Oral Maxillofac Surg. 2012. 70(4):779-86.

Neupane SP, Virtej A, Myhren LE, Bull VH. Biomarkers common for inflammatory periodontal disease and depression: A systematic review Brain Behav Immun Health. 2022 Mar 14;21:100450. doi: 10.1016/j.bbih.2022.100450. eCollection 2022 May.PMID: 35330865

Nguyen BT, Nguyen-Le CT, Nguyen BT, Le SH. Risk factors associated with the severity of **pericoronitis** of mandibular third molar.Clin Oral Investig. 2024 May 11;28(6):307. doi: 10.1007/s00784-024-05714-2.PMID: 38733524

Nuñez SC, Yoshimura TM, Ribeiro MS, Junqueira HC, Maciel C, Coutinho-Neto MD, Baptista MS. Urea enhances the photodynamic efficiency of methylene blue. J Photochem Photobiol B. 2015 Sep;150:31-7. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2015.03.018. Epub 2015 Mar 30.

Offenbacher S, Barros S, Mendoza L, Mauriello S, Preisser J, Moss K, de Jager M, Aspiras M. Changes in gingival crevicular fluid inflammatory mediator levels

during the induction and resolution of experimental gingivitis in humans. J Clin Periodontol. 2010 Apr;37(4):324-33. doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01543.x.

Oliveira BH, Nadanovsky P. Psycometric properties of the Brazilian version of the oral health impact profile-short form. Community Dent Oral Epidemiol. 2005;33(4):307-14.

Oliveira RR, Fermiano D, Feres M, Figueiredo LC, Teles FR, Soares GM, Faveri M Levels of Candidate Periodontal Pathogens in subgingival biofilm. J Dent Res. 2016 Jun;95(6):711-8. doi: 10.1177/0022034516634619. Epub 2016 Mar 2.PMID: 26936213

Oruba Z, Łabuz P, Macyk W, Chomyszyn-Gajewska M Photodiagnosis Photodyn Ther. 2017 Dec;20:28-34. doi: 10.1016/j.pdpdt.2017.08.008. Epub 2017 Aug 18. Periopathogens differ in terms of the susceptibility to toluidine blue O-mediated photodynamic inactivation.

Panhóca VH, Esteban Florez FL, Corrêa TQ, Paolillo FR, de Souza CW, Bagnato VS. Oral Decontamination of Orthodontic Patients Using Photodynamic Therapy Mediated by Blue-Light Irradiation and Curcumin Associated with Sodium Dodecyl Sulfate Photomed Laser Surg. 2016 Sep;34(9):411-7. doi: 10.1089/pho.2015.4080

Park D, Kim M, Woo Choi J, Baek JH, Lee SH, Baek K. Antimicrobial photodynamic therapy efficacy specific against periodontitis pathogen bacterial species. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2020 Feb 19:101688. doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.101688.

Passarelli PC, Lopez MA, Desantis V, Piccirillo GB, Rella E, Giovannini V, Speranza A, De Leonardis M, Manicone PF, Casale M, D'Addona A. Quality of Life of Patients with Mandibular Third Molars and Mild Pericoronitis. A Comparison between Two Different Treatments: Extraction or Periodontal Approach. Antibiotics (Basel). 2020 Apr 29;9(5):222. doi: 10.3390/antibiotics9050222.PMID: 32365677

Patel S, Mansuri S, Shaikh F, Shah T. J Maxillofac Oral Surg. 2017 Mar;16(1):79-84. doi: 10.1007/s12663-016-0929-z. Epub 2016 Jun 10. Impacted Mandibular Third Molars: A Retrospective Study of 1198 Cases to Assess Indications for Surgical Removal, and Correlation with Age, Sex and Type of Impaction-A Single Institutional Experience.

Patil K, Pawar R and Talap T. Self-aggregation of Methylene Blue in aqueous medium and aqueous solutions of Bu_4NBr and urea. Phys. Chem. Chem. Phys., 2000,2, 4313-4317.

Pell GJ, Gregory GT. Report on a ten year study of a tooth division technique for removal of impacted teeth. Ame J Orthod Oral Surg. 1942;28:660-6.

Pepper T; Konarzewski, T; Grimshaw, P; Combes, J. Treatment of mandibular third molars and pericoronitis in British military personnel: influence of guidelines from the national institute for health and clinical excellence. Br J Oral Maxillofac surg. N 54, 2016, p 1111-15.

Peterson LJ, Ellis E, Hupp JR, Tucker MR. Cirurgia oral e maxilo facial contemporânea. 3ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan;. p.214-47. 2000.

Peltroche-Llacsahuanga, Heidrun; Reichhart, Engelbert; Schmitt, Walter; Lutticken, Rudolf; Haase, Gerhard. Investigation of infectious organisms causing pericoronitis of the mandibular third molar. J Oral Maxxillofac Surg. 58, 2000. P 611-16.

Pinto, JR e cols. Pericoronarite relacionada com tonsilite recorrente: revisão 2005; 27:88-92.

Pires BRB, de Paoli F, Mencalha AL, de Souza da Fonseca A. Photodynamic therapy on mRNA levels in bacteria.Lasers Med Sci. 2024 Aug 31;39(1):229. doi: 10.1007/s10103-024-04179-9.PMID: 39214913

Pourhajibagher M, Chiniforush N, Shahabi S, Palizvani M, Bahador A. Antibacterial and Antibiofilm Efficacy of Antimicrobial Photodynamic Therapy Against Intracanal Enterococcus faecalis: An In Vitro Comparative Study with Traditional Endodontic Irrigation Solutions. J Dent (Tehran) 2018 Jul; 15(4): 197–204.

Qadri T, Miranda L (2005) The short term effects of low level lasers as adjunct therapy in the treatment of periodontal inflammation. Clin. Periodontol

Quayle AA, Russell C, Hearn B. Organism isolated from severe odontogenic soft tissue infections. J Oral Maxillofac Surg. 1987; 25:34-37.

Rajasuo A, Jousimies-Somer H, Savolaimen S, Leppanen J, Murtomaa H, Meurman JH. Bacteriologic findings in tonsillitis and pericoronitis. Clinical Infetious Diseases. 1996; 23: 51-60.

Rajasuo, A; Sihvonen, J.O; Peltola, M; Meurman, J.H;. Periodontal pathogenes in erupting third molars of periodontally healthy subjects.Int J Oral maxillofac Surg 2007, 36. 818-821.

Renton T, Wilson NHF Problems with erupting wisdom teeth: signs, symptoms, and management J Gen Pract 2016 Aug;66(649):e606-8. DOI: 10.3399/bjgp16X686509

Reddahi S, Bouziane A, Dib K, Tligui H, Ennibi OK. qPCR detection and quantification of aggregatibacter actinomycetemcomitans and other periodontal pathogens in saliva and gingival crevicular fluid among periodontitis patients. Pathogens. 2023 Jan 3;12(1):76.

Rolek A, Pławecki P. Comprehensive management of **pericoronitis** in lower third molars: extraction, operculectomy, and coronectomy approaches. Wiad Lek. 2024;77(7):1514-1516. doi: 10.36740/WLek202407129.PMID: 39241154

Sampaio-Filho H, Sotto-Ramos J, Pinto EH, Cabral MR, Longo PL, Tortamano IP, Marcos RL, Silva DF, Pavani C, Horliana AC. Evaluation of low-level laser at auriculotherapy points to reduce postoperative pain in inferior third molar surgery: study protocol for a randomized controlled trial.Trials. 2016 Sep 2;17(1):432. doi: 10.1186/s13063-016-1540-9

Santos JF, Santos LCR, da Silveira EM, Magesty RA, Flecha OD, Falci SGM, Gonçalves PF, Galvão EL. Does the third molar position influence periodontal status and overall condition of patients with acute pericoronitis? A cross-sectional study. Oral Maxillofac Surg. 2020 Dec;24 (4):447-453. doi: 10.1007/s10006-020-00871-6. Epub 2020 Jul 2.

Santos MT, Guaré R, Leite M, Ferreira MC, Nicolau J. Does the neuromotor abnormality type affect the salivary parameters in individuals with cerebral palsy? J Oral Pathol Med. 2010 Nov;39(10):770-4. https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2010.00919.x

Sampaio-Filho H, Sotto-Ramos J, Pinto EH, Cabral MR, Longo PL, Tortamano IP, Marcos RL, Silva DF, Pavani C, Horliana AC.Evaluation of Low- level laser at auriculotherapy points to reduce postoperative pain in inferior third molar surgery protocol for a ramdomized controlled trial. Trials. 7, 2016, p 432

Savin J, Ogden GR. Third molar surgery- a preliminary report on aspects affecting quality of life in the early postoperative period. Br J Oral Maxillofac Surg. 1997;35(4):246-53.

Schalch TO, Martimbianco ALC, Gonçalves MLL, Motta LJ , Santos EM, Cecatto RB , Bussadori SK, Horliana ACRT. Interventions for Early-Stage Pericoronitis: Systematic Review of Randomized Clinical Trials Antibiotics (Basel)2022 Jan 8;11(1):71. doi: 10.3390/antibiotics11010071

Schmidt J , Kunderova M, Pilbauerova N, Kapitan M. A Review of Evidence-Based Recommendations for Pericoronitis Management and a Systematic Review of Antibiotic Prescribing for Pericoronitis among Dentists: Inappropriate Pericoronitis Treatment Is a Critical Factor of Antibiotic Overuse in Dentistry Int J Environ Res Public Health 2021 Jun 24;18(13):6796.doi: 10.3390/ijerph18136796.

Sencimen, Metin; Saygun Isil; Gulses Aydin; Bal, Vehbi; Acikel, Cengiz H. Evaluation of periodontal pathogenes of mandibular third molar pericoronitis by using real time PCR. Int Dent J. V64, 2014, 200-205.

Sezer U , Eltas A, Ustün K, Senyurt SZ, Erciyas K, Aras MH. Effects of Low-Level Laser Therapy as an Adjunct to Standard Therapy in Acute Pericoronitis,

and Its Impact on Oral Health-Related Quality of Life. Photomed Laser Surg, 30 (10), 592-7 Oct 2012 PMID: 22974370 DOI: 10.1089/pho.2012.3274

Sfakianakis A, Barr CE, Kreutzer DL. Localization of the chemokine interleukin-8 and interleukin-8 receptors in human gingiva and cultured gingival keratinocytes. J Periodontal Res 2002;37:154–60.

Shelburne CE , Prabhu A, Gleason RM, Mullally BH, Coulter WA. Quantitation of Bacteroides forsythus in subgingival plaque comparison of immunoassay and quantitative polymerase chain reaction J Microbiol Methods 2000 Jan;39(2):97-107.doi: 10.1016/s0167-7012(99)00106-2.

Sharman WM, Allen CM, van Lier JE Photodynamic therapeutics: basic principles and clinical applications Drug Discov Today 1999. PMID 10529768

Shugars DA, Benson K, White RP, Simpson KN, Bader JD. Developing a measure of patient perceptions of short-term outcomes of third molar surgery. J Oral Maxillofac Surg. 1996;54(12):1402-8.

Sierra SO, Deana AM, Bussadori SK, da Mota AC, Ferrari RA, do Vale KL, Fernandes KP. Choosing between intraoral or extraoral, red or infrared laser irradiation after impacted third molar extraction. Lasers Surg Med. 2016 Jul;48(5):511-8. doi: 10.1002/lsm.22488. Epub 2016 Feb 11.

Silvestri AR, Singh I. The unresolved problem of the third molar: would people be better off without it? J Am Dent Assoc. 2003;134(4):450-5.

Slade GD, Foy SP, Shugars DA, Phillips C, White RP Jr.The impact of third molar symptoms, pain, and swelling on oral health-related quality of life. J Oral Maxillofac Surg. 2004 Sep;62(9):1118-24

Sixou, JL; Maugaud, C; Jolivet-G, A; Cormier, M; Bonnaure-Mallet, M. Evaluation of the mandibular third molar pericoronitis flora and its susceptibility to diferente antobiotics prescribed in France. Journal of clinical microbiology, Dec 2003. P 5794-97

Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr Microbial complexes in subgingival plaque. J Clin Periodontol. 1998 Feb;25(2):134-44. doi: 10.1111/j.1600-051x.1998.tb02419.x.PMID: 9495612

Syndergaard B, Al-Sabbagh M, Kryscio RJ, Xi J, Ding X, Ebersole JL, Miller CS. Salivary Biomarkers Associated With Gingivitis and Response to Therapy J Periodontol. 2014 Aug; 85(8): e295–e303. Published online 2014 Feb 6. doi: 10.1902/jop.2014.130696

Tang, Dana; Phillips, Ceih; Proffit, William; Koroluk, Lorne; White,Raymond. Effect of quality of life measures on the decision to remove third molars in subjects with mild pericoronoritis symptoms. J oral Maxillofac Sug. Nv 72, 2014, p 1235-1243.

Tortamano ACAC, Anselmo GG, Kassa CT, Godoy-Miranda B, Pavani C, Kato IT, Wainwright M, Prates RA. Antimicrobial photodynamic therapy mediated by methylene blue in surfactant vehicle on periodontopathogens. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2020 Sep;31:101784. doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.101784. Epub 2020 May 11. PMID: 32437974.

Tsai CC, Ho YP, Chen CC. Levels of interleukin-1 beta and interleukin-8 in gingival crevicular fluids in adult periodontitis.J Periodontol. 1995 Oct;66(10):852-9. doi: 10.1902/jop.1995.66.10.852.PMID
: 8537867

Van Winkelhoff AJ, Van Steenbergen TJM, Graff J. The role of black pigmented bacteroides in human oral infections. J Clin Periodontol. 1988; 15:145-148.

Venza I, Visalli M, Cucinotta M, et al. Proinflammatory gene expression at chronic periodontitis and peri-implantitis sites in patients with or without type 2 diabetes. J Periodontol 2010;81:99–108.

Yamalik K, Bozkaya S.Cl The predictivity of mandibular third molar position as a risk indicator for pericoronitis.in Oral Investig. 2008 Mar;12(1):9-14. doi: 10.1007/s00784-007-0131-2. Epub 2007 Jul 10.PMID: 17619915

Yamaguchi M. RANK/RANKL/OPG during orthodontic tooth movement..Orthod Craniofac Res. 2009 May;12(2):113-9. doi: 10.1111/j.1601-6343.2009.01444.x.PMID: 19419454

Yao YL, Feng XP, Jing XZ The correlation between tooth pain and bioactivators changes in gingival crevicular fluid after applying orthodontic stress]..Shanghai Kou Qiang Yi Xue. 2003 Oct;12(5):331-3.

Yurttutan ME , Karaahmetoğlu O , Üçok C, Bağış N. Comparison of the quality of life of patients with mandibular third molars and mild pericoronitis treated by extraction or by a periodontal approach. Br J Oral Maxillofac Surg2020 Feb;58(2):179-184. doi: 10.1016/j.bjoms.2019.10.320. Epub 2019 Dec 19.

Yoshida RA, Gorjão R, Mayer MPA, Corazza PFL, Guare RO, Ferreira ACFM, Santos MTBR. Inflammatory markers in the saliva of cerebral palsy individuals with gingivitis after periodontal treatment. Braz Oral Res. 2019 Jul 1;33:e033. doi: 10.1590/1807-3107bor-2019.vol33.0033.

Wehr C, Cruz G, Young S, and Fakhouri WD An Insight into Acute Pericoronitis and the Need for an Evidence-Based Standard of CareDent J (Basel). 2019 Sep; 7(3): 88. doi: 10.3390/dj7030088 PMCID: PMC6784463 PMID: 31480662

Williams JD. Beta-lactamases and Beta-Lactamase Inhibitors. Int J Antimicrob Agents 12 Suppl 1, S3-7; discussion S26-7. Aug 1999

Zucoloto ML, Maroco J, Campos JA. Psychometric Properties of the Oral Health Impact Profile and New Methodological Approach.J Dent Res. 2014 Jul;93(7):645-50. doi: 10.1177/0022034514533798.

ANEXO 1

Protocolo publicado na revista Medicine- março de 2019

Study Protocol Clinical Trial

Medicine

OPEN

Evaluation of photodynamic therapy in pericoronitis

Protocol of randomized, controlled, double-blind study

Tânia Oppido Schalch[a], Michelle Palmier[b], Priscila Larcher Longo, PhD[c], Paulo Henrique Braz-Silva, PhD[b,d], Isabel Peixoto Tortamano, PhD[e], Edgard Michel-Crosato, PhD[f], Marcia Pinto Alves Mayer, PhD[g], Waldyr Antonio Jorge, PhD[e], Sandra Kalil Bussadori, PhD[a], Christiane Pavani, PhD[a], Renata Matalon Negreiros, PhD[a], Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana, PhD[a,*]

Abstract

Introduction: Pericoronitis is a common disease in the eruption phase of third molars, sometimes debilitating, with an impact on the quality of life. The most indicated treatment in the initial phase is the irrigation for cleanliness of the region. In order to reduce the chances of systemic dissemination of the infection and antibiotics use, it is mandatory to test effective treatments in the initial phase of pericoronitis avoiding the evolution of the infectious disease. Photodynamic therapy (PDT) is an interesting alternative because it is an effective antimicrobial treatment that is easy to perform and does not select bacterial resistance. The methylene blue (MB) used in PDT has been studied in an oral formulation, which optimizes the formation of monomers increasing its antimicrobial action.

Objective: The aim of this study is to evaluate the effectiveness of PDT with MB in an astringent vehicle in pericoronitis on the initial phase in healthy patients through microbiological, clinical, and immune response. The impact of pericoronitis on oral health-related quality of life (OHRQoL) of these patients will also be evaluated.

Method: In this randomized, controlled, double-blind clinical bioequivalence protocol, 64 healthy patients with pericoronitis will be evaluated. Patients will be randomized into the positive control group (G1) (n = 32): irrigation with sterile saline and PDT (conventional MB at 0.005% concentration and irradiation with low intensity laser λ = 660 nm, 9 J per point and radiant exposure of 318 J/cm^2), and the experimental group (G2) (n = 32): treatment identical to G1, however, MB will be delivered in a new formulation for oral use. Microbiological analysis will be performed by RT-PCR for the bacterium *Tannerella forsythia*. Gingival crevicular fluid and saliva will be collected to evaluate cytokines by Luminex assay (Luminex Corporation, Austin, TX). The pain (visual analogue scale), swelling and buccal opening (digital caliper), and OHRQoL will also be evaluated through the OHIP-14 questionnaire. The variables will be evaluated in T1 (baseline), T2 (immediately after PDT), and T3 (4th day after PDT). Registration: clinicaltrials.gov NCT 03576105. Registered in July 2018.

Abbreviations: μm = micrometer, cm^2 = square centimeters, GCF = gingival crevicular fluid, IL = interleukin, IL1-β = interleukin 1 beta, IL-10 = interleukin 10, IL-6 = interleukin 6, IL-8 = interleukin 8, J = Joules, J/cm2 = Joules/square centimeters, MB = methylene blue, Mw = milliwatts, nm = nanometer, OHIP-14 = oral health impact profile, OHRQoL = oral health-related quality of life, PDT = photodynamic therapy, PS = photosensitizer, RT-PCR = real time polymerase chain reaction, TNFα = tumor necrosis factor alpha, VAS = visual analog scale, W/cm^2 = Watts/square centimeters.

Keywords: laser, microbiological analysis, pericoronitis, photodynamic therapy, randomized controlled clinical study, third molar

This trial has not initiated patient recruitment at the time of submission.

The protocol was approved by the Research Ethics Committee of Nove de Julho University (UNINOVE), number #2.732.106. The results of this protocol will be presented at international conferences and published in a peer-reviewed journal. The identity of the patients will not be disclosed. Individual data of patients will be protected in order to protect their confidentiality.

All authors read the manuscript and consent its publication.

Supporting data are available at clinicaltrials.gov NCT03576105.

The study will not receive funding. It will be carried out with funding from the researchers themselves.

The authors have no conflicts of interest to disclose.

[a] *Postgraduate Program in Biophotonics Applied to Health Sciences, University Nove de Julho, UNINOVE,* [b] *Department of Stomatology, School of Dentistry, University of São Paulo,* [c] *Aging Sciences Program,* [d] *Laboratory of Virology, Institute of Tropical Medicine of São Paulo,* [e] *Integrated Clinic, Department of Stomatology,* [f] *Community Dentistry Department, School of Dentistry,* [g] *Department of Microbiology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo.*

[*] *Correspondence: Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana, Postgraduate Program of Biophotonics Applied to Health Sciences, University Nove de Julho/UNINOVE, Rua Vergueiro, 235/249, CEP 01504-001, São Paulo, Brazil (e-mail: annacrth@gmail.com).*

Copyright © 2019 the Author(s). Published by Wolters Kluwer Health, Inc.
This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License 4.0 (CCBY), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Medicine (2019) 98:17(e15312)

Received: 24 March 2019 / Accepted: 27 March 2019

http://dx.doi.org/10.1097/MD.0000000000015312

ANEXO 2

Photodiagnosis and Photodynamic Therapy xxx (xxxx) 103503

Contents lists available at ScienceDirect

Photodiagnosis and Photodynamic Therapy

journal homepage: www.elsevier.com/locate/pdpdt

Case report

Pericoronitis treatment with antimicrobial photodynamic therapy using a new formula of methylene blue: A case report

Tânia Oppido Schalch [a], Érika Thaís Piatto [b], Débora de Souza Simão [a], Sandra Kalil Bussadori [a], Lara Jansiski Motta [a], Christiane Pavani [a], Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana [a,*]

[a] Postgraduate program in Biophotonics Applied to Health Sciences, Universidade Nove de Julho, UNINOVE, São Paulo, Brazil
[b] Dentistry graduate program at the Faculty of Dentistry, Universidade Nove de Julho, UNINOVE, São Paulo, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Third molar
Pericoronitis
Antimicrobial photodynamic therapy

ABSTRACT

Pericoronitis is a common disease that impairs the quality of life of individuals during the eruption of the third molars. Among the main clinical signs and symptoms reported were the presence of gingival operculum, pain, difficulty oral hearing, and edema with functional impairment. The present study shows a case report of pericoronitis treated with antimicrobial photodynamic therapy (aPDT), using a new oral formulation (INPI BR 102017026390-2) of methylene blue. A female patient, 27 years old, presenting initial pericoronitis, had her pain, mouth opening, and swelling evaluated. She was submitted to a protocol of irrigation with sterile saline and photodynamic therapy using the new MB at 0.005% concentration and irradiation with low-intensity laser (λ = 660 nm, 9 J per point, and radiant exposure of 30.0 J/cm²). The variables were evaluated on 4th day after aPDT. There was a 100% improvement in pain and an increase of 1.5 cm in mouth opening. There was no difference in the edema before and after aPDT using the new MB formula. Although the results are based on a single case report, suggest the hypothesis that aPDT using the new MB formula is an efficient therapy in the treatment of pain and trismus caused by the early stage of pericoronitis. Well-controlled randomized clinical trials are needed to compare this new formulation with conventional aPDT for further generalization of results.

1. Introduction

Pericoronitis is the term used to describe inflammation of the soft tissues around dental crowns, usually seen in third semi-erupted molars, representing young adults' main acute oral problem.[1]

The main clinical signs and symptoms described by the pathology in question are pain, presence of gingival operculum, facial swelling, purulent discharge, fever, halitosis, sialitis, lymphadenopathy, reflex pain in the auricular, difficulty swallowing, and trismus with functional impairment. Pericoronitis can, in some cases, spread, promoting more aggressive infectious processes of a systemic nature.[2]

Despite the local and systemic damage that pericoronitis can generate, the data in the literature on its treatment are limited. Several therapies have been proposed, such as local debridement followed by irrigation with saline, administration of anti-inflammatories and antibiotics, and laser therapy, among others, without, however, existing an evidence of a gold standard treatment. This fact generates a challenge to develop evidence-based therapeutic guidelines for this pathology.[3]

One of the promising treatments proposed for pericoronitis described in the literature is antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) [4,5,6], an effective treatment, easy to perform, and does not cause bacterial resistance.[7] The aPDT is based on the adequate combination of a photosensitizer, specific wavelength, and oxygen. This combination results in the formation of reactive oxygen species, which cause the death of microorganisms.[7]

A new oral formulation of methylene blue (MB) was developed in the Postgraduate Program at Universidade Nove de Julho (UNINOVE), Brazil (INPI BR 102017026390-2), aiming to avoid the aggregation process, stabilizing MB monomers and improving the aPDT outcomes [8]. This new oral formulation was tested on Candida albicans[3] and periodontal pathogens[9,10,11] suggesting promising results. More studies are necessary to prove its superiority over conventional MB. This study aims to describe a case report of aPDT mediated by methylene blue as a mouthwash solution as an adjuvant in an early stage of pericoronitis.

* Corresponding author.
E-mail address: anacarolrtb@gmail.com (A.C.R.T. Horliana).

https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.101850
Received 22 November 2020; Received in revised form 1 February 2020; Accepted 7 February 2020

ANEXO 3

Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Nove de Julho (UNINOVE)

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO - UNINOVE

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Avaliação da terapia fotodinâmica em pericoronarite: estudo clínico randomizado, controlado, duplo cego

Pesquisador: Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 88519018.2.0000.5511

Instituição Proponente: ASSOCIACAO EDUCACIONAL NOVE DE JULHO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.732.105

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto que visa avaliar a efetividade da terapia fotodinâmica (PDT) com azul de metileno em veículo adstringente em pericoronarite na fase inicial em jovens saudáveis por meio da avaliação microbiológica, clínica e a resposta imunorregulatória. Também será avaliado o impacto da pericoronarite na qualidade de vida relacionada a saúde bucal (QVRS) desses pacientes. A pericoronarite é uma doença comum na fase de irrompimento dos terceiros molares, às vezes debilitante, com impacto na qualidade devida.

Objetivo da Pesquisa:

Correlacionar a pericoronarite com dados demográficos (gênero, idade) e aspectos clínicos (posição do terceiro molar, presença do opérculo).

Avaliar parametros clínicos como dor (escala analógica visual), edema e abertura bucal (paquímetro digital).

Verificar a possível relação da pericoronarite com dor, edema e trismo

Avaliar citocinas inflamatórias TNF-, IL1-, IL-6 e IL-8 e regulatórias IL-10 na saliva pelo método ELISA

Comparar a ação do fotossensibilizador azul de metileno convencional com a nova formula em veículo adstringente. Mensurar a qualidade de vida relacionada à saúde bucal e relacionar com a

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249
Bairro: LIBERDADE **CEP:** 01.504-001
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3385-9197 **E-mail:** comitedeetica@uninove.br

UNINOVE
Universidade Nove de Julho

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO - UNINOVE

Plataforma Brasil

Continuação do Parecer: 2.732.106

pericoronarite (QVRS).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos apresentados são aqueles inerentes a qualquer atendimento odontológico, sendo o paciente previamente informado a respeito deles e podendo desistir de participar da pesquisa a qualquer momento sem que isto cause a interrupção no seu tratamento. O paciente poderá sentir incomodo ao ser examinado ou no momento da irrigação. Casos mais graves de pericoronarite (com presença de pus) serão medicados e tratados conforme suas necessidades e não serão incluídos na pesquisa.

A alergia ao FS (muito rara) será questionada inicialmente, e caso haja serão tratados conforme suas necessidades. Estes pacientes serão excluídos do estudo, mas esse efeito adverso, caso ocorra será apenas descrito no estudo sem revelar a identidade do paciente. Como medida de proteção, utilizaremos óculos no paciente e pesquisador. A utilização do aparelho de laser com o uso de óculos de proteção não representa risco.

O benefício da pesquisa será tratar a pericoronarite não supurativa, sem a necessidade de antibioticoterapia, evitando resistência bacteriana, além da contribuição para o conhecimento dos cirurgiões dentistas na tomada de decisão terapêutica, sobre exodontias de terceiros molares assintomáticos. Todos os pacientes serão incluídos no curso para fazer a exodontia após controlada a pericoronarite. Todos os pacientes da pesquisa receberão tratamento de irrigação e PDT e posterior exodontia.

A publicação dos resultados permite que cirurgiões dentistas tomem conhecimento desta opção de tratamento.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Retirar a frase do início do texto que descreve que "não há riscos" pois qualquer pesquisa é inerente aos riscos pelos voluntários, como descrito pelo próprio pesquisador nas frases seguintes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa tecnicamente pertinente e o autor cumpriu todas as exigências do revisor.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Sem considerações.

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249
Bairro: LIBERDADE **CEP:** 01.504-001
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3385-9197 **E-mail:** comitedeetica@uninove.br

Continuação do Parecer: 2.732.106

Recomendações:
Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:
Sem Pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:
Para início da coleta dos dados, o pesquisador deverá se apresentar na mesma instância que autorizou a realização do estudo (Coordenadoria, Supervisão, SMS/Gab, etc).

O participante da pesquisa (ou seu representante) e o pesquisador responsável deverão rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo, conforme Carta Circular no 003/2011 da CONEP/CNS.

Salientamos que o pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Lembramos que esta modificação necessitará de aprovação ética do CEP antes de ser implementada.

Ao pesquisador cabe manter em arquivo, sob sua guarda, por 5 anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP (Res. CNS 466/12 item X1. 2. f).

De acordo com a Res. CNS 466/12, X.3.b), o pesquisador deve apresentar a este CEP/SMS os relatórios semestrais. O relatório final deverá ser enviado através da Plataforma Brasil, ícone Notificação. Uma cópia digital (CD/DVD) do projeto finalizado deverá ser enviada à instância que autorizou a realização do estudo, via correio ou entregue pessoalmente, logo que o mesmo estiver concluído.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação

UNINOVE
Universidade Nove de Julho

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO - UNINOVE

Plataforma Brasil

Continuação do Parecer: 2.732.106

Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1153333_E1.pdf	07/06/2018 12:42:51		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetocepfinalmaio.docx	07/06/2018 12:38:51	RENATA MATALON NEGREIROS VICENTE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle.docx	21/05/2018 11:17:04	RENATA MATALON NEGREIROS VICENTE	Aceito
Parecer Anterior	PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_2654445.pdf	21/05/2018 11:09:52	RENATA MATALON NEGREIROS VICENTE	Aceito
Outros	Resposta.pdf	21/05/2018 11:08:32	RENATA MATALON NEGREIROS VICENTE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	assentimento.docx	25/04/2018 16:18:25	RENATA MATALON NEGREIROS VICENTE	Aceito
Outros	matricula.JPG	17/04/2018 16:47:42	RENATA MATALON NEGREIROS VICENTE	Aceito
Outros	coparticipacao.JPG	17/04/2018 17:45:17	RENATA MATALON NEGREIROS VICENTE	Aceito
Outros	fluxograma.JPG	17/04/2018 17:44:18	RENATA MATALON NEGREIROS VICENTE	Aceito
Cronograma	cronograma.jpg	17/04/2018 17:43:43	RENATA MATALON NEGREIROS VICENTE	Aceito
Outros	fluxograma.docx	16/04/2018 16:29:50	RENATA MATALON NEGREIROS VICENTE	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Parque_de_equipamentos_UNINOVE_Biologia_celular_e_molecu.pdf	16/04/2018 14:32:27	RENATA MATALON NEGREIROS VICENTE	Aceito
Cronograma	Cronograma.docx	09/04/2018 14:03:00	RENATA MATALON NEGREIROS VICENTE	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	25/03/2018 19:44:51	Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249
Bairro: LIBERDADE **CEP:** 01.504-001
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3385-9197 **E-mail:** comitedeetica@uninove.br

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO - UNINOVE

Continuação do Parecer: 2.732.106

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

SAO PAULO, 23 de Junho de 2018

Assinado por:
Andrey Jorge Serra
(Coordenador)

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249
Bairro: LIBERDADE **CEP:** 01.504-001
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3385-9197 **E-mail:** comitedeetica@uninove.br

ANEXO 4

TCLE - Termo de Consentimento para Participação em Pesquisa Clínica:

Nome do Participante:_____
Endereço:_____
Telefone para contato:_____ Cidade:_____ CEP:_____
E-mail: _____

1. **Título do Trabalho Experimental: Avaliação da terapia fotodinâmica em pericoronarite: estudo clinico randomizado, controlado, duplo cego**
2. **Objetivo:** Iremos avaliar se o laser (luz) associado com um corante azul (terapia fotodinâmica - PDT) é capaz de matar as bactérias em pericoronarite (infecção da gengiva ao redor do dente do siso) por meio de uma avaliação clínica e de coleta de saliva e fluido gengival (liquido coletado ao redor do dente perto da gengiva) e também avaliação para a presença de bactérias. Outro objetivo será avaliar se pericoronarite atrapalha a sua qualidade de vida relacionada a saúde bucal (QVRS).
3. **Justificativa:** A pericoronarite (infecção da gengiva ao redor do dente do siso) é uma doença comum, onde a gengiva na região do terceiro molar (dente do siso) fica inchada, e pode causar um impacto na qualidade de vida. É normalmente tratada com irrigação e antibiótico, porém este pode causar resistência bacteriana (bactérias se tornarem mais resistentes e fortes e ficam mais difícil de matar) e ter efeitos colaterais. Se comprovada a efetividade da PDT, dispensará o uso de antibiótico em pericoronarite.
4. **Procedimentos da Fase Experimental:** realizaremos avaliação de seus dentes e preenchimento deste termo, coletaremos seus dados, avaliaremos seu RaioX e classificaremos a posição de seus terceiros molares, faremos a avaliação da sua dor através de uma escala onde você irá preencher uma linha com números e dará uma nota para a dor, avaliação do edema (inchaço): mediremos algumas distâncias do seu rosto com uma régua digital, avaliação do trismo (quantidade de abertura bucal): mediremos a distância de seus dentes, e verificaremos se existe febre, a sua temperatura será medida com termômetro digital, e aplicaremos um questionário da qualidade de vida: serão realizadas 14 perguntas sobre a sua saúde bucal e seu estado geral A pesquisa de bactérias será através de um exame de laboratório: onde coletaremos uma amostra gengival na região do terceiro molar com cureta (instrumento) e coletaremos sua saliva e estes serão encaminhados para análise. Será realizada uma irrigação com soro fisiológico para remoção de restos de alimentos e aplicação de fotossensibilizador (corante em gel) e aplicação do laser, no modo de Terapia fotodinâmica (PDT): uso do laser (luz) de baixa intensidade na gengiva dos terceiros molares inferiores. Todos os dados serão coletados dados em três momentos: exame inicial, imediatamente após a PDT e no quarto dia após. Estes procedimentos terão duração de 30 minutos cada vez, você será avaliado em duas datas diferentes (hoje e na próxima segunda feira).

Serão incluídos na pesquisa, ou seja, 7poderão participar dela, pacientes maiores de 13 anos de idade, que tiverem interesse e disponibilidade em participar da pesquisa. Todos os pacientes, independentemente da idade, sexo, nível cultural ou sócio econômico poderão participar da pesquisa. Deverão ter pelo menos um terceiro molar inferior parcialmente visível na boca para ser examinado. Serão excluídos da pesquisa, ou seja não poderão participar, pacientes grávidas e crianças menores de 13 anos, pessoas alérgica ao fotosenssibilizador (corante que usaremos), pacientes que fizeram uso de

medicações anti-inflamatória ou antibiótico nos últimos 90 dias. pacientes que, estiverem com infecção, presença de secreção de pus ou liquido amarelo na região, e /ou pacientes com febre, temperatura acima de 37,8 C .

5. Desconforto ou Riscos Esperados: Todos os pacientes receberão tratamento e serão incluídos no curso para fazer a exodontia (extração) do terceiro molar, quando indicada, e após controlada a pericoronarite. Casos mais graves de pericoronarite (com presença de pus) serão medicados e tratados conforme suas necessidades e estes não serão incluídos na pesquisa.

O benefício da pesquisa será tratar a pericoronarite não supurativa, sem a necessidade de tomar antibiotico, além da contribuir para o conhecimento dos cirurgiões dentistas na tomada de decisão de tratamento de terceiros molares sem sintomas**.**

Os riscos apresentados são aqueles inerentes a qualquer atendimento odontológico, sendo que você será informado a respeito deles, o paciente poderá sentir incomodo ou dor ao ser examinado ou no momento da irrigação, podendo desistir de participar da pesquisa a qualquer momento, sem que isto cause a interrupção no seu tratamento.

A alergia ao fotossensibilizador será questionada inicialmente e caso haja, apesar de ser raro, estes pacientes serão excluídos.

Como medida de proteção, utilizaremos óculos no paciente e pesquisador A utilização do aparelho de laser com o uso de óculos de proteção não representa risco.

6. Métodos Alternativos Existentes:

Não estão previstos métodos alternativos, pelo fato de que faremos irrigação com soro fisiológico em todos os casos. A única diferença será o tipo de corante utilizado antes do uso do laser e nao causa dor e nem tem efeitos colaterais.

7. Retirada do Consentimento: O participante tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo e, ainda assim poder receber os benefícios da pesquisa sem prejuízo algum no seguimento do tratamento.

8. Garantia do Sigilo: Toda e qualquer informação obtida na pesquisa será confidencial. Estamos à disposição para qualquer informação ou queixa de sua parte, podendo ligar para o seguinte telefone: Tânia Oppido Schalch (11) 94112-5599, Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana (13) 997419993

9. Formas de Ressarcimento das Despesas decorrentes da Participação na Pesquisa: Você não terá gastos para participar do trabalho, somente o seu deslocamento para a Clínica da Fundação FFOUSP.

10. Local da Pesquisa: Este estudo será realizado na Clínica da Faculdade de Odontologia da Universidade Nove de Julho – UNINOVE –e na clínica da Fundação Faculdade de Odontologia da USP, tendo como supervisora do projeto da Profª Drª Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana - Professora, Programa de pós graduação em Biofotônica aplicada às Ciências da Saúde e tendo como cirurgiã responsável Tânia Oppido Schalch, aluna de mestrado no Programa de pós graduação em Biofotônica aplicada às Ciências da Saúde, Universidade Nove de Julho/UNINOVE.

A pesquisa será desenvolvida na instituição Co -Participante curso de especialização em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofaciais coordenado pelo professor Waldyr Antonio Jorge,na Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Odontologia (FFO), localizada na Faculdade de Odontologia da Cidade Universitária de São Paulo (FOUSP)

11. Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é um colegiado interdisciplinar e independente, que deve existir nas instituições que realizam pesquisas envolvendo seres humanos no Brasil, criado para defender os interesses dos participantes de pesquisas em sua

integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento das pesquisas dentro dos padrões éticos (Normas e Diretrizes Regulamentadoras da Pesquisa envolvendo Seres Humanos – Res. CNS nº 466/12). O Comitê de Ética é responsável pela avaliação e acompanhamento dos protocolos de pesquisa no que corresponde aos aspectos éticos.

Endereço do Comitê de Ética da Uninove: Rua. Vergueiro nº 235/249 – 3º subsolo - Liberdade – São Paulo – SP CEP. 01504-001 Fone: 3385-9197 comitedeetica@uninove.br

12. Nome Completo e telefones dos Pesquisadores (Orientador e Alunos) para Contato: Profa. Dra. Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana - (013) 997419993, Aluna Tânia Oppido Schalch (011) 94112-5599

13. Eventuais intercorrências que vierem a surgir no decorrer da pesquisa poderão ser discutidas pelos meios próprios.

14. Consentimento Pós-Informação:

Eu, _____, após leitura e compreensão deste termo de informação e consentimento, entendo que minha participação é voluntária, e que posso sair a qualquer momento do estudo, sem prejuízo algum. Confirmo que recebi uma via deste termo de consentimento, e autorizo a realização do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos somente neste estudo no meio científico.

15. Eu, Tânia Oppido Schalch (Pesquisador responsável desta pesquisa), certifico que:

. a) Considerando que a ética em pesquisa implica o respeito pela dignidade humana e a proteção devida aos participantes das pesquisas científicas envolvendo seres humanos;

. b) Este estudo tem mérito científico e a equipe de profissionais devidamente citados neste termo é treinada, capacitada e competente para executar os procedimentos descritos neste termo;

. c) A resolução CNS no 466/12 dispõe sobre as normas aplicáveis a pesquisas em Ciências Humanas e Sociais, cujo procedimentos metodológicos envolvam a utilização de dados diretamente obtidos com os participantes.

São Paulo, de de .

Assinatura do Participante Assinatura do Pesquisador

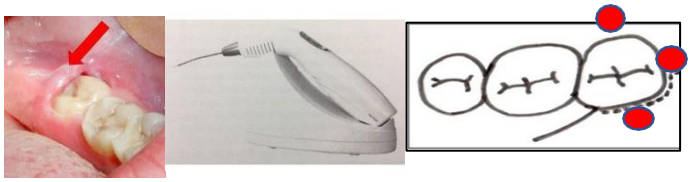
Responsável

ANEXO 5

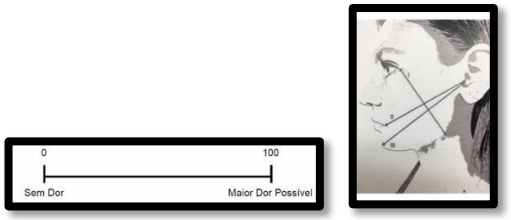
Termo assentimento

Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa **Avaliação da terapia fotodinâmica em pericoronarite: estudo clinico randomizado, controlado, duplo cego**

O adulto que é responsável por você nos contou que seu dente do siso está nascendo, e incomodando. O nome disso pode ser pericoronarite. Queremos aplicar uma luz de laser vermelho, em dois pontos em dois momentos para ver se após esta aplicação você fica sem incomodo até extrair o dente.



Você irá responder a um questionário de qualidade de vida e informar sobre a intensidade da sua dor. Vamos coletar uma amostra da região do dente do siso, usando um instrumental que parece uma colherzinha. Você irá cuspir dentro de um tubinho para analisar sua saliva e observarmos que tipo de bactéria, ou substância está causando incômodo no dente do siso. Também faremos algumas medidas de sua face, usando uma régua específica.



Seus pais deixaram você participar, mas você não é obrigado e se não quiser não tem problema.

Talvez possa acontecer de você ficar com vergonha, ou não gostar do barulhinho que a luz vermelha emite, mas não tem problema, é só falar que não quer mais participar.

Mas também há coisas legais que podem acontecer como: a luz te dar um conforto e tratar a pericoronarite te dispensando de tomar antibiótico.

Ninguém vai saber que você está participando. Vamos usar as informações sobre você para um trabalho, para mostrarmos como a luz de laser vermelho pode ajudar no tratamento da pericoronarite, mas ninguém vai saber que essas informações são suas.

Se tiver alguma dúvida ou pergunta, pode pedir para seus responsáveis ligar nesses números:
(011) 94112-5599 Dra Tânia Schalch
"INCLUSIVE LIGAÇÕES À COBRAR"
E-MAIL taniaschalch@gmail.com

( ) SIM, aceito participar, ouvi tudo o que o responsável leu e explicou, e sei que quando não quiser mais participar é só falar não, em qualquer momento. E recebi uma cópia deste papel.

( ) NÃO, não quero participar

ANEXO 6

Anamnese

Identificação

Nome:_____
RG :_____ Data de nascimento _____/_____/
Naturalidade_____ Profissão/ ocupação:_____
Etnia: ( )Leucod. ( )Melan. ( )Outros:_____ Gênero: ( )M ( )F
Estado Civil: ( )Casado ( )Solteiro Outros:_____
Renda familiar em salário(s) mínimo(s): ( )1-2 ( ) 3-4 ( ) 5 ou mais
Nível de escolaridade: Fundamental ( ) Médio ( ) Superior ( )
completo ( ) incompleto ( )
Condições de vida: casa própria ( ) alugada( ) outros( )
quantidade de quartos( )
Carro particular ( ) transporte público ( )
Endereço:_____
Bairro:_____Cidade:_____
Telefone:_____
email:_____

Acompanhante ou Responsável

Nome do responsável_____
RG_____ Telefone_____ Celular_____
Grau de Parentesco ou Responsabilidade_____

História Médica

1. Está ou esteve em tratamento médico? ( ) sim ( ) não
Se respondeu “Sim”, qual o motivo? _____
2. Apresenta ou já apresentou algum desses problemas de saúde ?
( ) Problemas cardíacos ( ) Problemas renais ( ) Problemas gástricos
( ) Problemas respiratórios ( ) Diabetes ( ) Problemas articulares
( ) Febre reumática ( ) Anemia ( ) HIV positivo
( ) Hepatite ( ) tuberculose ( ) sífilis ( ) convulsão ( ) epilepsia
( ) Problema psiquiátrico ( ) AVC ( ) hipertensão ( ) hipotensão
3. Apresenta alguma alergia a produtos, medicamentos ou alimentos?
( ) sim ( ) não Qual? _____
4. Está tomando algum remédio? ( ) sim ( ) não
Quais? _____
5. Usou antibiótico nos últimos três meses? ( ) sim ( ) não
Qual?_____

6. Usou antiinflamatório nos últimos três meses? ( ) sim ( ) não
Qual?_____
Está grávida? ( ) sim ( ) não Quantos meses?
_____
Está amamentando? ( ) sim ( ) não
7. Sente incômodo na região do dente do siso? ( ) sim ( ) não
Há quanto tempo? _____

Hábitos/ Hábitos nocivos
Escova os dentes quantas vezes ao dia ?_____ e o fio dental? _____
Tabagismo ( ) sim Qte/dia _____ ( ) não quando parou?_____
Etilismo ( ) sim Qte/dia _____ ( ) não quando parou?_____
Alimentação_____

Peso _____ Altura_____ PA _____
Temperatura_____

Eu_____,
RG_____ , declaro para todos os fins legais, que as informações sobre o meu estado de saúde são verdadeiras e que nada omiti no questionário realizado. Concordo também em participar do projeto de pesquisa "*Avaliação da terapia fotodinâmica em pericoronarite: estudo clínico randomizado, controlado, duplo cego."*

Assinatura_____

Data ____/_____/____

ANEXO 7

QUESTIONÁRIO OHIP-14

NOME: _____ **DATA:** _____

OHIP-14 - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE VIDA

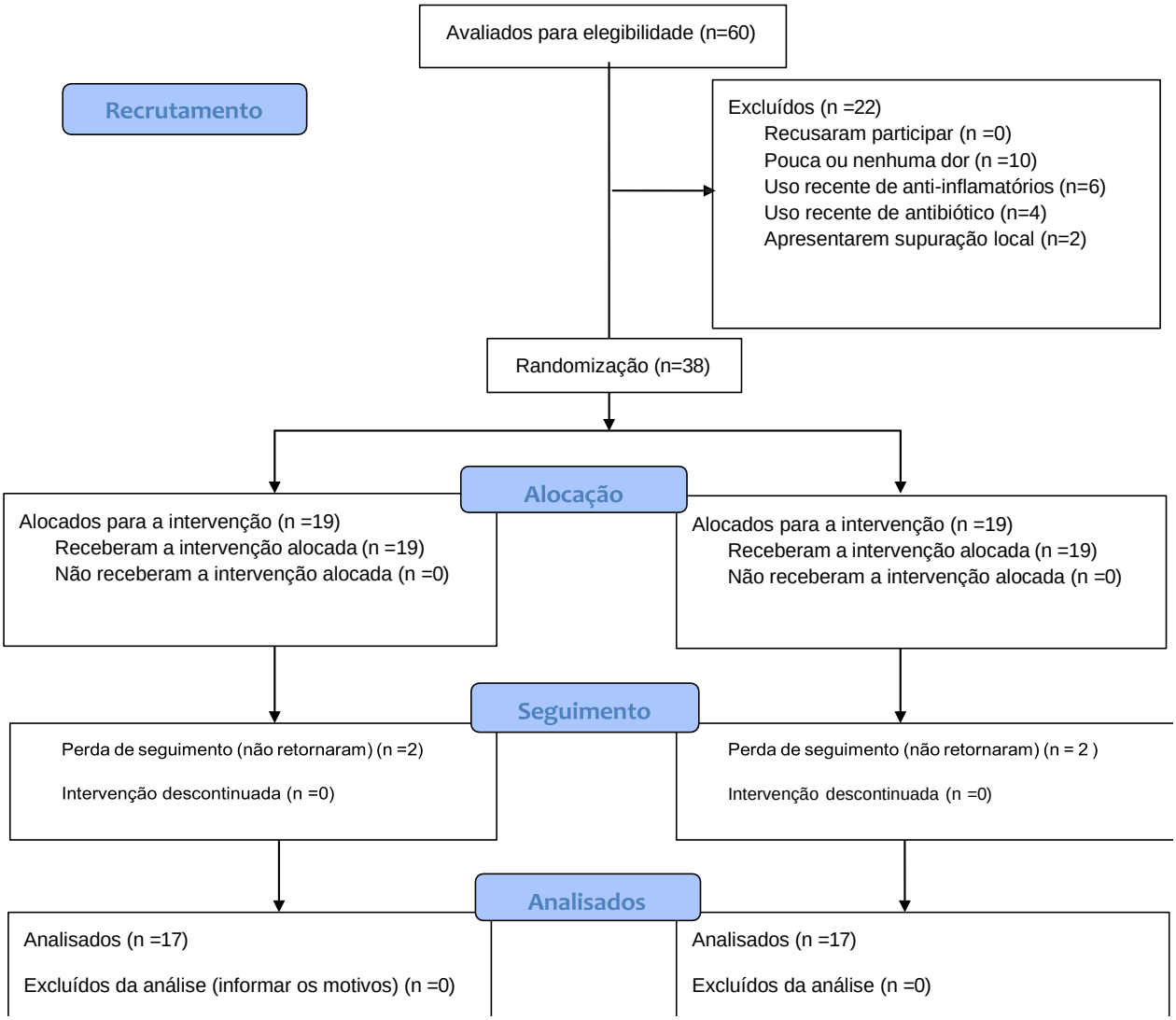
Nos últimos **seis meses**, por causa de problemas com seus dentes do siso ou sua boca, responda:

Perguntas	Nunca	Quase nunca	Às vezes	Muitas vezes	Sempre
Você teve problemas para falar alguma palavra ?					
Você sentiu que o sabor dos alimentos tem piorado?					
Você sentiu dores em sua boca ou nos dentes?					
Você se sentiu incomodado (a) ao comer algum alimento?					
Você ficou preocupado (a)?					
Você tem se sentiu estressado (a)?					
Sua alimentação ficou prejudicada ?					
Você teve que parar suas refeições ?					
Você encontrou dificuldade para relaxar ?					
Você se sentiu envergonhado (a) ?					
Você ficou irritado (a) com outras pessoas ?					
Você teve dificuldade para realizar suas atividades diárias?					
Você sentiu que a vida, em geral, ficou pior?					
Você ficou totalmente incapaz de fazer suas atividades diárias?					

ANEXO 8

CONSORT
TRANSPARENT REPORTING of TRIALS

CONSORT 2010 Flow Diagram



CONSORT 2010 checklist of information to include when reporting a randomised trial*

Section/Topic	Item No	Checklist item	Reported on page No
Title and abstract			
	1a	Identification as a randomised trial in the title	1
	1b	Structured summary of trial design, methods, results, and conclusions (for specific guidance see CONSORT for abstracts)	4
Introduction			
Background and objectives	2a	Scientific background and explanation of rationale	15-24
	2b	Specific objectives or hypotheses	25
Methods			
Trial design	3a	Description of trial design (such as parallel, factorial) including allocation ratio	26
	3b	Important changes to methods after trial commencement (such as eligibility criteria), with reasons	-
Participants	4a	Eligibility criteria for participants	27
	4b	Settings and locations where the data were collected	26
Interventions	5	The interventions for each group with sufficient details to allow replication, including how and when they were actually administered	28
Outcomes	6a	Completely defined pre-specified primary and secondary outcome measures, including how and when they were assessed	30-36
	6b	Any changes to trial outcomes after the trial commenced, with reasons	-
Sample size	7a	How sample size was determined	26
	7b	When applicable, explanation of any interim analyses and stopping guidelines	
Randomisation:			27-28
Sequence generation	8a	Method used to generate the random allocation sequence	27-28
	8b	Type of randomisation; details of any restriction (such as blocking and block size)	27-28
Allocation concealment mechanism	9	Mechanism used to implement the random allocation sequence (such as sequentially numbered containers), describing any steps taken to conceal the sequence until interventions were assigned	27-28
Implementation	10	Who generated the random allocation sequence, who enrolled participants, and who assigned participants to interventions	27-28
Blinding	11a	If done, who was blinded after assignment to interventions (for example, participants, care providers, those	27-28

		assessing outcomes) and how	
	11b	If relevant, description of the similarity of interventions	28
Statistical methods	12a	Statistical methods used to compare groups for primary and secondary outcomes	37
	12b	Methods for additional analyses, such as subgroup analyses and adjusted analyses	-
Results			
Participant flow (a diagram is strongly recommended)	13a	For each group, the numbers of participants who were randomly assigned, received intended treatment, and were analysed for the primary outcome	Anexo 8
	13b	For each group, losses and exclusions after randomisation, together with reasons	36
Recruitment	14a	Dates defining the periods of recruitment and follow-up	36
	14b	Why the trial ended or was stopped	-
Baseline data	15	A table showing baseline demographic and clinical characteristics for each group	Table 3
Numbers analysed	16	For each group, number of participants (denominator) included in each analysis and whether the analysis was by original assigned groups	All tables
Outcomes and estimation	17a	For each primary and secondary outcome, results for each group, and the estimated effect size and its precision (such as 95% confidence interval)	All tables
	17b	For binary outcomes, presentation of both absolute and relative effect sizes is recommended	-
Ancillary analyses	18	Results of any other analyses performed, including subgroup analyses and adjusted analyses, distinguishing pre-specified from exploratory	-
Harms	19	All important harms or unintended effects in each group (for specific guidance see CONSORT for harms)	49
Discussion			
Limitations	20	Trial limitations, addressing sources of potential bias, imprecision, and, if relevant, multiplicity of analyses	-
Generalisability	21	Generalisability (external validity, applicability) of the trial findings	-
Interpretation	22	Interpretation consistent with results, balancing benefits and harms, and considering other relevant evidence	51
Other information			
Registration	23	Registration number and name of trial registry	NCT03578185
Protocol	24	Where the full trial protocol can be accessed, if available	Plataforma Brasil
Funding	25	Sources of funding and other support (such as supply of drugs), role of funders	No funding

Citation: Schulz KF, Altman DG, Moher D, for the CONSORT Group. CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. BMC Medicine. 2010;8:18.
© 2010 Schulz et al. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/2.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

*We strongly recommend reading this statement in conjunction with the CONSORT 2010 Explanation and Elaboration for important clarifications on all the items. If relevant, we also recommend reading CONSORT extensions for cluster randomised trials, non-inferiority and equivalence trials, non-pharmacological treatments, herbal interventions, and pragmatic trials. Additional extensions are forthcoming: for those and for up-to-date references relevant to this checklist, see www.consort-statement.org.