



DOUTORADO EM ODONTOLOGIA

MARIANA LINHARES ALMEIDA

**EFICÁCIA DE DOIS PROTOCOLOS DE CONTROLE QUÍMICO DO BIOFILME
SUPRAGENGIVAL REALIZADO DURANTE O TRATAMENTO PERIODONTAL E
NA FASE DE MANUTENÇÃO EM INDIVÍDUOS COM PERIODONTITE**

GUARULHOS

2020

MARIANA LINHARES ALMEIDA

EFICÁCIA DE DOIS PROTOCOLOS DE CONTROLE QUÍMICO DO BIOFILME
SUPRAGENGIVAL REALIZADO DURANTE O TRATAMENTO PERIODONTAL E
NA FASE DE MANUTENÇÃO EM INDIVÍDUOS COM PERIODONTITE

Tese apresentada à Universidade Univeritas UNG
para obtenção do título de Doutor em Odontologia.

Área de Concentração: Periodontia
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Luciene Figueiredo
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Magda Feres.

GUARULHOS

2020

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas Fernando Gay da Fonseca

A447e

Almeida, Mariana Linhares

Eficácia de dois protocolos de controle químico do biofilme supragengival realizado durante o tratamento periodontal e na fase de manutenção em indivíduos com periodontite. / Mariana Linhares Almeida. -- 2020.

83 f.; 31 cm.

Orientadora: Profa. Dra. Luciene Figueiredo

Co-orientador: Profa. Dra. Magda Feres

Tese (Doutorado em Odontologia) – Centro de Pós-Graduação e Pesquisa e Extensão, Universidade Guarulhos, Guarulhos, SP, 2020.

1. Periodontite 2. Raspagem Dentária 3. Aplainamento Radicular 4. Antissépticos Bucais 5. Clorexidina I. Título II. Figueiredo, Luciene (Orientadora). III. Universidade Guarulhos

CDD. 617.6



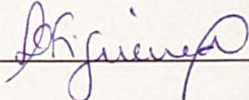

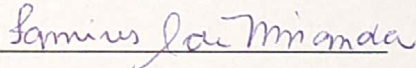
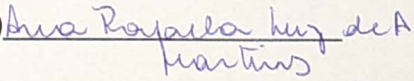

Grupo Ser Educacional



Gente criando o futuro

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, intitulada "EFICÁCIA DE DOIS PROTOCOLOS DE CONTROLE QUÍMICO DO BIOFILME SUPRAGENGIVAL REALIZADO DURANTE O TRATAMENTO PERIODONTAL E NA FASE DE MANUTENÇÃO EM INDIVÍDUOS COM PERIODONTITE" em sessão pública realizada em 18 de dezembro de 2020 considerou a candidata Mariana Linhares Almeida aprovada.

COMISSÃO EXAMINADORA:

1. Profa. Dra. Luciene Cristina de Figueiredo (UNG) 
2. Prof. Dr. Bruno Bueno Silva (UNG) 
3. Profa. Dra. Tamires Szeremeske de Miranda (UNG) 
4. Profa. Dra. Ana Rafaela Luz de Aquino Martins (UFRN) 
5. Prof. Dr. Bruno Cesar de Vasconcelos Gurgel (UFRN) 

Guarulhos, 18 de dezembro de 2020.

DEDICATÓRIA

Dedico essa conquista aos meus pais, os principais responsáveis por eu ter chegado até aqui, que não mediram e não medem esforços para que eu consiga realizar meus sonhos!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por sempre criar as melhores oportunidades na minha vida.

Aos meus pais, por todo amor, carinho e confiança depositados em mim, espero sempre deixá-los orgulhosos. Aos meus irmãos, Marina e Dayvid, por sempre me acompanhar e torcer. Aos meus sobrinhos Lara e Andrews, por serem capazes de me fazer largar qualquer coisa para acompanhá-los em uma partida de UNO.

Ao meu namorado Bemvenuto Júnior por estar sempre presente e ser um dos meus maiores torcedores. Pela compreensão, carinho e incentivo de sempre. Por aguentar toda a distância e saber que ela nos fez um casal mais forte. Os últimos oito anos com certeza foram mais simples por ter você ao meu lado. Você foi a pessoa que compartilhou comigo os momentos de tristezas e alegrias, e a quem confio e compartilho todos os meus sonhos. Que venha as próximas conquistas e os desafios com menos quilômetros de distância.

À minha orientadora Luciene Figueiredo, por ser um exemplo de pesquisadora, professora, mãe... Você é a maior inspiração profissional que eu poderia ter, uma pessoa e profissional completa. Obrigada pela oportunidade de aprender ao seu lado, especialmente no último ano, pelas conversas e conselhos. Espero que esse período tenha sido só o início de uma parceria longa, e saiba que sempre estarei disponível para te ajudar.

À minha coorientadora Magda Feres, por ser uma grande pesquisadora e possibilitar conviver ao seu lado durante esses anos. Muito obrigada por ter depositado sua confiança em mim desde o momento em que fui contemplada com a bolsa LAOHA. Muito obrigada por sempre compartilhar tanto e ser uma grande inspiração.

À querida Maria Josefa Mestnik, pela amizade, carinho, cuidado e por ter me adotado como filha. Obrigada por tantos ensinamentos, pela energia incrível e por ser a pisciana que eu mais amo. Muito obrigada por me ensinar a celebrar a

pequenas conquistas, nunca a inclusão e retornos dos participantes foram tão comemorados. Sem a sua dedicação e esforço, junto com toda paciência de Débora, esse trabalho não seria o mesmo, minha eterna gratidão a vocês.

À Izilvânia Barreto, por tanta dedicação a esse trabalho. Muito obrigada por sair da segurança da sua casa para se dedicar ao laboratório, e nos últimos meses, a toda a parte laboratorial desse trabalho. Muito obrigada por ser tão cuidadosa, metódica e exigente com tudo o que você faz. Nunca esquecerei a tensão em pesar todos os materiais para não sair 0,01 gramas fora da receita, ou de cada gota de NaOH para ajustar o pH. Muito obrigada por deixar eu aprender com você.

Ao professor Hélio, pela contribuição com a estatística deste trabalho. Desculpa por perguntar tanto, e por sempre precisar de mais e mais testes e gráficos. Obrigada pela paciência e dedicação.

Aos professores da banca por aceitarem o convite em participar deste momento, e contribuir com este trabalho para deixá-lo ainda melhor. Em especial, aos professores externos Bruno Gurgel e Ana Rafaela, que me acompanham desde a iniciação científica e também são responsáveis pelo que sou hoje como periodontista, professora e pesquisadora.

À minha professora e amiga, Tamires S. Miranda por ter me recebido em 2016 para uma semana no laboratório que se transformou numa amizade para vida. Muito obrigada por sempre estar disponível a ajudar, por todas as conversas, desabafos, comidas e momentos compartilhados. Você é uma pessoa incrível, batalhadora e merece todo o sucesso do mundo.

À querida professora Gabriela Giro, por ser um exemplo de força. Muito obrigada pelos conselhos, por escutar e colocar umas agulhinhas. Muito obrigada pelas oportunidades ao longo desses anos. Muito obrigada por mostrar que não devemos temer em nos arriscar, e que precisamos encerrar ciclos para começar outros.

À minha primeira família em São Paulo, Fátima Carvalho e João Barata. Muito obrigada por me acolher e cuidar por esses anos. Por todas as comidas diferentes e tentar que eu coma salada. Por todos os passeios, idas ao shopping, show de Caetano. Sentirei saudade dos nossos finais de semana.

À minha segunda família, Kátia, Ivo, Letícia e Nathalia Figueiredo. Obrigada por serem tão acolhedores, por cuidar de mim como uma filha, por abrir a porta da sua casa de vocês. Nem todos os escondidinhos verdadeiros do mundo serão suficientes para agradecer tudo o que vocês fizeram por mim.

À minha amiga Luísa Brasil que me acompanha desde a graduação e compartilhamos a cozinha para matar a saudade de casa. Muito obrigada por tudo, pela amizade, pela companhia, por indicar as melhores bandas e músicas, por todos os shows no SESC e hamburques na madrugada.

Aos meus companheiros de turma de doutorado, Aretuza, Kadmo, Miriam e Márcio por compartilharem as agonias e estresses, mas também os melhores momentos das disciplinas. Em especial, Kadmo e Miriam que tem um lugar especial no coração, obrigada por tantos momentos bons, por acreditar no meu potencial e me incentivar a ser cada vez melhor.

A todos os professores do programa de pós-graduação, Bruno Bueno, Gabriela Giro, Hélio Doyle, Jamil Shibli, Marcelo Faveri, Poliana Duarte por compartilhar tanto conhecimento, pelas oportunidades ao longo do doutorado. Em especial, a Professora Poliana por ser a razão de eu ter feito doutorado na UNG.

A Latin American Oral Health Association (LAOHA), Bernal Stewart e Zilson Malheiros, pela oportunidade em fazer o doutorado em um grande centro e com dedicação exclusiva ao meu trabalho. Muito obrigada pela preocupação com cada um de nós e por fazer da LAOHA uma família. A todos os meus colegas LAOHA, em especial: Belén, Carlos R., Carlos B, Gerson e Glória, muito obrigada pela amizade, pela disponibilidade de escutar, por dividir as tarefas. Muito obrigada por todos os encontros, e agora, nossos *happy-hour* virtuais serem um momento de descontração e felicidade.

À Colgate-Palmolive (Piscataway, NY, USA) e o Global Technology Center (GTC - SP, Brasil) por ter patrocinado esse estudo.

Às funcionárias, Samanta e Juliana pelos serviços prestados.

A todos os pacientes que se disponibilizaram a participar do estudo, sem eles nada seria possível.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo apoio ao Programa de Pós-graduação da Universidade Univeritas UNG.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação.

*“Quero descansar, mas também quero sair
Quero trabalhar, mas quero me divertir
Quero me cobrar, mas saber não me ouvir
Quero começar, mas quero chegar no fim.”*

Pegando Leve – O Terno

RESUMO

Estudos sugerem que o controle estrito do biofilme supragengival por meio do enxágue com clorexidina (CLX) melhora os resultados de diferentes tratamentos periodontais. O cloreto de cetilpiridínio (CPC) é um agente antibacteriano eficaz e gera menos efeitos colaterais do que a CLX, mas nunca foi testado como adjuvante ao tratamento da periodontite. Objetivo: avaliar os efeitos clínicos e microbiológicos de dois protocolos de higiene bucal contendo CLX e / ou CPC, utilizados em diferentes fases do tratamento periodontal. Materiais e Métodos: 80 indivíduos com periodontite foram designados aleatoriamente para receber um dos seguintes protocolos de tratamento: raspagem e alisamento radicular (RAR) combinado com (A) CPC 0,075% + Zinco 0,28% + Fluoreto 0,05% (por 12 meses) e (B): CLX 0,12% (por 2 meses) e CPC 0,075% + Zinco 0,28% + Fluoreto 0,05% (por 10 meses). Os indivíduos receberam RAR em 14 dias e realizaram bochechos com 20 mL das respectivas soluções grupo A ou B) por 1 minuto, 2 vezes / dia, iniciando na primeira sessão de RAR. Os indivíduos foram monitorizados por avaliação clínica e microbiológica no início e ao longo do estudo. Resultados: Os dois protocolos de tratamento melhoraram os parâmetros clínicos e microbiológicos após 12 meses de acompanhamento. O grupo que bochechou CLX/CPC obteve menores índices de acúmulo de biofilme, sangramento gengival, sangramento a sondagem, e números de sítios com profundidade de sondagem (PS) ≥ 4 mm após dois meses da terapia ($p < 0,05$). Ao final do tratamento, mais participantes do grupo CLX/CPC atingiram a meta clínica para tratamento (≤ 4 sítios com PS ≥ 5 mm). Conclusão: Ambos os tratamentos levaram a uma melhora dos parâmetros clínicos aos 12 meses após o tratamento. O uso do bochecho com CLX nos primeiros dois meses proporciona ao paciente mais chance de atingir os melhores resultados clínicos e microbiológicos aos 12 meses após o tratamento.

Palavras-chave: Periodontite, Raspagem Dentária, Aplainamento Radicular, Antissépticos Bucais, Clorexidina, Cetilpiridínio.

ABSTRACT

Studies suggest that strict control of supragingival biofilm through chlorhexidine rinse (CLX) improves the results of different periodontal treatments. Cetylpyridinium chloride (CPC) is an effective antibacterial agent and has fewer side effects than CLX, but it has never been tested as an adjunct to the treatment of periodontitis. Objective: to evaluate the clinical effects of two oral hygiene protocols containing CLX and / or CPC, used in different stages of periodontal treatment. Materials and Methods: 80 individuals with periodontitis were randomly assigned to receive one of the following treatment protocols: scaling and root planing (SRP) combined with (A) 0.075% CPC + Zinc 0,28% + Fluoride 0,05% (for 12 months) and (B): CLX 0.12% (for 2 months) and CPC 0.075% + Zinc 0,28% + Fluoride 0,05% (for 10 months). The individuals received SRP in 14 days and performed mouthwashes with 20 mL of the respective solutions (group A or B) for 1 minute, 2 times / day, starting in the first RAR session. The subjects were monitored by clinical and microbiological evaluation at the beginning and throughout the study. Results: Both treatment protocols improved clinical and microbiological parameters after 12 months of follow-up. The group that rinsed CLX / CPC had better rates of biofilm accumulation, gingival bleeding, bleeding on probing, and number of sites with probing depth (PS) ≥ 4 mm after two months of therapy ($p < 0.05$). At the end of treatment, more participants in the CLX / CPC group reached the clinical endpoint for treatment (≤ 4 sites with PS ≥ 5 mm). Conclusion: Both treatments led to an improvement in clinical parameters at 12 months after treatment. The use of mouthwash with CLX in the first two months gives the patient a better chance of achieving the best clinical and microbiological results at 12 months after treatment.

Key words: Periodontitis, Dental Scaling, Root Planing, Mouthwashes, Chlorhexidine, Cetylpyridinium.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Desenho experimental do estudo	30
Figura 2 Representação gráfica do Minislot 30 (Immunelectics, Cambridge, MA, EUA) e resumo da preparação e colocação das amostras na membrana de nylon (técnica <i>Checkerboard DNA-DNA hybridization</i>)	39
Figura 3 Representação gráfica do <i>Miniblotter</i> 45 (Immunelectics, Cambridge, MA, EUA) e resumo das etapas de hibridização e detecção das espécies bacterianas presentes nas amostras (técnica <i>checkerboard DNA-DNA hybridization</i>)	40
Figura 4 Representação esquemática do padrão de hibridização entre as bactérias presentes nas amostras e as sondas de DNA (técnica <i>checkerboard DNA-DNA hybridization</i>)	41
Figura 5 Fluxograma do delineamento do estudo	44
Figura 6 Níveis das contagens médias ($\times 10^5$) de 40 espécies em amostras de biofilme subgingival para ambos os grupos no início, aos dois e 12 meses pós-tratamento. As espécies foram ordenadas e agrupadas de acordo com os complexos microbianos descritos por Socransky et al. (1998)	54
Figura 7 Média das proporções (%) dos complexos microbianos no início do estudo, dois 12 meses pós-terapia nos dois grupos terapêuticos em todos os sítios	55
Figura 8 Média das proporções (%) dos complexos microbianos no início do estudo, dois 12 meses pós-terapia nos dois grupos terapêuticos nos sítios saudáveis ($PS \leq 3$ mm)	56
Figura 9 Média das proporções (%) dos complexos microbianos no início do estudo, dois 12 meses pós-terapia nos dois grupos terapêuticos nos sítios doentes ($PS \geq 4$ mm)	57

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 Relação das cepas bacterianas empregadas para a confecção das sondas de DNA. As espécies estão agrupadas por complexos bacterianos (SOCRANSKY et al., 1998; SOCRANSKY e HAFFAJEE, 2002)	38
Tabela 2 Índice utilizado para a determinação dos níveis dos microrganismos nas amostras de biofilme	42
Tabela 3 Características demográficas e frequência de efeitos adversos (percentual) no início do estudo e aos dois, seis e 12 meses pós-tratamento	46
Tabela 4 Média dos parâmetros clínicos \pm DP boca toda no início do estudo e aos dois, seis e 12 meses pós-tratamento	48
Tabela 5 Média da redução da PS e ganho de IC (\pm DP) em sítios com PS inicial ≥ 5 mm no início, entre o início e dois, seis e 12 meses pós-terapia	49
Tabela 6 Média do número (percentual) \pm DP dos sítios com PS ≥ 4 mm, ≥ 5 mm e ≥ 6 mm, bem como a média nas reduções (\pm DP) do número de sítios aos dois, seis e 12 meses pós-tratamento	50
Tabela 7 Número e percentual de participantes que atingiram a meta clínica para o tratamento periodontal (isto é, ≤ 4 sítios com PS ≥ 5 mm) aos dois, seis e 12 meses pós-tratamento	51

ANEXOS

	Página
ANEXO A Parecer substanciado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Univeritas UNG	75
ANEXO B Questionário de saúde e anamnese	77
ANEXO C Avaliação dos tecidos orais moles e duros	82
ANEXO D Formulário de visita pós-tratamento	83

LISTA DE ABREVIATURAS

µg	Micrograma
µg/mL	Micrograma por mililitros
µL	Microlitro
AAP	Academia Americana de Periodontia
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CHX	<i>Chlorhexidine</i>
CLX	Clorexidina
CPC	Cloreto de Cetilpiridínio; <i>Cetylpyridinium Chloride</i>
DNA	<i>DeoxyriboNucleic Acid</i>
DP	Desvio-padrão
e.m.p	Erro Médio Percentual
e.p.m	Erro Padrão da Medida
IC	Inserção Clínica
IHO	Instrução de Higiene Oral
min	Minuto
mL	Mililitros
mm	Milímetros
NCI	Nível Clínico de Inserção
ng	Nanograma
°C	Grau Celsius
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PD	<i>Probing Depth</i>
PS	Profundidade de Sondagem
RAR	Raspagem e Alisamento Radicular
SPIRIT	<i>Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Studies</i>
SS	Sangramento à Sondagem

SUMÁRIO

	Página
1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA 16
1.1	1.1 Etiologia e patogênese da periodontite 16
1.2	Tratamento da periodontite 18
1.3	Controle químico do biofilme supragengival 19
1.3.1	<i>Digluconato de Clorexidina</i> 20
1.3.2	<i>Cloreto de Cetilpiridínio</i> 22
2	PROPOSIÇÃO 27
3	MATERIAIS E MÉTODOS 28
3.1	Cálculo da amostra 28
3.2	Seleção ou recrutamento dos participantes do estudo 28
3.3	Crítérios de elegibilidade 28
3.3.1	Crítérios de Inclusão 28
3.3.2	Crítérios de Exclusão 29
3.4	Obtenção do consentimento 29
3.5	Delineamento experimental 30
3.6	Avaliação clínica 32
3.6.1	Calibração do examinador 33
3.7	Procedimentos terapêuticos 33
3.7.1	Adequação do meio bucal e RAR 33
3.7.2	Controle mecânico e químico do biofilme dental supragengival.. 34
3.8	Avaliação da adesão aos grupos de tratamento e possíveis efeitos adversos 35
3.9	Análise Microbiológica 35
3.9.1	Seleção dos sítios-teste e coleta do biofilme subgengival 35
3.9.2	Cepas bacterianas e condições de crescimento 36
3.9.3	Isolamento do DNA e preparo das sondas 37
3.9.4	Checkerboard DNA-DNA hybridization 38
3.9.5	Detecção das espécies 40

3.10	Análise estatística	42
4	RESULTADOS	44
	Participantes, efeitos adversos e adesão aos grupos de	
4.1	tratamento	44
4.2	Resultados clínicos	47
4.3	Resultados microbiológicos.....	52
5	DISCUSSÃO	58
6	CONCLUSÃO	64
	REFERÊNCIAS	65
	ANEXOS	75

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

1.1 Etiologia e patogênese da periodontite

A periodontite é uma doença de caráter infeccioso e inflamatório associada ao biofilme dentário disbiótico, que invade o ambiente subgingival e gera uma resposta inflamatória persistente e desequilibrada, que resulta na destruição do tecido de sustentação do dente (GRAVES, 2008; PAPAPANOU et al., 2018). É um importante problema de saúde pública por ser considerada a sexta doença crônica não transmissível mais prevalente, é causadora de perdas funcionais e tem um impacto negativo plausível na saúde geral. (MARCENES et al., 2013; KASSEBAUM et al., 2017). Suas principais características incluem a perda do tecido periodontal, clinicamente manifestada através da perda de inserção clínica (IC) e perda óssea alveolar, presença de bolsas periodontais e sangramento à sondagem (SS) (LINDHE; LANG; KARRING, 2010; PAPAPANOU et al., 2018).

O biofilme periodontopatogênico é uma comunidade de microrganismos complexa composta por microcolônias aderidas na superfície do dente no ambiente supra e subgingival, considerado fator etiológico da doença periodontal (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002). Essa complexidade se deve ao fato da relativa abundância de nutrientes disponíveis na cavidade oral e a capacidade de coagregação entre as espécies (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002). Os microrganismos considerados patogênicos e associados tanto a gengivite quanto a periodontite são, na maioria das vezes, Gram-negativos, anaeróbios, dotados de motilidade e, menos frequentemente, microaerófilos (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2002, 2005). Em 1998, após a publicação sobre os complexos microbianos do biofilme subgingival (SOCRANSKY et al., 1998), algumas espécies bacterianas reunidas nos complexos amarelo, verde, roxo e o grupo azul foram associadas à saúde. Enquanto, as três espécies do complexo vermelho, *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, foram fortemente associadas ao aumento do SS e da profundidade de sondagem (PS) (SOCRANSKY et al., 1998; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002). Conforme acontece um aumento quantitativo das espécies bacterianas e uma mudança na proporção desses tipos morfológicos, alterações inflamatórias importantes são estabelecidas no tecido periodontal

induzidas pelo biofilme. (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002; KINANE; STATHOPOULOU; PAPAPANOU, 2017).

Esse avanço na compreensão da etiologia das doenças periodontais só foi possível devido a melhoria das tecnologias para diagnóstico microbiológico. Métodos como imunoensaios, PCR (*Polymerase Chain Reaction*) e sondas de DNA (*DeoxyriboNucleic Acid*) permitiram a identificação de espécies difíceis de serem identificadas pelos métodos tradicionais, como a cultura bacteriana (FERES; FIGUEIREDO; SOARES; FAVERI, 2015). Um desses métodos, o *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* (SOCRANSKY et al., 1994), teve um papel primordial nesse avanço do conhecimento, por permitir a identificação e a quantificação de 40 espécies bacterianas orais em até 28 amostras por teste. Através dessa tecnologia, os complexos microbianos foram identificados, e até os dias atuais, as 40 espécies são utilizadas como “marcadores biológicos” para o estado de saúde ou doença. (CARVALHO et al., 2005; HAFFAJEE; PATEL; SOCRANSKY, 2008; MATARAZZO et al., 2008; FERES et al., 2009; MESTNIK et al., 2010; SAMPAIO et al., 2011; SOARES et al., 2014).

Esse avanço contribuiu para o surgimento de um novo modelo de patogênese, segundo o qual a periodontite é iniciada por uma comunidade microbiana sinérgica e disbiótica (HAJISHENGALLIS, LAMONT, 2012). Patógenos fundamentais denominados “*keystone*” são capazes de aumentar a virulência de toda a comunidade microbiana, modular a resposta do hospedeiro conseqüentemente, favorecer a disbiose (HAJISHENGALLIS, LAMONT, 2012). Além disso, estudos utilizando técnicas de sequenciamento do DNA bacteriano começaram a identificar novas espécies que podem estar relacionadas à doença periodontal (PEREZ-CHAPARRO et al., 2014; HIRANMAYI et al., 2017; PEREZ-CHAPARRO et al., 2018). No entanto, esses estudos também provaram a associação dos conhecidos patógenos periodontais (PEREZ-CHAPARRO et al., 2014; PEREZ-CHAPARRO et al., 2018; HIRANMAYI et al., 2017).

Com o avanço das pesquisas sobre a etiologia infecciosa da periodontite, o conceito atual da doença está associado ao aumento nos níveis e proporções de espécies bacterianas patogênicas, diminuição das associadas à saúde. Além disso, o biofilme não se organiza de maneira aleatória, a maioria das bactérias orais tem capacidade de aderir uma as outras, tanto no ambiente supra e como no ambiente

subgengival (LÖE et al., 1978; SOCRANSKY et al., 1998; SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2002, 2005; TELES; HAFFAJEE; SOCRANSKY, 2006).

1.2 Tratamento da periodontite

Para que o tratamento da periodontite seja considerado bem sucedido, é necessário que a terapia de escolha melhore os parâmetros clínicos periodontais, além de promover mudança ecológica do biofilme tornando o perfil microbiano mais compatível com saúde periodontal (CUGINI et al., 2000; FERES; FIGUEIREDO; SOARES; FAVERI, 2015). A terapia conhecida como padrão ouro para o tratamento da periodontite é a raspagem e alisamento radicular (RAR), por ser capaz de reduzir PS e SS, e favorecer o ganho do nível clínico de inserção (NCI) e a mudança do perfil microbiano (FERES; FIGUEIREDO; SOARES; FAVERI, 2015).

A raspagem e alisamento radicular (RAR) consiste na remoção mecânica e desorganização do biofilme supra e subgengival, e seus resultados são observados desde a primeira reavaliação (CUGINI et al., 2000). Cugini e colaboradores (2000) avaliaram os parâmetros clínicos e microbiológicos de 32 pacientes submetidos a RAR. Eles observaram que a maior parte da melhora clínica e a maior redução em espécies subgengivais específicas ocorreram nos primeiros 6 meses após a RAR, e os resultados mantiveram estáveis até um ano após o tratamento ou melhoraram modestamente depois disso (CUGINI et al., 2000). Haffajee e colaboradores (2008) mostraram redução nas contagens médias das espécies bacterianas dos complexos laranja e vermelhos após tratamento periodontal. A maior diminuição ocorreu após duas semanas, mas para algumas espécies houve uma diminuição contínua na avaliação de três e seis meses, com ligeiro aumento aos 12 meses (HAFFAJEE; PATEL; SOCRANSKY, 2008). Além disso, esses autores correlacionaram a diminuição dos níveis das espécies bacterianas com melhora na PS, e advertiram que o aumento dessas espécies poderia estar associado a uma piora clínica (HAFFAJEE; PATEL; SOCRANSKY, 2008). Portanto, um fator associado ao sucesso do tratamento é o estabelecimento da terapia de manutenção periodontal, podendo ser essencial na consolidação das melhorias clínicas e microbiológicas alcançadas como resultado da terapia inicial (CUGINI et al., 2000).

No entanto, nem todos os indivíduos com periodontite conseguem manter a longo prazo os benefícios atingidos logo após à RAR (HAFFAJEE et al., 1997; CUGINI et al., 2000; CARVALHO et al., 2005; MATARAZZO et al., 2008). Uma das principais razões, é o fato da presença de patógenos em toda a boca, que podem ser encontradas no biofilme supragengival e em outros nichos orais, como, por exemplo, língua, mucosa oral e saliva (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002). Mesmo em sítios saudáveis, os indivíduos com doença periodontal apresentam maiores proporções de patógenos quando comparados aos que não possuem a doença (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002; FERES; FIGUEIREDO; SOARES; FAVERI, 2015). Nesse sentido, diversos estudos ao longo dos anos testaram terapias adjuntas a RAR, como enxaguatórios bucais, que fossem capazes de potencializar esses benefícios clínicos e microbiológicos (FAVERI et al., 2006b; HAPS et al., 2008; FERES et al., 2009, 2012, 2015; HAFFAJEE et al., 2009; COSTA et al., 2013; DA COSTA et al., 2017; GARCÍA-GARGALLO et al., 2017). Além disso, se faz necessário terapias capazes de manter os resultados atingidos por um longo período e que alcançasse todas as áreas da boca que necessitam de um tratamento anti-infeccioso.

1.3 Controle químico do biofilme supragengival

A remoção mecânica do biofilme é necessária para prevenção, tratamento e manutenção pós-terapia das doenças periodontais, seja profissional ou através do controle manual pelo próprio indivíduo (LOE, 1965; AXELSSON; NYSTRÖM; LINDHE, 2004). No entanto, nem sempre níveis satisfatórios de limpeza são atingidos apenas com a escovação manual. Uma revisão sistemática avaliou a eficácia da remoção do biofilme em adultos com gengivite, e concluiu que a qualidade do controle mecânico da placa não foi completamente eficaz na redução dos sinais de inflamação (VAN DER WEIJDEN et al., 2005). Além disso, as superfícies dentárias só representam uma pequena porcentagem da área total da boca (KERR; KELLY; GEDDES, 1991). Portanto, o uso de agentes antimicrobianos pode auxiliar o controle do biofilme supragengival, porque são capazes de atingir outros nichos orais e podem retardar o acúmulo na superfície do dente (TELES; TELES, 2009; SEKINO et al., 2004).

Um dos meios de apresentação dos agentes químicos são os enxaguatórios bucais. Esses agentes podem agir promovendo a morte celular, inibindo a reprodução bacteriana ou inibindo o metabolismo celular (BOYLE; KOEHLIN; AUTIER, 2014; TARTAGLIA et al., 2017). Uma vasta gama de agentes químicos com propriedades antimicrobianas estão sendo estudados como princípios ativos para controlar a formação do biofilme dental, tais como, bisguanidas (clorexidina [CLX]), compostos de amônio quaternário (cloreto de cetilpiridínio [CPC], cloreto de benzalcônio), detergentes, óleos essenciais, compostos fenólicos (triclosan), enzimas (mutanase/glucanase, amiloglucosidase/glucose oxidase), íons metálicos (zinco, cobre, estanho) e extratos vegetais (sanguinarina) (LÖE & SCHIOTT, 1970; SCHIOTT, 1973; JONES, 1997; RADFORD et al., 1997, FAVERI et al., 2006b; FERES et al. 2009; KUMAR et al., 2013; JAMES et al., 2017).

1.3.1 Digluconato de clorexidina

Clorexidina (CLX) é uma bisguanida catiônica altamente alcalina, tornando-a praticamente insolúvel (KARPINSKI; SZKARADKIEWICZ, 2015), por essa razão, é utilizada na forma de sal solúvel, o mais comum é o digluconato de clorexidina (FOULKES, 1973; KARPINSKI; SZKARADKIEWICZ, 2015). É utilizada na medicina desde 1953, e hoje é considerado o padrão ouro entre os antissépticos orais, por possuir diversas características que favorecem a sua aplicabilidade na odontologia, como amplo espectro de ação e alta substantividade (FOULKES, 1973; ELEY, 1999; KARPINSKI; SZKARADKIEWICZ, 2015; VAN DER WEIJDEN, 2015; JAMES et al., 2017).

A molécula de CLX possui carga positiva que interage com a carga negativa das membranas celulares bacterianas, causa um desequilíbrio osmótico do microrganismo e, dependendo da dosagem, terá um efeito bactericida ou bacteriostático (JAMES et al., 2017). Quando as concentrações são maiores ou iguais à 0,12%, a CLX causa morte celular (bactericida) devido a precipitação e liberação do conteúdo citoplasmático tanto de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, como aeróbios e anaeróbios. Em doses mais baixas, causa alteração na integridade da parede celular, libera produtos de baixo peso molecular que impedem a reprodução bacteriana (bacteriostático) (PUIG SILLA 2008; VARONI et al., 2012;

KARPINSKI; SZKARADKIEWICZ, 2015; VAN DER WEIJDEN, 2015; JAMES et al., 2017).

Além disso, a molécula de clorexidina tem a capacidade de adsorver e aderir a qualquer substrato carregado negativamente, isto é, tecidos moles e duros, glicoproteínas, além dos vários componentes do biofilme dentário (RÖLLA; LÖE; SCHIOTT, 1970; DAVIES, 1973; JONES, 1997). Isso garante uma retenção prolongada e níveis elevados da substância, o que a torna especialmente adequada para a inibição da formação do biofilme (ELEY, 1999; JAMES et al. 2017). O efeito da clorexidina no biofilme microbiano é dependente da dose (KEIJSER et al., 2003). A dose ideal de clorexidina em um enxaguatório bucal é considerada 20 mg duas vezes ao dia (LÖE; SHIOTT, 1970) equivalente a 10 mL de clorexidina 0,2% (20 mg) ou 15 mL de clorexidina 0,12% (18 mg) (ELEY 1999; KEIJSER et al., 2003). Uma revisão sistemática mostrou uma diferença significativa para menor acúmulo de biofilme favorecendo a concentração de 0,2%, no entanto, os autores consideraram que provavelmente a relevância clínica desta diferença é insignificante (BERCHIER et al., 2010).

Quando adjunta ao tratamento periodontal, o uso da clorexidina resulta em uma redução ligeiramente maior para PS (DA COSTA et al., 2017), e menor sangramento gengival (JAMES et al., 2017). Uma meta-análise avaliou os estudos que associaram o uso da clorexidina ao tratamento de indivíduos com periodontite crônica (DA COSTA et al., 2017). Dentre os estudos incluídos, apenas três estudos tinham como objetivo primário avaliar o efeito da CLX nos parâmetros periodontais (BEISWANGER et al., 1992; FAVERI et al, 2006; FERES et al., 2009). Esses estudos utilizaram o bochecho com concentração de 0,12% por um período que variou entre 40 e 60 dias, também mostraram benefícios clínicos ao uso da CLX, (BEISWANGER et al., 1992; FAVERI et al, 2006; FERES et al., 2009).

Nesse sentido, o controle químico do biofilme pode ser uma alternativa eficaz para potencializar a terapia mecânica. Feres e colaboradores (2009) comparou o controle químico com bochechos de clorexidina ao controle mecânico profissional, após a RAR e antes da primeira reavaliação. Os maiores benefícios clínicos e microbiológicos foram encontrados no grupo que realizou o bochecho associado a RAR. Além disso, o uso de CHX proporcionaria a grande vantagem de não exigir que o paciente retorne para ao dentista para ter remoção profissional de biofilme realizada semanalmente (FERES et al., 2009). Posteriormente, outros

estudos associaram o uso da CLX a outros adjuntos, também obtiveram resultados favoráveis (CARVALHO et al., 2004, 2005; MESTNIK et al., 2010; FERES et al., 2012; FONSECA et al., 2015).

No entanto, o uso continuado de enxaguatórios com CLX durante o tratamento periodontal é o desenvolvimento de efeitos adversos. Os mais relatados na literatura são: pigmentação extrínseca dos dentes, língua, mucosas e restaurações, alteração do paladar, sensação de ardência, formação de cálculo supragengival e casos menos frequentes de alergia (FLOTRA et al., 1971; CUMMING & LÖE, 1973; KENI; ARAS; CHITRE, 2012; SLOTS, 2012; JAMES et al., 2017). Contudo, esses efeitos são dose-dependentes, e tendem a diminuir quando a concentração é reduzida ou desaparecem quando o uso do enxaguatório é suspenso (FLOTRA et al., 1971; CUMMING & LÖE, 1973; JAMES et al., 2017). Por essa razão, formulações com doses mais baixas ou outros princípios ativos têm sido descritos na literatura na tentativa de mostrar benefícios semelhantes, mas com menor frequência dos efeitos adversos associados ao uso da CLX.

1.3.2 Cloreto de Cetilpiridínio

O cloreto de cetilpiridínio (CPC) foi descrito pela primeira vez demonstrando efeitos bactericidas e bacteriostáticos nas espécies bacterianas da cavidade oral em 1945 (HUYCK, 1945), e ao longo dos anos, vários estudos demonstraram sua atividade antimicrobiana (QUISNO & FOSTER, 1946; CIANCIO; MATHER; BUNNELL, 1975; HOLBECHE; RULJANCICH; READE, 1975; BARNES et al., 1976; LOBENE et al., 1979; ASHLEY et al., 1984; CIANCIO, 1986; HERRERA et al., 2003; ROLDAN et al., 2003; SANTOS et al., 2004; QUIRYNEN et al., 2005; WITT et al., 2006; HAPS et al., 2008; ESCRIBANO et al., 2010; FERES et al., 2010; GARCIA et al., 2011; COSTA et al., 2013; SREENIVASAN; HARASZTHY; ZAMBON, 2013; GARCÍA-GARGALLO et al., 2017; RETAMAL-VALDES et al., 2017; RÖSING et al., 2017; PULCINI et al., 2019; MIRANDA et al. 2020). O CPC é um composto quaternário de amônia catiônico, portanto, possui uma carga positiva capaz de interagir com a membrana celular bacteriana carregada negativamente, ajudando a alterar e aumentar a permeabilidade bacteriana (RADFORD et al., 1997; MAO et al., 2020).

Recentemente, o CPC foi usado em um modelo de biofilme de 31 espécies *in vitro* relacionadas a periodontite, e se mostrou tão efetivo quando a clorexidina (MIRANDA et al., 2020). Devido à essa demonstração de atividade antimicrobiana, o CPC tem mostrado ser um agente promissor como alternativa à CLX em diversas situações clínicas como: bochecho bucal pré-procedimento (FERES et al., 2010; RETAMAL-VALDES et al., 2017), no tratamento da halitose (ROLDÁN et al., 2003; WINKEL et al., 2003; LIU; LING; WU, 2013), em infecções da orofaringe (PITTEN & KRAMER, 2001) e adjunto ao tratamento da gengivite (ROSA & STURZENBERGER, 1976; HAPS et al., 2008; GARCIA et al., 2011; SHIM et al., 2012; COSTA et al., 2013), da periodontite (SANTOS et al., 2004; QUIRYNEN et al., 2005; ESCRIBANO et al., 2010; GARCÍA-GARGALLO et al., 2017), e da peri-implantite (PULCINI et al., 2019).

Com relação à apresentação do CPC, os produtos variam principalmente quanto a sua concentração. Tem se relatado apresentações comerciais desde 0,045% (ROSA & STURZENBERGER, 1976), 0,05%, sendo a concentração mais comumente usada e relatada na literatura (CIANCIO; MATHER; BUNNELL, 1975; HOLBECHE; RULJANCICH; READE, 1975; QUIRYNEN et al., 2001; HERRERA et al., 2003; ROLDAN et al., 2003; WINKEL et al., 2003; SANTOS et al., 2004; QUIRYNEN et al., 2005; ESCRIBANO et al., 2010; FERES et al., 2010; GARCIA et al., 2011; SHIM et al., 2012; SREENIVASAN; HARASZTHY; ZAMBON, 2013; GARCÍA-GARGALLO et al., 2017; HERRERA et al., 2017), 0,07% (WITT et al., 2006; COSTA et al., 2013; RÖSING et al., 2017; PULCINI et al., 2019; MÁXIMO et al., 2020), 0,075% (RETAMAL-VALDES et al., 2017; RÖSING et al., 2017; MIRANDA et al., 2020) e 0,1% (ASHLEY et al., 1984). A concentração de 0,75% tem demonstrado bons resultados, tanto *in vitro* (MIRANDA et a., 2020), como quando utilizado com bochecho bucal pré-procedimento (RETAMAL-VALDES et al., 2017). No entanto, esta apresentação comercial ainda não foi testada no tratamento periodontal não-cirúrgico, por ser um enxaguatório relativamente novo.

Para o tratamento da periodontite, a única concentração testada foi de 0,05% de CPC (SANTOS et al., 2004; QUIRYNEN et al., 2005; ESCRIBANO et al., 2010; GARCÍA-GARGALLO et al., 2017), dentre eles, apenas um estudo avaliou o efeito do uso do bochecho com CPC durante a fase ativa do tratamento (GARCÍA-GARGALLO et al., 2017). García-Gargallo e colaboradores (2017) comparou o efeito de dois novos enxaguatórios com diferentes concentrações de CLX e CPC após

RAR com um produto já comercializado contendo as duas substâncias. Os pacientes foram aleatorizados em três grupos após todos receberem a RAR, sendo eles: teste 1 (nova reformulação: 0,12% CLX e 0,05% CPC), teste 2 (nova formulação: 0,03% CLX e 0,05% CPC) e controle positivo (produto comercial: 0,12% C+LX e 0,05% CPC). Após 1 mês, houve diferenças significativas entre os grupos nos níveis de biofilme encontrados, mas nenhuma diferença nos efeitos adversos. Além disso, ambos os grupos testes mostraram melhores níveis e proporções de *Capnocytophaga spp* (GARCÍA-GARGALLO et al., 2017). Mesmo sendo um estudo piloto com avaliação apenas após um mês da RAR, os autores concluíram que a nova formulação de CLX 0,12% e CPC 0,05% mostrou maiores reduções no nível de biofilme, sem apresentar mais efeitos adversos, quando comparados aos outros dois enxaguatórios bucais, após RAR (GARCÍA-GARGALLO et al., 2017).

Alguns estudos avaliaram o efeito do enxaguatório contendo CPC na fase de manutenção periodontal (SANTOS et al., 2004; QUIRYNEN et al., 2005; ESCRIBANO et al., 2010). Santos et al. (2004) avaliaram o índice de placa (IP) e índice gengival (IG) de 27 indivíduos que estavam na fase de manutenção há pelo menos um ano. Destes indivíduos, 14 usaram o bochecho com CLX 0,05% e CPC 0,05% e 13 utilizaram placebo durante 15 dias. Os autores observaram que o grupo teste teve maior redução do IP, além de redução na contagem total de colônias bacterianas e diminuição na frequência de detecção de *P. gingivalis* (SANTOS et al., 2004). Quirynten et al. (2005) avaliaram o efeito de um bochecho com CLX 0,05% e CPC 0,05% e dois controles em indivíduos já tratados através do protocolo “*Full Mouth Disinfection*”. Os participantes foram orientados a bochecharem por um minuto duas vezes ao dia durante 6 meses o bochecho do respectivo protocolo (QUIRYNEN et al., 2005). Os autores observaram que o acúmulo de biofilme e inflamação gengival foram semelhantes entre o grupo CPC e controle positivo com clorexidina, assim como a diminuição da contagem de colônias bacterianas do biofilme supragengival e a carga microbiana da saliva (QUIRYNEN et al., 2005). Com metodologia semelhante, mas em indivíduos com controle de placa inadequado, Escribano et al. (2010) avaliaram a eficácia clínica e microbiológica de um enxaguatório bucal com 0,05% de CLX e 0,05% de CPC. Os participantes realizaram o bochecho duas vezes ao dia por 3 meses com as soluções teste ou placebo, além da higiene convencional. Depois desse período, os níveis de biofilme e sangramento a sondagem aumentaram no grupo de placebo, enquanto diminuíram

no grupo de teste. Além disso, foram demonstradas reduções significativas intergrupo nas contagens subgengivais de *Fusobacterium nucleatum* e *Prevotella intermedia* e diminuição da contagem bacteriana total na saliva, demonstrando a eficácia do bochecho testado.

Todos esses trabalhos que avaliaram indivíduos com periodontite adicionaram a CLX ao CPC durante as fases do tratamento, ativa ou manutenção (SANTOS et al., 2004; QUIRYNEN et al., 2005; ESCRIBANO et al., 2010; GARCÍA-GARGALLO et al., 2017). Isso é feito com o objetivo de potencializar o efeito antimicrobiano de ambos os produtos, além de buscar a possibilidade de usar a CLX em baixas dosagens com o objetivo de diminuir os efeitos adversos e serem usados por um período prolongado (SANTOS et al., 2004; QUIRYNEN et al., 2005; ESCRIBANO et al., 2010; GARCÍA-GARGALLO et al., 2017). Nesse sentido, outras substâncias podem ser acrescentadas aos enxaguatórios com o objetivo de maximizar os efeitos microbianos das soluções. Uma delas são os íons zinco que exibiram possíveis efeitos inibitórios na formação de biofilme (SREENIVASAN et al., 2009; GU et al., 2012), diminuição na formação de cálculo (CHARLES et al., 2001; JIN; YIP, 2002; SANTOS et al., 2005); possuir anti-inflamatórias (LANG et al., 2007), além da capacidade de neutralizar quimicamente compostos voláteis, importante no tratamento da halitose (KANG et al., 2015; EROVIC ADEMOVSKI; LINGSTRÖM; RENVERT, 2016).

Nesse contexto, o zinco tem sido adicionado a alguns produtos de higiene oral, como por exemplo enxaguatórios com CPC (ROLDAN et al., 2003; WINKEL et al., 2003; RETAMAL-VALDES et al., 2017; RÖSING et al., 2017). Rösing e colaboradores (2017) avaliaram os efeitos antiplaca e antigengivite de um enxaguatório contendo CPC e zinco (0,075% de CPC e 0,28% de lactato de zinco), outro contendo 0,07% de CPC e um controle negativo sem CPC e zinco. Cento e doze indivíduos foram aleatoriamente designados entre esses grupos e acompanhados por seis semanas, orientados a escovar duas vezes ao dia com uma escova e pasta de dentes e utilizar o enxaguatório bucal designado (RÖSING et al., 2017). Após 4 e 6 semanas, todos os grupos de enxaguatórios melhoraram os parâmetros relacionados ao biofilme e inflamação gengival. No entanto, em comparação ao controle positivo, o grupo teste apresentou reduções adicionais de biofilme de 19,8% e 16,8%, e 9,7% e 14,3% para IG, após 4 e 6 semanas, respectivamente (RÖSING et al., 2017). Os autores discutem que a diferença

mínima entre as concentrações do grupo teste e controle positivo sozinha não seria capaz de aumentar o efeito antigengivite encontrado (RÖSING et al., 2017). Por essa razão, foi atribuído a redução adicional da severidade gengival do grupo teste de 35,3% e 54,5% na semana 4 e 6, respectivamente, à adição do lactado de zinco. Além disso, utilizar a combinação CPC com zinco trouxe melhores resultados principalmente para a região interproximal (RÖSING et al., 2017).

Portanto, é indiscutível a necessidade do controle mecânico do biofilme, mas o controle químico tem mostrado ser uma boa alternativa para ampliar os efeitos positivos e minimizar as limitações da escovação manual. Assim, o CPC apresenta bom potencial por ter atividade antimicrobiana e não possuir efeitos adversos graves. Uma meta-revisão (VAN DER WEIJDEN et al., 2015) apresentou três revisões sistemáticas que avaliaram o uso adjunto do CPC (GUNSOLLEY, 2006; HAPS et al., 2008; SERRANO et al., 2015), mostrou que duas delas apresentaram efeitos significativos favorecendo o CPC (HAPS et al., 2008; SERRANO et al., 2015). Porém, nenhum estudo avaliou diretamente os efeitos clínicos do controle químico do biofilme supragengival usando um enxaguatório contendo 0,075% de CPC e 0,28% de lactado de zinco durante a fase ativa e/ou de manutenção do tratamento periodontal não-cirúrgico.

2 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi verificar a eficácia de dois diferentes protocolos de controle químico do biofilme supragengival durante o tratamento periodontal não-cirúrgico e na fase de manutenção em indivíduos com periodontite acompanhados por 12 meses após o tratamento.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Cálculo da amostra

O tamanho ideal de amostra para garantir uma potência adequada neste estudo clínico aleatorizado foi calculado considerando uma diferença de pelo menos 0,8 mm entre os grupos para a média na redução da PS em sítios com PS \geq 5mm no início do estudo. Considerando-se um desvio padrão de 0,85 mm (obtido da base de dados dos estudos realizados na Universidade Univeritas UNG), foi determinado que 34 indivíduos por grupo seriam necessários para proporcionar um poder de 90% com um alfa de 0,01. Considerando a possibilidade de desistência dos participantes na avaliação longitudinal em torno de 15%, determinou-se que 40 participantes deveriam ser incluídos em cada grupo de tratamento, totalizando a inclusão de 80 participantes neste estudo clínico.

3.2 Seleção ou recrutamento dos participantes do estudo

Foram selecionados participantes do gênero masculino ou feminino que procuraram voluntariamente tratamento periodontal nas clínicas de Odontologia da Universidade Univeritas UNG. Todos os participantes apresentavam boa saúde geral e o diagnóstico de periodontite crônica de acordo com a classificação da Academia Americana de Periodontia (AAP, ARMITAGE, 1999; PAPAPANOU et al., 2018). O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Univeritas UNG (CAAE: 44177015.9.0000.5506, ANEXO A). A seleção dos participantes foi realizada por uma examinadora previamente treinada e calibrada (3.6.1 Calibração do examinador).

3.3 Critérios de elegibilidade

3.3.1 Critérios de Inclusão

Os participantes atenderam aos seguintes critérios de inclusão:

- Idade entre 30-70 anos.
- Disponibilidade para participar durante o período do estudo.

- Diagnóstico de periodontite crônica moderada, segundo os seguintes critérios: pelo menos 4 sítios com PS e nível clínico de inserção (NCI) ≥ 5 mm, localizados em diferentes dentes e sítios não contíguos, e ao menos de 30% dos sítios com SS (ARMITAGE, 1999).
- Indivíduos em bom estado geral de saúde.

3.3.2 Critérios de Exclusão

Foram excluídos os participantes que apresentaram os seguintes critérios:

- Alguma patologia oral ou doença crônica.
- Histórico de alergia aos produtos testados.
- Uso contínuo de anticonvulsivantes, anti-histamínicos, antidepressivos, sedativos, tranquilizantes, anti-inflamatórios ou analgésicos no prazo de um mês antes do início do estudo ou programado para começar a ingestão de tais medicamentos durante o curso do estudo.
- Uso prolongado de antibióticos ou antissépticos bucais durante os três meses anteriores à participação nesse estudo.
- Gestantes ou lactantes.
- Fumantes e ex-fumantes há pelo menos 5 anos (LANG & TONETTI, 2003).

3.4 Obtenção do consentimento

Todos os participantes foram informados sobre os objetivos do estudo, seus riscos e benefícios, incluindo os tipos de medições clínicas, terapias e caráter longitudinal do estudo. Os indivíduos que concordaram em participar do estudo assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. As explicações sobre o estudo foram transmitidas pessoalmente aos participantes por um pesquisador diretamente envolvido no estudo. Todas as atividades do estudo foram realizadas de acordo com as diretrizes e normas do Conselho Nacional de Saúde (Resolução nº 466/2012).

3.5 Delineamento experimental

Foi realizado um estudo clínico aleatorizado, cego no Centro de Estudos Clínicos da Universidade Univeritas UNG (Guarulhos, SP, Brasil). O desenho experimental do estudo está apresentado na Figura 1. O protocolo do estudo foi elaborado seguindo o SPIRIT (*Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Studies*; CHAN et al., 2013).

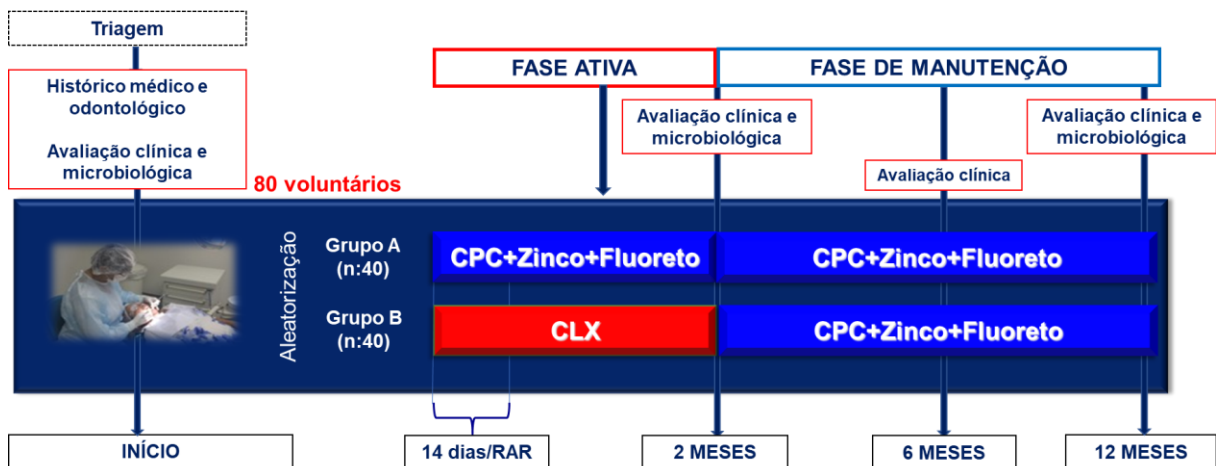


Figura 1. Desenho experimental do estudo.

CPC: Cloreto de Cetilpiridínio; CLX: Clorexidina; RAR: Raspagem e Alisamento Radicular.

No início do estudo, após a triagem e diagnóstico de periodontite, os participantes selecionados foram submetidos à anamnese, responderam um questionário de saúde (ANEXO B) e foi realizada uma avaliação de tecidos orais moles e duros (ANEXO C) e um exame clínico periodontal (ver item 3.6 - Avaliação clínica) por uma examinadora treinada e calibrada (ver item 3.6.1 Calibração do examinador). Além disso, todos os participantes receberam uma instrução de higiene oral (IHO), raspagem supragengival por meio de ultra-som (Cavitron® Select™ Ultrason Scaler, Denstply, New York, EUA) e curetas (Millenium, GOLGRAN Indústria e Comércio de Instrumentos Odontológicos Ltda. São Caetano do Sul, SP). Posteriormente, todos os participantes foram aleatoriamente alocados em um dos seguintes grupos terapêuticos:

- Grupo A: uso de um enxaguatório contendo 0,075% de CPC, 0,28% de Lactato de Zinco e 0,05% de Fluoreto de Sódio (sem álcool) durante 2 meses (Fase

ativa), e o mesmo enxaguatório até completar 12 meses pós-tratamento (Fase de manutenção).

- Grupo B: uso de um enxaguatório contendo 0,12% de CLX (sem álcool) durante 2 meses (Fase ativa), e de um enxaguatório contendo 0,075% de CPC, 0,28% de Lactato de Zinco e 0,05% de Fluoreto de Sódio (sem álcool) até completar 12 meses pós-tratamento (Fase de manutenção).

A administração dos enxaguatórios começou imediatamente após a primeira sessão de RAR. Em conjunto, todos os participantes receberam uma escova de dentes Colgate 360° (Colgate Palmolive Co, SP, Brasil) e um creme dental Colgate Total® (Colgate Total; Colgate Palmolive Co, SP, Brasil). A Colgate-Palmolive (São Paulo, Brasil) preparou e/ou forneceu todos os produtos utilizados no estudo (enxaguatórios, cremes dentais e escovas) e os colocou em tubos e/ou frascos rotulados e codificados para cada produto. No Centro de Estudos Clínicos, a coordenadora do estudo recebeu os produtos e os colocou em sacos plásticos indistinguíveis numerados de 1 a 80, de acordo com a lista de aleatorização. Este processo foi realizado para garantir o sigilo de alocação (“*allocation concealment*”). A lista de aleatorização foi elaborada por um pesquisador não envolvido nas atividades clínicas do estudo. Foi realizada uma aleatorização simples utilizando o software SPSS versão 24. Toda a equipe clínica do estudo estava cega quanto à alocação de produtos. O cegamento foi aberto só após a análise de dados.

A prescrição dos enxaguatórios foi realizada utilizando 20 mL de cada solução, por 1 minuto, 2 vezes dia, 30 minutos após a escovação pelo período de acordo com cada grupo de tratamento. A orientação foi dada para todos os participantes em todos os grupos. Do mesmo modo, a orientação de escovação foi realizada 2 vezes ao dia (pela manhã e à noite) durante um minuto. Pela característica de “cego” do estudo, nenhum participante ou pesquisador envolvido (examinadora, periodontistas encarregados do tratamento e estatístico) tinha conhecimento sobre os produtos recebidos pelos participantes (CLX/CPC). Aos 2 meses pós-terapia, todos os participantes retornaram ao Centro de Estudos Clínicos da Universidade Univeritas UNG, as mensurações clínicas e a coleta do biofilme subgengival foram repetidas e receberam um novo kit de enxaguantes bucais de acordo com o grupo a que foi alocado. A avaliação clínica foi repetida aos 2, 6 e 12

meses, e a avaliação microbiológica aos 2 e 12 meses pós-terapia. Todos os participantes receberam manutenção periodontal aos 2, 6 e 12 meses pós-terapia, incluindo reforço da IHO e profilaxia com ultrassom e curetas. Nesses tempos operatórios foi preenchido um “Formulário de visita pós-tratamento” (ANEXO D) preparado especificamente para o estudo. Os pacientes retornaram a cada 2 meses ao Centro de Estudos Clínicos para receber mais produtos (enxaguante bucal, creme e escova dental).

3.6 Avaliação clínica

No início do estudo, uma avaliação de tecidos orais moles e duros foi realizada em todos os participantes do estudo por uma única examinadora, incluindo avaliação da mucosa palatina mole e dura, tecido gengival, mucosa bucal, tecido mucoso, língua, área sublingual e submandibular, glândulas salivares, áreas tonsilar e faríngea (ANEXO C).

Além disso, uma avaliação clínica periodontal foi realizada pela mesma examinadora treinada e calibrada. As mensurações clínicas foram realizadas em seis sítios por dente (mesio-vestibular, vestibular, disto-vestibular, mesio-palatino/lingual, palatino/lingual, disto-palatino/lingual), em todos os dentes presentes na boca (exceto terceiros molares) utilizando-se uma sonda periodontal milimetrada Carolina do Norte (PCPUNC-BR 15 HuFriedy do Brasil, Rio de Janeiro, RJ, Brasil).

Os seguintes parâmetros clínicos periodontais foram avaliados:

- Índice de Placa – (SILNESS & LOE, 1964): Foi avaliado o acúmulo de placa supragengival de acordo com os seguintes escores: 0= sem placa; 1= acúmulo de placa aderindo à margem gengival livre e área adjacente do dente. A placa foi identificada in situ ao passar a sonda na superfície do dente; 2= acúmulo moderado de placa supragengival dentro do sulco gengival ou bolsa periodontal, ou o acúmulo de placa pode ser vista a olho nu; e 3= abundância do acúmulo de placa dentro do sulco gengival ou bolsa periodontal e/ou na margem dentária e gengival.

- Índice gengival (LOE & SILNESS, 1963): Os escores de avaliação foram os seguintes: 0 = ausência de inflamação; 1 = inflamação leve - ligeira mudança de cor e mudança na textura; 2 = inflamação moderada - vidrado

moderado, vermelhidão, edema e hipertrofia; e 3 = Inflamação grave - vermelhidão e hipertrofia acentuadas. Tendência para sangramento espontâneo.

- PS: distância, em mm, entre a margem gengival livre e a porção mais apical sondável do sulco/bolsa periodontal.
- NCI: distância, em mm, entre a junção cimento-esmalte e a porção mais apical sondável do sulco/bolsa periodontal.
- SS: presença (escore 1) ou ausência (escore 0) de sangramento, após 20 segundos da sondagem com a sonda periodontal milimetrada.

Todas as avaliações clínicas foram realizadas no início do estudo e repetidas aos 2, 6 e 12 meses pós-terapia.

3.6.1 Calibração do examinador

O exame clínico periodontal foi realizado no início do estudo, por uma examinadora treinada e calibrada para conseguir a máxima reprodutibilidade nas medições realizadas e com o objetivo de realizar o diagnóstico do indivíduo e conhecer as condições clínicas periodontais durante o período de manutenção periodontal. A metodologia utilizada para a calibração foi a preconizada por Araujo et al. (2003) em que avaliam o erro padrão da medida (e.p.m.) e o erro médio percentual (e.m.p.) para os parâmetros clínicos periodontais contínuos (PS e NCI). O nível de concordância intra-examinador encontrado foi superior a 92% (Teste Kappa).

3.7 Procedimentos terapêuticos

3.7.1 Adequação do meio bucal e RAR

Após a avaliação clínica inicial, todos os indivíduos foram submetidos a sessões de adequação do meio bucal que incluíram uma IHO, raspagem supragengival por meio de ultra-som (Cavitron® Select™ Ultrason Scaler, Denstply, New York, EUA) e curetas (Millenium, GOLGRAN Indústria e Comércio de Instrumentos Odontológicos Ltda. São Caetano do Sul, SP), remoção de fatores de retenção de biofilme supragengival, desgaste e polimento de restaurações em

excesso, selamento provisório de lesões cáries cavitadas, ajuste oclusal, curativos endodônticos e exodontias. Durante as sessões de IHO, todos os indivíduos foram orientados a utilizar um tipo de escova de dentes (Colgate 360° - Colgate Palmolive Co, SP, Brasil) e um creme dental (Colgate Total®; Colgate Palmolive Co, SP, Brasil) fornecidos no estudo. Em seguida, os indivíduos receberam tratamento periodontal subgingival através da RAR com curetas Gracey números 5/6, 7/8, 11/12 e 13/14 (Millenium, GOLGRAN Indústria e Comércio de Instrumentos Odontológicos Ltda. São Caetano do Sul, SP) sob anestesia local. A RAR foi realizada por duas periodontistas treinadas. Essas pesquisadoras não estavam envolvidas nos exames clínicos e nem tiveram conhecimento do grupo em que cada participante foi alocado. A RAR foi realizada de 4 a 6 sessões de aproximadamente 1 hora, distribuídas em um período de 14 dias. Ao final de cada sessão, a efetividade da RAR foi avaliada por cada periodontista e o desfecho clínico utilizado foi: "lisura da superfície radicular".

3.7.2 Controle mecânico e químico do biofilme dental supragengival

Todos os indivíduos foram instruídos a escovar os dentes durante 1 minuto, duas vezes por dia (de manhã e à noite) com o creme dental fornecido no estudo. Os indivíduos também foram instruídos a realizar o bochecho com seu respectivo produto duas vezes por dia (manhã e noite), usando 20 mL do produto durante 1 minuto, 30 minutos após a escovação dos dentes. O uso dos bochechos começou junto com o início da terapia periodontal mecânica (RAR) e continuou por 2 meses, e depois, até os 12 meses pós-terapia com os produtos designados ao grupo ao qual cada participante foi alocado. Os participantes foram instruídos a usarem apenas os produtos de tratamento entregues durante o período de estudo e adquirir os elementos de higiene oral interproximal (fio dental, escovas interproximais, etc.) de acordo com a necessidade de cada caso clínico. A cada 2 meses, todos os participantes retornaram ao Centro de Estudos Clínicos da Universidade Univeritas UNG com os frascos de bochecho e tubos de creme dental vazios, além das escovas dentais, e receberam novos produtos para o período seguinte.

3.8 Avaliação da adesão aos grupos de tratamento e possíveis efeitos adversos

As duas odontologistas treinadas e encarregadas da RAR foram as designadas para ensinar os métodos de higiene oral associados ao uso dos produtos em cada grupo de estudo e acompanhar a adesão aos grupos de tratamento e apresentação de possíveis efeitos adversos associados ao uso dos produtos durante o período da RAR (14 dias). Logo, a examinadora monitorou a adesão aos protocolos de tratamento, através de contato telefônico, a utilização dos produtos e apresentação de efeitos adversos até a finalização do período do estudo. A cada 2 meses, junto com a entrega de novos produtos de higiene oral (enxaguatórios, cremes dentais e escova), os participantes foram consultados da apresentação de possíveis efeitos adversos e foi verificada a adesão aos grupos de tratamento com a apresentação dos frascos de bochechos, tubos de creme e escovas dentais. Todas as possíveis alterações foram registradas pela examinadora no questionário de efeitos adversos e na ficha clínica de cada participante.

3.9 Análise Microbiológica

As quantidades e frequências bacterianas no biofilme subgengival foram avaliadas por meio do *Checkerboard DNA-DNA hybridization*. Amostras de biofilme subgengival foram coletadas no início do estudo e em 2 e 12 meses pós-terapia.

3.9.1 Seleção dos sítios-teste e coleta do biofilme subgengival

Foram selecionados seis sítios por indivíduo, distribuídos uniformemente de acordo com a PS inicial nas seguintes categorias (3 sítios por categoria): saudáveis (PS \leq 3mm e ausência de SS), doentes (PS \geq 4mm). Estes sítios estavam localizados em faces dentais interproximais não-contíguas, e preferencialmente distribuídos entre os quatro quadrantes. Sítios localizados em dentes com próteses mal adaptadas, lesão de cárie extensa e/ou lesão endo-periodontal não foram utilizados.

Os sítios selecionados foram isolados com roletes de algodão e receberam a remoção do biofilme supragengival e secagem com jato de ar. A coleta das amostras de biofilme subgengival foi realizada com curetas Gracey do tipo *minifive* 11-12 esterilizadas, posicionadas na porção mais apical dos sítios e

removidas em um único golpe no sentido ápico-coronal. As amostras foram imediatamente depositadas em tubos plásticos individuais contendo 150µL de solução tampão TE (10 mM Tris-HCL (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, EUA), 1 mM EDTA (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, SP, Brasil), pH 7,6, e a estas foram adicionados 100µL de NaOH (Labsynth) a 0,5M para que o DNA bacteriano permanecesse viável até o processamento final das amostras. Esses tubos plásticos serão previamente identificados com o código do indivíduo, tempo experimental e sítio, e após a coleta foram armazenados sob refrigeração a -20°C.

3.9.2 Cepas bacterianas e condições de crescimento

A lista das 40 cepas bacterianas utilizadas neste estudo para o preparo das sondas de DNA está apresentada na Tabela 1. Todas as cepas foram adquiridas liofilizadas da ATCC (American Type Culture Collection, Rockville, MD, EUA) ou do *Forsyth Institute* (Boston, MA, EUA). O conteúdo liofilizado foi reidratado em caldo para crescimento de 14 *Mycoplasma* (Difco Laboratories, Detroit, MI, EUA) e cultivado em ágar-triptose de soja (Difco) contendo 5% de sangue desfibrinado de ovelha (BBL, Baltimore Biological Laboratories, Cockeysville, MD, EUA) a 35°C sob condição de anaerobiose (80% N₂, 10%CO₂, 10% H₂). Algumas bactérias foram cultivadas em meios de cultura enriquecidos de forma a suprir suas necessidades nutricionais. *T. forsythia*, por exemplo, foi cultivada em ágar-triptose de soja com 5% de sangue desfibrinado de ovelha e 10 µg/mL de ácido Nacetil murâmico (NAM) (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, EUA); enquanto *P. gingivalis* cresceu em um meio similar, suplementado com 5% de sangue desfibrinado de ovelha, 0,3 µg/mL de menadiona (Sigma) e 5 µg/mL de hemina (Sigma). As espécies *T. denticola* e *Treponema socranskii* foram cultivados em caldo para crescimento de Mycoplasma suplementado com 1 mg/mL de glicose (Sigma), 400 µg/mL de niacinamida (Sigma), 150 µg/mL de espermina tetraidroclorídrica (Sigma), 20 µg/mL de isobutirato de sódio (ICN, Costa Mesa, CA, EUA), 1 mg/mL de L-cisteína (Sigma), 5 µg/mL de tiamina pirofosfato (Sigma) e 0,5% de soro bovino (Laborclin, São José dos Pinhais, PR, Brasil).

3.9.3 Isolamento do DNA e preparo das sondas

As cepas bacterianas foram cultivadas anaerobicamente na superfície de ágar-sangue, com exceção das 2 espécies de espiroquetas, que foram cultivadas em caldo, por 3 a 7 dias. As colônias foram raspadas e depositadas em tubos plásticos para microcentrífuga de 1,5 mL contendo 1 mL de solução TE (pH 7,6). As células foram lavadas 2 vezes por centrifugação na solução-tampão de TE a 3.500xg por 10 minutos. Em seguida, as cepas gram-negativas foram novamente suspensas e lisadas com SDS (dodecilsulfato de sódio, $C_{12}H_{25}NaO_4S$, Labsynth) a 10% e proteinase K (Sigma) em uma concentração de 20 mg/mL. As cepas de bactérias gram-positivas foram lisadas em 150 μ L de uma mistura enzimática contendo 15 mg/mL de lisozima (Sigma) e 5 mg/mL de acromopeptidase (Sigma) em solução tampão TE (pH 8,0). O DNA foi isolado e purificado como descrito por Smith et al. (1989). As sondas genômicas foram preparadas para cada uma das 40 espécies pela marcação de 1 μ g do DNA bacteriano com digoxigenina, por meio do *random primer digoxigenin labeling kit* (Roche Diagnostics, Indianápolis, IN, EUA), de acordo com o método descrito por Feinberg & Vogelstein (1983). As espécies avaliadas foram selecionadas segundo suas associações com diferentes tipos de doenças ou saúde periodontal (Socransky & Haffajee, 1994).

Tabela 1. Relação das cepas bacterianas empregadas para a confecção das sondas de DNA. As espécies estão agrupadas por complexos bacterianos (SOCRANSKY et al., 1998; SOCRANSKY e HAFFAJEE, 2002).

Espécies	Cepas	Espécies	Cepas
Complexo Azul		Complexo Laranja (cont.)	
<i>Actinomyces gerencseriae</i>	23860 ^a	<i>Fusobacterium nucleatum</i> ssp <i>nucleatum</i>	25586 ^a
<i>Actinomyces israelii</i>	12102 ^a	<i>Fusobacterium nucleatum</i> ssp <i>polymorphum</i>	10953 ^a
<i>Actinomyces naeslundii</i> I	12104 ^a	<i>Fusobacterium nucleatum</i> ssp <i>vincentii</i>	49256 ^a
<i>Actinomyces oris</i>	43146 ^a	<i>Fusobacterium periodonticum</i>	33693 ^a
Complexo Roxo		<i>Parvimonas micra</i>	33270 ^a
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	17929 ^a	<i>Prevotella intermédia</i>	25611 ^a
<i>Veillonella parvula</i>	10790 ^a	<i>Prevotella nigrescens</i>	33563 ^a
Complexo Amarelo		<i>Streptococcus constellatus</i>	27823 ^a
<i>Streptococcus gordonii</i>	10558 ^a	Complexo Vermelho	
<i>Streptococcus intermedius</i>	27335 ^a	<i>Tannerella forsythia</i>	43037 ^a
<i>Streptococcus mitis</i>	49456 ^a	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	33277 ^a
<i>Streptococcus oralis</i>	35037 ^a	<i>Treponema denticola</i>	B1 ^b
<i>Streptococcus sanguinis</i>	10556 ^a	Outras Espécies	
Complexo Verde		<i>Eubacterium saburreum</i>	33271 ^a
<i>Aggregatibacter</i>	43718 ^a	<i>Gemella morbillorum</i>	27824 ^a
<i>actinomycetemcomitans</i> a + b	29523 ^a	<i>Leptotrichia buccalis</i>	14201 ^a
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	33624 ^a	<i>Neisseria mucosa</i>	19696 ^a
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	33596 ^a	<i>Prevotella melaninogenica</i>	25845 ^a
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	33612 ^a	<i>Propionibacterium acnes</i> I + II	11827 ^a
<i>Eikenella corrodens</i>	23834 ^a		11828 ^a
Complexo Laranja		<i>Selenomonas noxia</i>	43541 ^a
<i>Campylobacter gracilis</i>	33236 ^a	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397 ^a
<i>Campylobacter rectus</i>	33238 ^a	<i>Treponema socranskii</i>	S1 ^b
<i>Campylobacter showae</i>	51146 ^a		
<i>Eubacterium nodatum</i>	33099 ^a		

^a ATCC (American Type Culture Collection); ^b Forsyth Institute

3.9.4 Checkerboard DNA-DNA hybridization

As suspensões contidas nos tubos plásticos foram fervidas em banho-maria por 10 minutos e, em seguida, neutralizadas pela adição de 0,8 ml de acetato de amônia a 5M. Cada suspensão de biofilme dental contendo o DNA livre foi depositada em uma das canaletas do *Minislot* 30 (Immunitics, Cambridge, MA, EUA – Figura 2) e transferida para a membrana de *nylon* (15 x 15 cm) com carga positiva

(Amersham Biosciences UK Limited, Buckinghamshire, Inglaterra). As duas últimas das 30 canaletas do *Minislot* foram ocupadas por controles contendo uma mistura das espécies de microrganismos investigados pelas sondas, nas concentrações correspondentes a 10^5 e 10^6 células, ou seja, 1 ng e 10 ng de DNA de cada espécie, respectivamente (Socransky et al., 1994; Haffajee et al., 1997). A membrana foi removida do *Minislot* 30 e o DNA nela concentrado foi fixado por aquecimento em forno a 120°C por 20 min. A membrana foi pré-hibridizada a 42°C , por 1 hora, em uma solução contendo 50% formamida (Vetec Química Fina Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), 1% caseína (Vetec), 5 x solução salina citratada (SSC) (1 x SSC= 150mM NaCl (Vetec), 15M de citrato de sódio (J.T.Baker, Edo. de Méx., México), pH 7,0, 25mM de fosfato de sódio (Na_2HPO_4 , Labsynth) pH 6,5 e 0,5 mg/mL de RNA de levedura (Sigma).

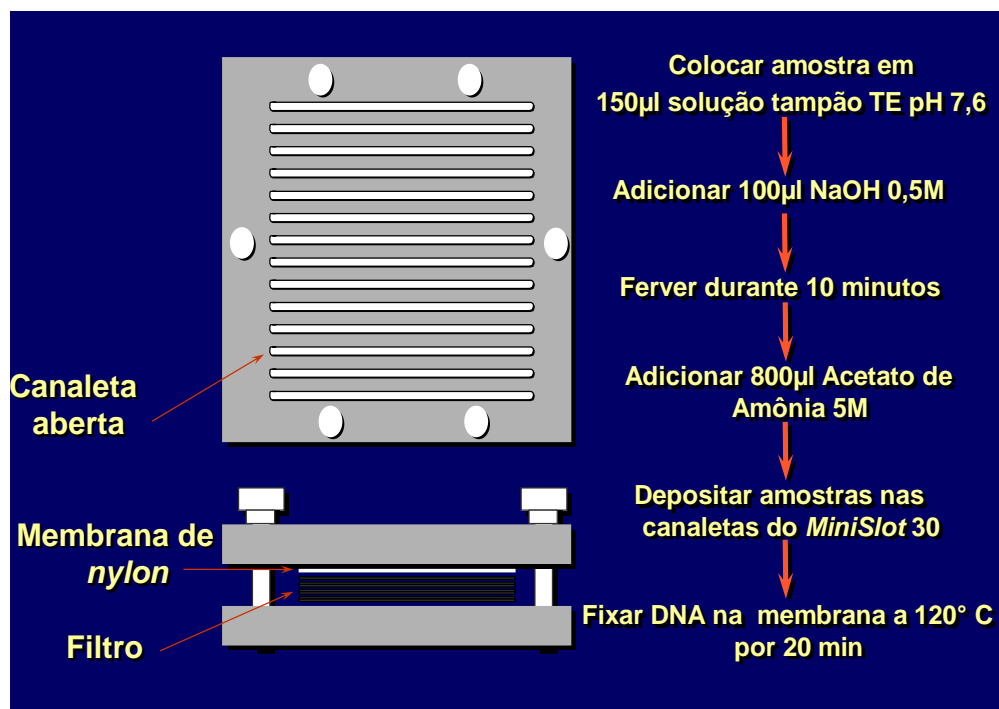


Figura 2. Representação gráfica do Minislot 30 (Immunelect, Cambridge, MA, EUA) e resumo da preparação e colocação das amostras na membrana de nylon (técnica *Checkerboard DNA-DNA hybridization*).

Em seguida, a membrana foi posicionada no *Miniblotter* 45 (Immunelectrics, Cambridge, MA, EUA – Figura 3) com as linhas contendo o DNA das amostras e dos controles posicionadas perpendicularmente às canaletas do aparato. Em cada canaleta do *Miniblotter* 45 foi adicionada uma sonda de DNA, diluída a aproximadamente 20 ng/mL, em 130 µL de solução de hibridização composta de 45% formamida, 5 x SSC, 20mM de Na₂HPO₄ (pH 6,5), 0,2 mg/ml de RNA de levedura, 10% de sulfato de dextrano (Amersham) e 1% caseína. A hibridização ocorreu dentro de um período mínimo de 20 horas, a 42°C.

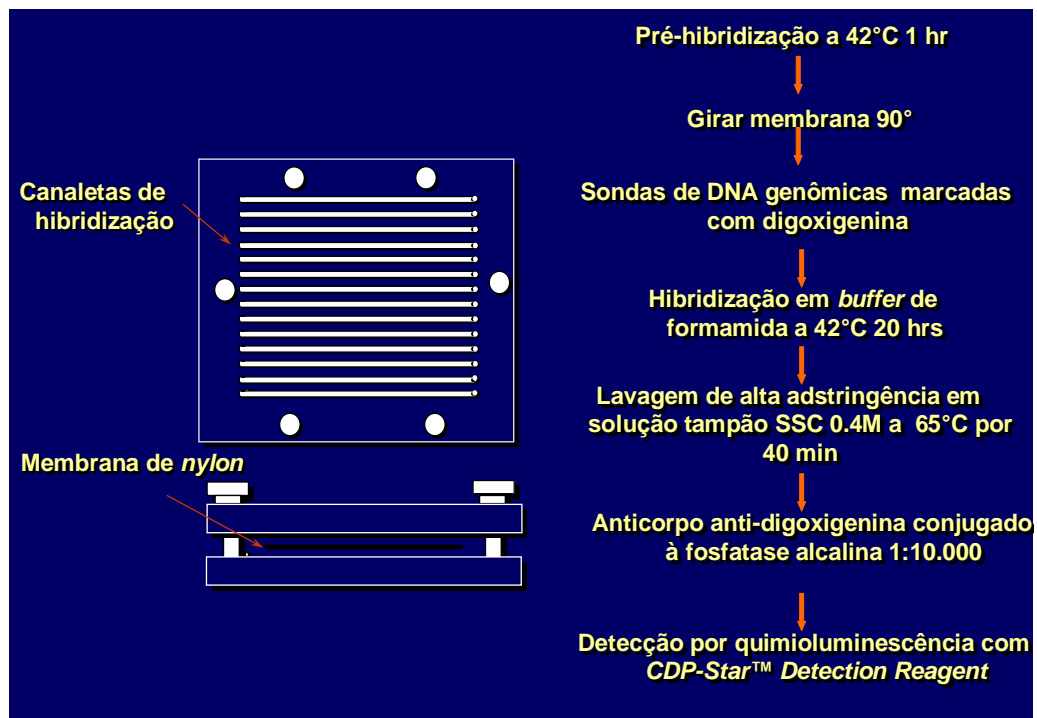


Figura 3. Representação gráfica do *Miniblotter* 45 (Immunelectrics, Cambridge, MA, EUA) e resumo das etapas de hibridização e detecção das espécies bacterianas presentes nas amostras (técnica *checkerboard DNA-DNA hybridization*).

3.9.5 Detecção das espécies

Após o período de hibridização, a membrana foi removida do *Miniblotter* 45 (Immunelectrics), lavada por 40 minutos a 65°C numa solução adstringente composta por 1% de SDS, 1mM de EDTA e 20mM de Na₂HPO₄, a fim de remover sondas que não hibridizaram completamente. Em seguida, a membrana foi imersa por 1 hora em uma solução contendo 1% de ácido maleico (C₄H₄O₄, Vetec), 3M NaCl, 0,2M NaOH (Labsynth), 0,3% Tween 20 (Vetec), 0,5% caseína, pH 8,0, e, logo após, por 30

minutos, na mesma solução contendo o anticorpo anti-digoxigenina conjugado à fosfatase alcalina (Roche) em uma concentração de 1:10.000. A membrana foi, então, lavada 2 vezes, por 20 minutos, em uma solução de 0,1M de ácido maleico, 3M de NaCl, 0,2M de NaOH, 0,3% de Tween 20, pH 8,0, e 1 vez, por 5 minutos, em uma solução de 0,1M de Tris HCl, 0,1M de NaCl, pH 9,5.

Para a detecção dos sinais a membrana foi incubada por 45 minutos a 37°C em uma solução detectora contendo substrato para fosfatase alcalina, CDP-Star™ *Detection Reagent* (Amersham). Em seguida, a membrana foi colocada em um cassete, Chassi Radiográfico 30 x 40 cm (Konex, São Paulo, SP, Brasil), sob um filme radiográfico 18 x 24 cm (Agfa Gevaert, NV, Bélgica) por aproximadamente 40 minutos. O filme foi posteriormente revelado (Figura 4) manualmente pelo método convencional temperatura-tempo, de acordo com orientações do fabricante. As soluções utilizadas foram da marca Kodak (Kodak Brasileira Com. e Ind. Ltda, São José dos Campos, SP, Brasil), mantidas a temperatura de 20°C.

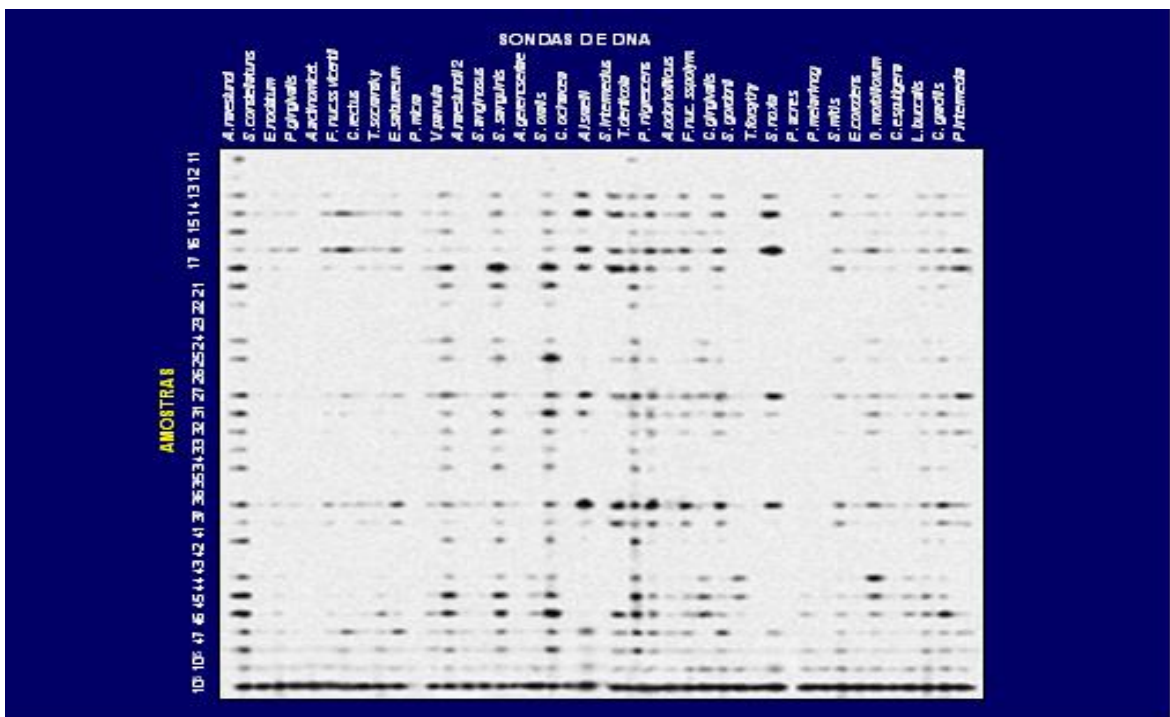


Figura 4. Representação esquemática do padrão de hibridização entre as bactérias presentes nas amostras e as sondas de DNA (técnica *checkerboard DNA-DNA hybridization*).

A leitura dos filmes radiográficos foi realizada por um único examinador treinado, calibrado e cego para as terapias empregadas. A leitura foi realizada duas vezes, em dias diferentes, para conferência de resultados. Cada sinal produzido por

uma determinada sonda na amostra de biofilme foi comparado, em intensidade, ao sinal produzido pela mesma sonda nas duas linhas de controles contendo 10^5 e 10^6 bactérias. Desta forma, o número 0 foi registrado quando não houve detecção do sinal; 1 equivaleu a um sinal menos intenso que o controle de 10^5 células; 2 equivaleu a 10^5 células; 3 entre 10^5 e 10^6 células; 4 a aproximadamente 10^6 células e 5 mais de 10^6 células (Tabela 2). Estes registros foram utilizados para determinar os níveis das diferentes espécies investigadas nas diferentes amostras avaliadas.

Tabela 2. Índice utilizado para a determinação dos níveis dos microrganismos nas amostras de biofilme.

ÍNDICE	NÍVEL DO MICRORGANISMO	CONTAGEM
0	Não detectado	0
1	Menos de 10^5 células	10.000
2	Aproximadamente 10^5 células	100.000
3	Entre 10^5 e 10^6 células	500.000
4	Aproximadamente 10^6 células	1.000.000
5	Mais de 10^6 células	10.000.000

3.10 Análise estatística

A variável de avaliação primária do estudo foi a diferença entre os grupos de tratamento na média da redução da PS nos sítios com PS inicial ≥ 5 mm. Todos os parâmetros clínicos avaliados foram calculados para cada participante e a média entre os participantes em cada grupo separadamente. No início do estudo, os dois grupos de tratamento foram comparados quanto à média da idade, frequência de gênero dos participantes, frequência de efeitos adversos, média da PS, NCI, e porcentagem de sítios com acúmulo de placa, sangramento gengival e SS. O teste Qui-quadrado foi usado para comparar as diferenças na frequência de gênero no início do estudo. O teste Exato de Fisher foi usado para comparar as diferenças na frequência de participantes que reportaram efeitos adversos. O Qui-quadrado também foi utilizado para comparar as diferenças na frequência de participantes que atingiram a meta clínica do tratamento periodontal (isto é: ≤ 4 sítios com PS ≥ 5 mm [FERES et al., 2012; BORGES et al., 2017]). As diferenças significativas entre os grupos quanto à média da idade, PS, NCI, índice de placa, índice gengival, e percentual de sítios com acúmulo de placa, sangramento gengival e SS nos diferentes tempos de estudo foram avaliadas através do teste ANOVA e o testes de comparações múltiplas de Tukey. Diferenças significativas ao longo do tempo dentro

de cada grupo para cada um dos parâmetros clínicos foram avaliadas pelos testes ANOVA para amostras repetidas e ajuste de Bonferroni. As diferenças estatisticamente significativas entre os três diferentes grupos de estudo com relação à média da redução da PS (variável primária) e ganho de IC nos sítios inicialmente com PS ≥ 5 mm entre o início do estudo e aos 2, 6 e 12 meses pós-terapia foram avaliadas através do teste ANCOVA. Os níveis médios ($\times 10^5$) e a proporção de cada espécie foram computadas para cada sítio, depois em cada indivíduo e, em seguida, em um mesmo grupo terapêutico em cada tempo experimental. Os dados (níveis e proporções) foram analisados pelo teste Mann-Whitney para detectar possíveis diferenças significantes entre os grupos terapêuticos em cada tempo. Diferenças nos níveis médios ou nas proporções de microrganismos dentro de cada grupo, entre os tempos, foram avaliadas pelos testes Friedman e Dunn (comparações múltiplas). A significância estatística foi estabelecida em 5%.

4 RESULTADOS

4.1 Participantes, efeitos adversos e adesão aos grupos de tratamento

O estudo foi realizado entre setembro de 2015 e março de 2020. O fluxograma dos pacientes está apresentado na figura 5. Seiscentos e vinte seis indivíduos foram triados dos quais 80 atenderam aos critérios de elegibilidade e foram randomizados para um dos dois grupos. Durante a fase ativa do tratamento três do grupo B não concluíram o tratamento. Na fase de manutenção aos dois e seis meses, 73 e 71 participantes concluíram a avaliação, respectivamente. Aos 12 meses, 68 participantes foram avaliados, no entanto, 71 foram analisados para garantir o poder estatístico.

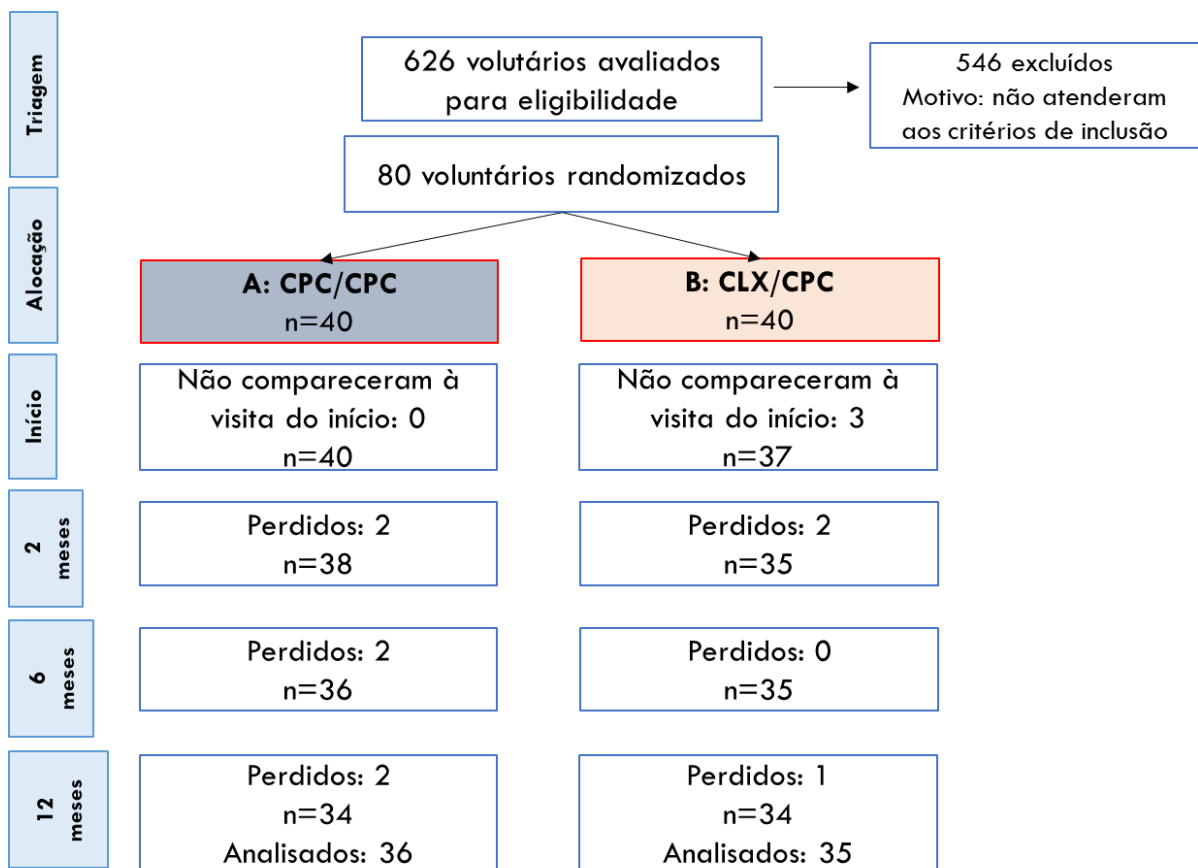


Figura 5. Fluxograma do delineamento do estudo.

CPC: Cloreto de Cetilpiridínio; CLX: Clorexidina.

A Tabela 3 apresenta as características demográficas e a frequência de efeitos adversos reportada por cada grupo. No início do estudo não houve diferença entre os grupos quando a idade e gênero dos participantes foram consideradas. Alguns efeitos adversos foram relatados, mas não houve diferença significativa entre os grupos nos períodos avaliados (Teste Exato de Fisher, $p > 0,05$). Os efeitos adversos mais comuns foram a sensação de ardência durante ou após o bochecho (48 relatos), seguido de formação extra de cálculo (33 relatos), alteração no paladar (16 relatos), pigmentação extrínseca (14 relatos) e alteração no tecido mole (10 relatos). O número de pacientes que reportaram algum efeito adverso foi 17 participantes no grupo A e 19 no grupo B. Até os 6 meses, apenas três participantes trouxeram frascos ainda com o enxaguatório restante, devido a alteração da rotina ou não conseguir aguardar 30 minutos entre a escovação e o bochecho, destes dois foram do grupo A e um do grupo B.

Tabela 3. Características demográficas e frequência de efeitos adversos (percentual) no início do estudo e aos dois, seis e 12 meses pós-tratamento.

Variável	Tempo	Grupos de tratamento		Valor p
		A CPC/CPC (n=36)	B CLX/CPC (n=35)	
Gênero (número de homens/mulheres)	Início	6 / 30	9 / 26	Qui- quadrado 0,496
Idade (média em anos)	Início	48,33 ± 10,81	46,91 ± 9,21	ANOVA 0,810
Número de participantes reportando (%)				Exato de Fischer
<i>Pigmentação extrínseca nos dentes</i>	Fase ativa	0 (0)	2 (5,70)	0,629
	2 meses	1 (2,80)	4 (11,40)	0,170
	6 meses	1 (2,80)	2 (5,70)	0,489
	12 meses	1 (2,80)	3 (8,60)	0,296
<i>Sensação de ardência</i>	Fase ativa	4 (11,10)	4 (11,40)	0,629
	2 meses	9 (25,0)	10 (28,60)	0,471
	6 meses	7 (19,40)	7 (20,0)	0,594
	12 meses	4 (11,10)	3 (8,60)	0,516
<i>Formação extra de cálculo supragengival</i>	Fase ativa	0 (0)	0 (0)	-
	2 meses	6 (16,70)	5 (14,30)	0,746
	6 meses	7 (19,40)	6 (17,10)	0,523
	12 meses	6 (16,70)	3 (8,60)	0,253
<i>Alteração do paladar</i>	Fase ativa	1 (2,80)	1 (2,90)	0,746
	2 meses	3 (8,30)	7 (20,0)	0,142
	6 meses	0 (0)	1 (2,90)	0,493
	12 meses	1 (2,80)	2 (5,70)	0,489
<i>Alterações no tecido mole</i>	Fase ativa	2 (5,60)	1 (2,90)	0,511
	2 meses	(0)	0 (0)	-
	6 meses	3 (8,30)	2 (5,70)	0,514
	12 meses	1 (2,80)	1 (2,90)	0,746

CPC: Cloreto de Cetilpiridínio; CLX: Clorexidina; %: Percentual.

4.2 Resultados clínicos

A média para boca toda dos parâmetros clínicos PS e NCI, assim como o percentual de acúmulo de placa, sangramento gengival e SS nos dois grupos de tratamento estão apresentadas na Tabela 4. Ambos os protocolos promoveram uma melhora dos parâmetros clínicos avaliados ao longo do tempo ($p < 0,05$). No grupo B, o sangramento gengival apresentou menor frequência de sangramento aos dois meses quando comparado com o início e aos seis e 12 meses pós-tratamento ($p < 0,05$). Na comparação entre os grupos, o grupo B obteve os menores percentuais de acúmulo de placa, sangramento gengival e sangramento a sondagem aos dois meses após o tratamento ($p < 0,05$).

A Tabela 5 apresenta os resultados para a média na redução da PS nos sítios com PS inicial ≥ 5 mm (variável primária), e o ganho de IC nos mesmos sítios entre o início do estudo e dois meses, seis meses e 12 meses pós-tratamento nos dois diferentes grupos. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p > 0,05$).

A Tabela 6 apresenta o número e o percentual de sítios residuais no início e após tratamento, com PS ≥ 4 , ≥ 5 e ≥ 6 mm nos dois grupos de tratamento e em todos os períodos de avaliação, bem como as médias das reduções desses sítios aos dois, seis e 12 meses pós-tratamento. Ambos os grupos terapêuticos mostraram uma redução significativa no percentual de sítios nas categorias de PS ≥ 4 mm, ≥ 5 mm e ≥ 6 mm ao longo do estudo ($p < 0,05$). Para a categoria de PS ≥ 4 mm, o grupo B apresentou menor número e percentual de bolsas residuais dois meses após a terapia.

Tabela 4. Média dos parâmetros clínicos \pm DP boca toda no início do estudo e aos dois, seis e 12 meses pós-tratamento.

Variável	Tempo	Grupos de tratamento		Valor p ANOVA
		A CPC/CPC (n=36)	B CLX/CPC (n=35)	
PS (mm)	Início	3,14 \pm 0,31 a	3,11 \pm 0,27 a	0,602
	2 meses	2,54 \pm 0,3 b	2,46 \pm 0,22 b	0,165
	6 meses	2,56 \pm 0,28 b	2,49 \pm 0,21 b	0,292
	12 meses	2,55 \pm 0,33 b	2,52 \pm 0,32 b	0,694
	Δ 0-2 meses	0,6 \pm 0,23	0,65 \pm 0,28	0,409
	Δ 0-6 meses	0,59 \pm 0,24	0,61 \pm 0,28	0,667
	Δ 0-12 meses	0,59 \pm 0,27	0,59 \pm 0,29	0,934
NCI (mm)	Início	3,44 \pm 0,61 a	3,43 \pm 0,55 a	0,946
	2 meses	2,97 \pm 0,65 b	2,91 \pm 0,59 b	0,673
	6 meses	2,96 \pm 0,66 b	2,94 \pm 0,56 b	0,865
	12 meses	2,96 \pm 0,69 b	2,96 \pm 0,62 b	0,981
	Δ 0-2 meses	0,47 \pm 0,22	0,52 \pm 0,26	0,351
	Δ 0-6 meses	0,48 \pm 0,28	0,5 \pm 0,22	0,795
	Δ 0-12 meses	0,49 \pm 0,3	0,47 \pm 0,28	0,853
<i>% de sítios com:</i>				
Acúmulo de placa	Início	58,83 \pm 16,04 a	55,71 \pm 18,3 a	0,447
	2 meses	24,46 \pm 11,5 b	17,43 \pm 12,29 b	0,015
	6 meses	23,77 \pm 12,83 b	23,16 \pm 10,29 b	0,824
	12 meses	22,2 \pm 10,71 b	21,69 \pm 13,45 b	0,860
	Δ 0-2 meses	34,37 \pm 12,62	38,28 \pm 16,23	0,260
	Δ 0-6 meses	35,05 \pm 13,19	32,55 \pm 16,28	0,479
	Δ 0-12 meses	36,62 \pm 15,45	34,01 \pm 16,33	0,492
Sangramento gengival	Início	31,95 \pm 22,71 a	30,35 \pm 17 a	0,738
	2 meses	16,77 \pm 12,62 b	9,12 \pm 8,3 b	0,004
	6 meses	14,64 \pm 10,62 b	14,53 \pm 11,77 ac	0,966
	12 meses	18,4 \pm 15,5 b	16,97 \pm 12,6 ac	0,671
	Δ 0-2 meses	15,18 \pm 21,28	21,24 \pm 14,18	0,164
	Δ 0-6 meses	17,31 \pm 19,82	15,82 \pm 13,68	0,715
	Δ 0-12 meses	13,55 \pm 18,02	13,38 \pm 15,19	0,966
Sangramento à sondagem	Início	24,50 \pm 8 a	23,78 \pm 8,37 a	0,711
	2 meses	10,04 \pm 7 b	5,53 \pm 4,46 b	0,002
	6 meses	9,55 \pm 5,48 b	7,37 \pm 4,53 b	0,072
	12 meses	10,06 \pm 8,49 b	8,80 \pm 7,01 b	0,501
	Δ 0-2 meses	14,46 \pm 8,22	18,25 \pm 8,77	0,065
	Δ 0-6 meses	14,95 \pm 7,30	16,41 \pm 7,40	0,406
	Δ 0-12 meses	14,45 \pm 8,20	14,98 \pm 9,17	0,798

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ao longo do tempo (ANOVA para amostras repetidas e ajuste de Bonferroni). DP: Desvio padrão; CPC: Cloreto de Cetilpiridínio; CLX: Clorexidina; PS: Profundidade de sondagem; NCI: Nível clínico de inserção; %: percentual.

Tabela 5. Média da redução da PS e ganho de IC (\pm DP) em sítios com PS inicial ≥ 5 mm no início, entre o início e dois, seis e 12 meses pós-terapia.

PS inicial	Variável	Tempo	Grupos de tratamento		Valor p ANCOVA
			A CPC/CPC (n=36)	B CLX/CPC (n=35)	
≥ 5 mm	Redução PS	Início	5,38 \pm 0,38	5,43 \pm 0,59	0,667
		Δ 0-2 meses	1,81 \pm 0,46	1,98 \pm 0,43	0,110
		Δ 0-6 meses	1,79 \pm 0,43	1,98 \pm 0,45	0,069
		Δ 0-12 meses	1,8 \pm 0,55	1,89 \pm 0,66	0,505
	Ganho IC	Início	5,46 \pm 0,67	5,51 \pm 0,76	0,752
		Δ 0-2 meses	1,47 \pm 0,51	1,63 \pm 0,5	0,201
		Δ 0-6 meses	1,51 \pm 0,58	1,67 \pm 0,53	0,216
Δ 0-12 meses		1,57 \pm 0,6	1,59 \pm 0,7	0,880	

PS: Profundidade de Sondagem; IC: Inserção Clínica; DP: Desvio padrão; CPC: Cloreto de Cetilpiridínio; CLX: Clorexidina.

Tabela 6. Média do número (percentual) \pm DP dos sítios com PS ≥ 4 mm, ≥ 5 mm e ≥ 6 mm, bem como a média nas reduções (\pm DP) do número de sítios aos dois, seis e 12 meses pós-tratamento.

Categoria de PS	Tempo	Grupos de tratamento		Valor p ANOVA
		A CPC/CPC (n=36)	B CLX/CPC (n=35)	
≥ 4 mm	Início	42,97 \pm 14,63 a (30,41 \pm 9,5)	38,71 \pm 11,41 a (28,89 \pm 9,67)	0,177
	2 meses	15,31 \pm 15,19 b (10,79 \pm 9,94)	9,63 \pm 6,15 b (7,23 \pm 4,76)	0,044
	6 meses	14,83 \pm 11,9 b (10,59 \pm 8,32)	11,2 \pm 7,71 b (8,32 \pm 5,8)	0,133
	12 meses	15,61 \pm 12,82 b (11,09 \pm 9)	12,6 \pm 13,26 b (9,51 \pm 10,02)	0,334
	Δ 0-2 meses	27,67 \pm 10,57	29,09 \pm 11,04	0,582
	Δ 0-6 meses	28,14 \pm 12,46	27,51 \pm 10,94	0,823
	Δ 0-12 meses	27,36 \pm 12,01	26,11 \pm 12,77	0,673
≥ 5 mm	Início	23,78 \pm 12,39 a (16,94 \pm 8,54)	20,43 \pm 9,08 a (15,31 \pm 7,51)	0,199
	2 meses	5,89 \pm 8,50 b (4,19 \pm 5,83)	3,40 \pm 3,73 b (2,6 \pm 2,91)	0,117
	6 meses	6,08 \pm 7,98 b (4,41 \pm 5,77)	3,77 \pm 4,47 b (2,82 \pm 3,28)	0,138
	12 meses	6,33 \pm 8,65 b (4,54 \pm 6,27)	4,97 \pm 8,51 b (3,75 \pm 6,37)	0,506
	Δ 0-2 meses	17,89 \pm 8,4	17,03 \pm 8,52	0,670
	Δ 0-6 meses	17,69 \pm 10,51	16,66 \pm 9,11	0,658
	Δ 0-12 meses	17,44 \pm 10,16	15,46 \pm 8,99	0,386
≥ 6 mm	Início	7,11 \pm 7,34 a (5,19 \pm 5,35)	5,69 \pm 5,11 a (4,26 \pm 3,86)	0,347
	2 meses	1,92 \pm 4,64 b (1,42 \pm 3,39)	0,94 \pm 1,95 b (0,73 \pm 1,61)	0,255
	6 meses	1,81 \pm 3,75 b (1,37 \pm 2,83)	0,97 \pm 2,04 b (0,76 \pm 1,62)	0,250
	12 meses	1,92 \pm 5,07 b (1,43 \pm 3,89)	1,37 \pm 3,56 b (1,07 \pm 2,77)	0,603
	Δ 0-2 meses	5,19 \pm 5,26	4,74 \pm 4,75	0,706
	Δ 0-6 meses	5,31 \pm 5,33	4,71 \pm 4,77	0,624
	Δ 0-12 meses	5,19 \pm 5,48	4,31 \pm 4,56	0,465

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ao longo do tempo (ANOVA para amostras repetidas com ajuste de bonferroni). DP: Desvio padrão; PS: Profundidade de Sondagem; CPC: Cloreto de Cetilpiridínio; CLX: Clorexidina.

A Tabela 7 apresenta o número e percentual de participantes que atingiram a meta clínica para o tratamento periodontal, ou seja, ≤ 4 sítios com PS ≥ 5 mm, aos dois, seis e 12 meses pós-tratamento, proposta por Feres et al. (2012) e Borges et al. (2017). O número de participantes que atingiram a meta clínica para o tratamento foi estatisticamente maior no grupo que bochechou clorexidina na fase ativa (grupo B) após 12 meses da terapia ($p=0,009$). A diferença não foi estatisticamente significativa nos demais períodos ($p>0,05$). Não houve diferença para o número de participantes que nunca atingiram a meta clínica, para os que entraram após dois meses, aos que saíram após esse período e para aqueles que sempre estiveram na meta clínica ($p>0,05$).

Tabela 7. Número e percentual de participantes que atingiram a meta clínica para o tratamento periodontal (isto é, ≤ 4 sítios com PS ≥ 5 mm) aos dois, seis e 12 meses pós-tratamento.

Meta clínica	Tempo	Grupos de tratamento		Valor p <i>Qui-quadrado</i>
		A CPC/CPC (n=36)	B CLX/CPC (n=35)	
Sim	2 meses	20 (57,1%)	24 (70,6%)	0,507*
	6 meses	20 (55,6%)	26 (74,3%)	0,099**
	12 meses	17 (47,2%)	27 (77,1%)	0,009***
Nunca atingiu	2 - 12 meses	12 (33,3%)	5 (14,3%)	0,065
Entrou após 2 meses	2 - 12 meses	4 (11,1%)	4 (11,4%)	
Saiu	2 - 12 meses	7 (19,4%)	3 (8,6%)	
Sempre	2 - 12 meses	13 (36,1%)	23 (65,7%)	

*, **, *** Comparação entre as frequências de indivíduos quem alcançaram a meta clínica, respectivamente aos dois, seis e 12 meses pós-terapia, e entre os dois grupos. Valor em negrito indica diferença estatisticamente significativa.

PS: Profundidade de Sondagem; CPC: Cloreto de Cetilpiridínio; CLX: Clorexidina.

4.3 Resultados Microbiológicos

A Figura 6 mostra os níveis das contagens médias ($\times 10^5$) de 40 espécies em amostras de biofilme subgengival para ambos os grupos no início, aos dois e 12 meses pós-tratamento. Quando comparado os níveis das contagens bacterianas entre os grupos, poucas diferenças foram encontradas. No início do estudo, a espécie *Capnocytophaga sputigena* (verde) foi maior no grupo A, enquanto *Gemella morbillorum* (outros) foi maior no grupo B ($p < 0,05$). Na avaliação de 2 meses, apenas a espécie *Campylobacter gracilis* (laranja) foi maior no grupo B ($p < 0,05$). Já aos 12 meses pós-tratamento, as espécies *Actinomyces gerencseriae* (Azul), *Streptococcus oralis* (verde) estavam aumentadas no grupo A ($p < 0,05$). No grupo B, as espécies *Veillonella parvula* (roxo), *C. gracilis* (laranja) e *Treponema Socranskii* apresentaram maiores níveis em comparação ao grupo A ($p < 0,05$). Na avaliação ao longo do tempo está representada na figura 6, as diferenças entre o início e 12 meses após o tratamento. No grupo A, as espécies *Prevotella nigrescens*, *P. gingivalis* e *T. denticola* diminuíram após o tratamento ($p < 0,05$). No grupo B, as três espécies do complexo vermelho diminuíram após o tratamento, assim como *A. gerencseriae* e *S. oralis* ($p < 0,05$).

A Figura 7 mostra a proporção dos complexos microbianos em todos os sítios no início do estudo, aos dois e 12 meses após o tratamento. O grupo A, após dois meses de tratamento, apresentou aumento na proporção dos complexos amarelo e verde e diminuição do complexo vermelho ($p < 0,05$). No entanto, quando comparado com a avaliação de 12 meses após o tratamento, os complexos amarelo e verde possuem valores semelhantes ao início ($p > 0,05$). Apesar do aumento da proporção do complexo vermelho entre 2 e 12 meses, esse valor foi menor que antes do tratamento ($p < 0,05$). No grupo B, o complexo vermelho diminuiu após cada avaliação ($p < 0,05$), já o complexo laranja diminuiu na avaliação de dois meses ($p < 0,05$), mas voltou a aumentar após 12 meses, semelhante aos valores encontrados no início do estudo ($p > 0,05$). A proporção do grupo *Actinomyces* aumentou na avaliação de dois meses e diminuiu aos 12 meses, no entanto, apesar do aumento, esse valor foi estatisticamente menor quando comparado ao baseline ($p < 0,05$). Na comparação entre os grupos, eles apresentaram perfis semelhantes no baseline, mas após dois meses houve diferença para todos os complexos, exceto o verde e o laranja ($p < 0,05$). Esse resultado não foi mantido na avaliação de 12

meses, apenas as bactérias agrupadas em “outras” (cinza) apresentou maior proporção no grupo B ($p < 0,05$).

A Figura 8 mostra a proporção dos complexos microbianos nos sítios saudáveis ($PS \leq 3$ mm) no início do estudo, aos dois e 12 meses após o tratamento. No grupo A, não houve alteração na proporção do complexo vermelho entre o início e a avaliação de dois meses, no entanto, este complexo aumentou em 12 meses ($p < 0,05$). Já o grupo B apresentou algumas diferenças ao longo do tempo. O grupo *Actinomyces* diminuiu na avaliação de dois meses e voltou a aumentar em 12 meses, com valores semelhantes ao início. Já a proporção do complexo vermelho diminuiu após dois meses e manteve o resultado após 12 meses. Em dois meses, quando as comparações entre os grupos foram realizadas, notou-se que a proporção do grupo *Actinomyces* foi maior no grupo A e o complexo amarelo foi maior no grupo B ($p < 0,05$). Os perfis microbianos dos sítios saudáveis foram semelhantes no baseline e 12 meses após o tratamento para todos os complexos ($p > 0,05$), exceto o complexo vermelho que foi maior no grupo A ($p < 0,05$).

A Figura 9 mostra a proporção dos complexos microbianos nos sítios doentes ($PS \geq 4$ mm) no início do estudo, aos dois e 12 meses após o tratamento. A proporção do complexo vermelho diminuiu após dois meses e manteve o resultado após 12 meses em ambos os grupos ($p < 0,05$). Quando comparado entre os grupos, não houve diferença estatística entre os grupos no início do estudo, no entanto o grupo B apresentou uma proporção numericamente maior do complexo vermelho. Na avaliação de dois meses, a proporção do grupo *Actinomyces* foi maior no grupo A ($p < 0,05$). Já na avaliação dos 12 meses, os perfis microbianos dos sítios doentes foram semelhantes ($p > 0,05$), mas os complexos laranja e vermelho foram numericamente menores no grupo B.

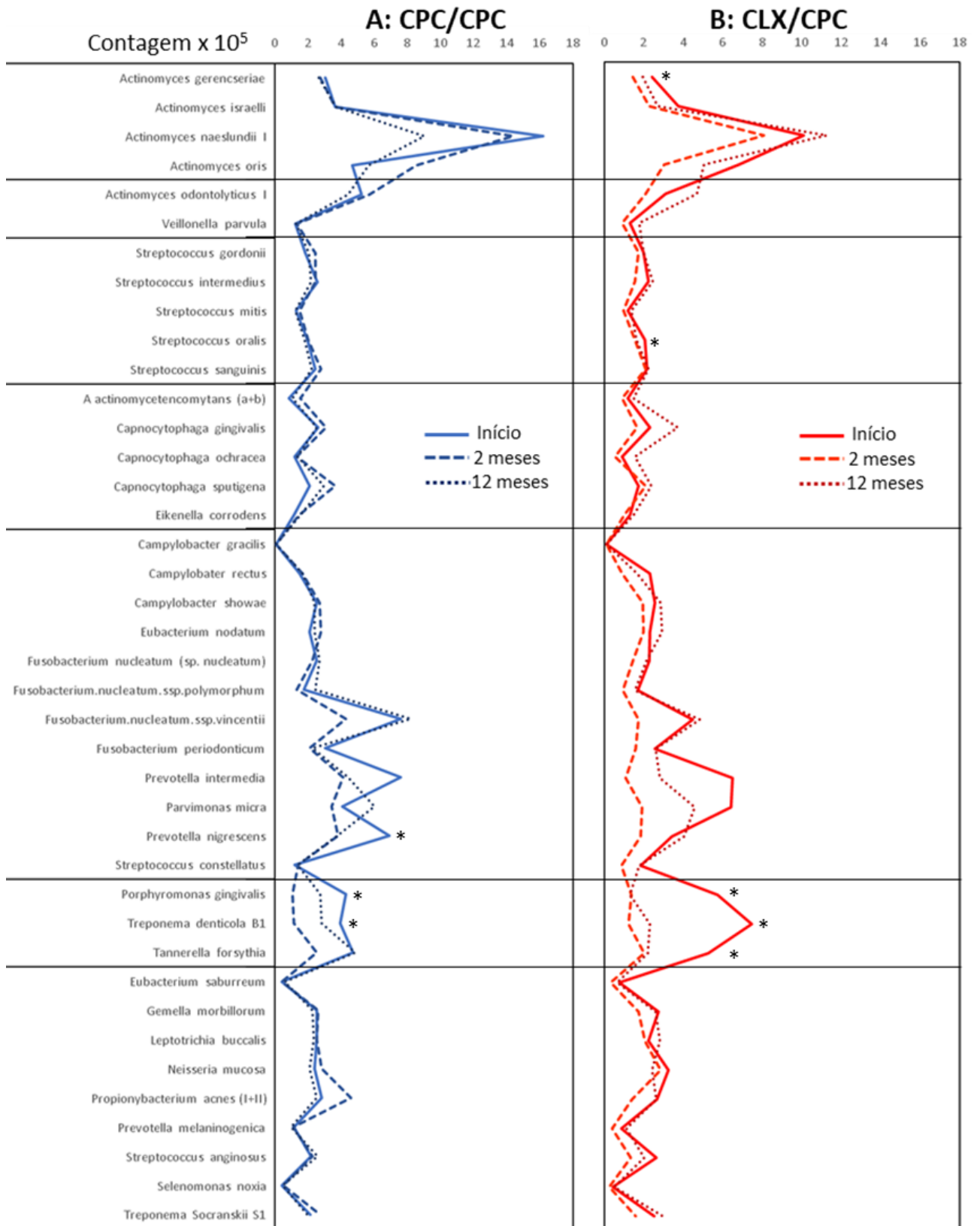


Figura 6. Níveis das contagens médias (x10⁵) de 40 espécies em amostras de biofilme subgingival para ambos os grupos no início, aos dois e 12 meses pós-tratamento. As espécies foram ordenadas e agrupadas de acordo com os complexos microbianos descritos por Socransky et al. (1998). * indica diferença entre início e 12 meses pelo teste de Friedman e Dunn. As diferenças entre os grupos foram determinadas usando o Teste U de Mann-Whitney ajustado para comparações múltiplas estão descritas na sessão Resultados. CPC: Cloreto de Cetilpiridínio; CLX: Clorexidina.

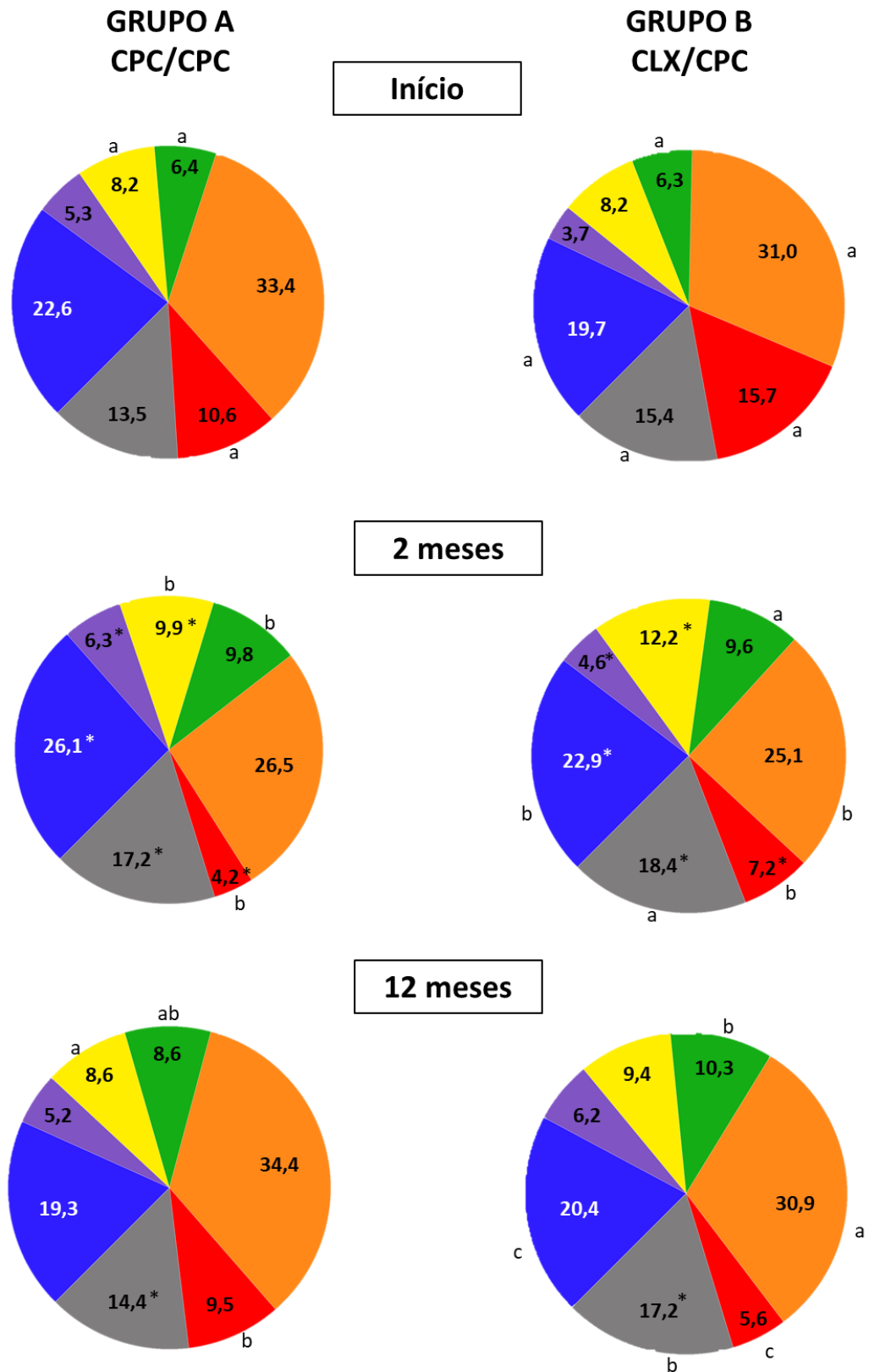


Figura 7. Média das proporções (%) dos complexos microbianos no início do estudo, dois e 12 meses pós-terapia nos dois grupos terapêuticos em todos os sítios.

As 40 espécies microbianas foram agrupadas de acordo com os complexos microbianos (Socransky & Haffajee, 2002). * indica diferença estatística entre os grupos pelo Teste U- Mann-Whitney, $p > 0.05$. Letras minúsculas distintas indicam diferença estatística entre os tempos pelos testes Friedman e Dunn. CPC: Cloreto de Cetilpiridínio; CLX: Clorexidina.

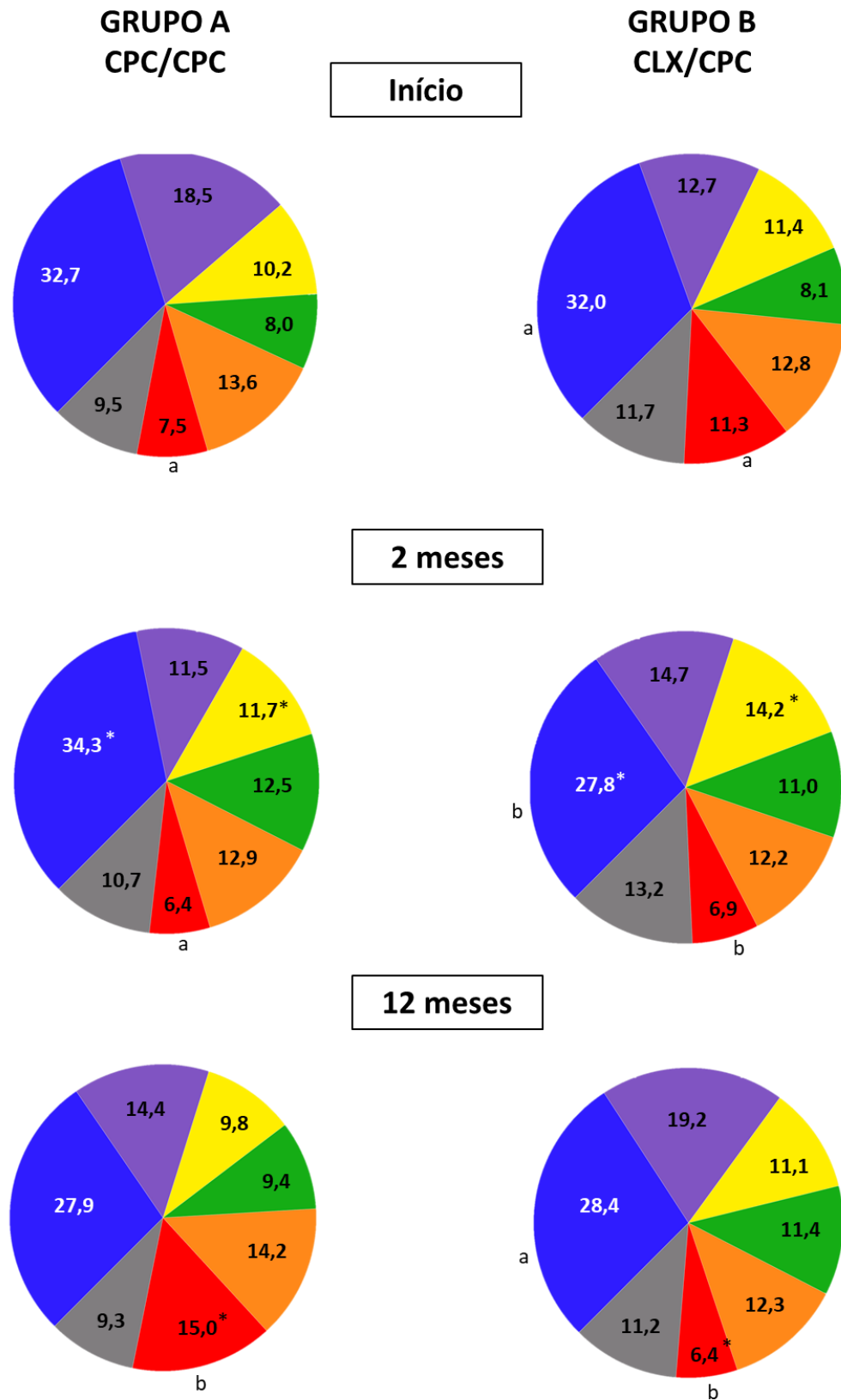


Figura 8. Média das proporções (%) dos complexos microbianos no início do estudo, dois 12 meses pós-terapia nos dois grupos terapêuticos nos sítios saudáveis ($PS \leq 3$ mm).

As 40 espécies microbianas foram agrupadas de acordo com os complexos microbianos (Socransky & Haffajee, 2002). * indica diferença estatística entre os grupos pelo Teste U- Mann-Whitney, $p > 0.05$. Letras minúsculas distintas indicam diferença estatística entre os tempos pelos testes Friedman e Dunn. CPC: Cloreto de Cetilpiridínio; CLX: Clorexidina.

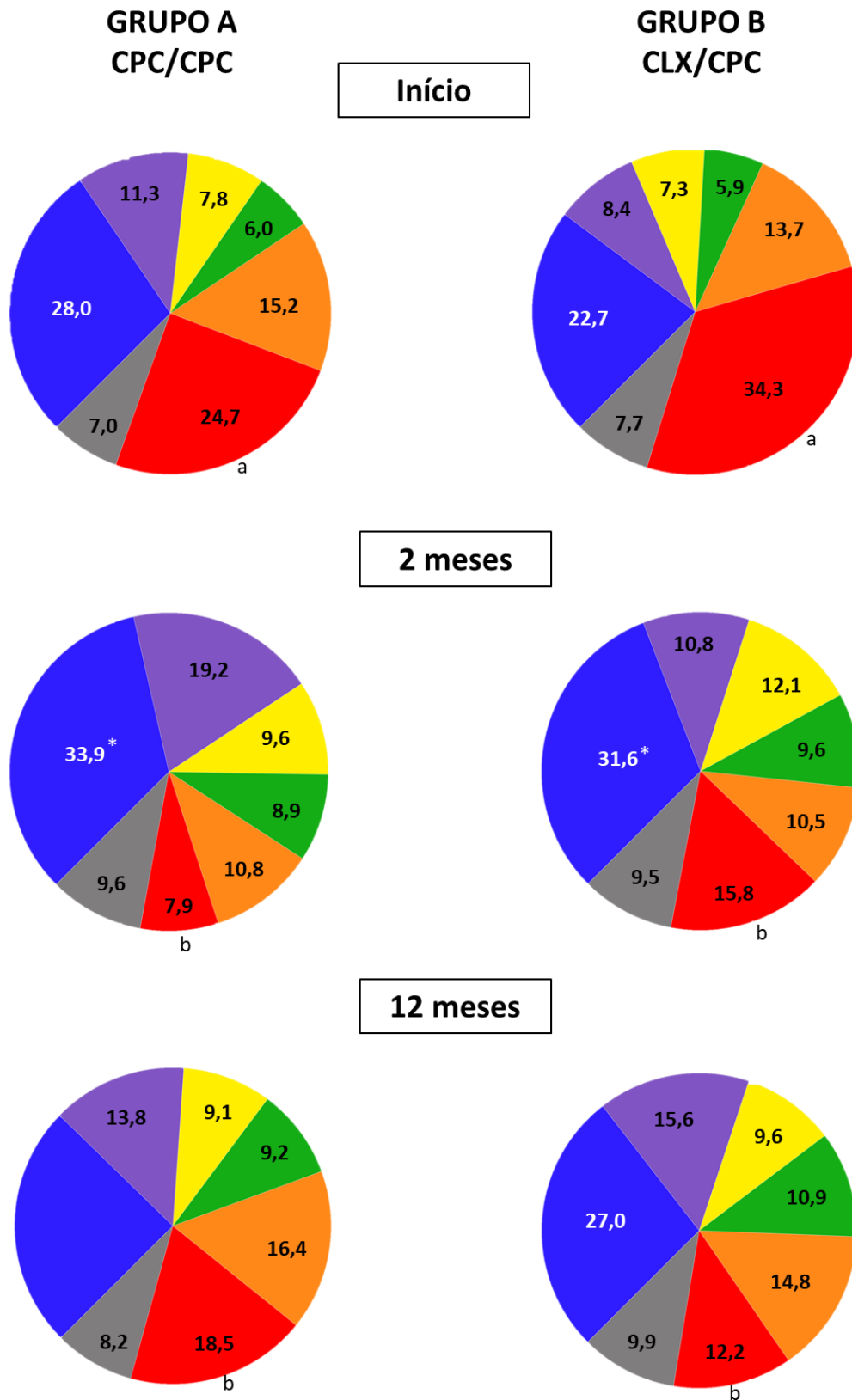


Figura 9. Média das proporções (%) dos complexos microbianos no início do estudo, dois 12 meses pós-terapia nos dois grupos terapêuticos nos sítios doentes (PS \geq 4 mm).

As 40 espécies microbianas foram agrupadas de acordo com os complexos microbianos (Socransky & Haffajee, 2002). * indica diferença estatística entre os grupos pelo Teste U- Mann-Whitney, $p > 0.05$. Letras minúsculas distintas indicam diferença estatística entre os tempos pelos testes Friedman e Dunn. CPC: Cloreto de Cetilpiridínio; CLX: Clorexidina.

5 DISCUSSÃO

Os dados desse estudo clínico randomizado mostraram que os dois protocolos de controle do biofilme supragengival foram capazes de melhorar os parâmetros clínicos avaliados e as proporções dos complexos microbianos. Apesar de não observada diferença estatística para a variável primária (redução de PS nos sítios com PS inicial ≥ 5 mm) em nenhum dos períodos avaliados, o grupo que bochechou clorexidina na fase ativa do tratamento mostrou maiores benefícios em alguns parâmetros. Os participantes do grupo CLX/CPC mostraram menor frequência para o acúmulo de biofilme, inflamação gengival e sangramento à sondagem do que o grupo CPC/CPC aos dois meses pós-terapia ($p < 0,05$). Além disso, a média e frequência de sítios residuais com PS ≥ 4 mm foi menor nesse grupo aos dois meses após o tratamento ($p < 0,05$). Um maior número de participantes do grupo CLX/CPC atingiu a meta clínica para tratamento (isto é, ≤ 4 sítios com PS ≥ 5 mm) aos 12 meses após a terapia e obteve redução progressiva da proporção de complexo vermelho em todos os sítios até 12 meses ($p < 0,05$).

Os benefícios clínicos e microbiológicos da clorexidina 0,12% já foram amplamente descritos na literatura (ADDY & DOLBY, 1976; SANZ et al., 1989; CARVALHO et al., 2004, 2005; FERES et al., 2009, 2012; TEITELBAUM et al., 2009; MESTNIK et al., 2010; SHETTY et al., 2013; SETHI et al., 2019). No presente estudo, é possível observar claramente o efeito desse agente no grupo que o utilizou. Aos dois meses após a terapia, o bochecho com clorexidina foi responsável por um menor acúmulo de biofilme, sangramento gengival e sangramento a sondagem. Apesar desse resultado não se repetir na avaliação de seis e 12 meses, a meta clínica para o tratamento e as características microbiológicas atingidas pós-terapia demonstram o efeito em longo prazo do uso inicial da clorexidina. No presente estudo, os participantes utilizaram a CLX por dois meses iniciado a partir do primeiro dia da RAR, semelhante ao descrito por Feres et al. (2009). Estes autores (FERES et al. 2009) avaliaram os efeitos clínicos e microbiológicos da RAR combinada com o controle mecânico ou controle químico do biofilme supragengival. Os resultados demonstraram que indivíduos no grupo usando CLX apresentaram alterações mais benéficas na composição do biofilme subgengival em relação aqueles que não utilizaram o enxaguatório. O grupo que fez o controle químico apresentou menores proporções dos complexos vermelho e laranja, bem como

maiores proporções de espécies bacterianas compatíveis com o hospedeiro (FERES et al. 2009).

Uma revisão que reuniu várias revisões sistemáticas sobre o controle químico do biofilme avaliou revisões sistemáticas sobre o efeito dos bochechos no controle de biofilme e manejo de gengivite, e sugerem que a CLX seja o enxaguatório de primeira escolha para situações clínicas especiais, restrito ao uso de curto prazo (até quatro semanas) a prazo moderado (mais que quatro semanas) (VAN DER WEIJEN et al., 2016). Além disso, Van der Weijen et al. (2016) reuniram evidências fortes que apoiam a eficácia do CPC, demonstrando um efeito benéfico moderado na redução e/ou manutenção de baixos escores de biofilme e gengivite. Até o momento, nenhum estudo avaliou os efeitos clínicos e microbiológicos do enxaguatório contendo 0,075% de CPC na fase ativa e/ou de manutenção do tratamento da periodontite. Um estudo *in vitro* recente (MIRANDA et al., 2020) avaliou a atividade antimicrobiana do CPC e da CLX sobre um biofilme subgengival multiespécie composto por 31 espécies bacterianas relacionadas à periodontite. Os autores encontraram uma redução de 60% da atividade metabólica do biofilme para ambos enxaguatórios e concluíram que o efeito antimicrobiano do CPC foi tão eficaz quanto a CLX (MIRANDA et al., 2020).

No presente estudo, nenhum parâmetro clínico de média de boca toda diferiu entre os grupos de avaliação aos 12 meses pós-terapia. Além disso, não houve diferença para a redução de PS nos sítios com PS inicial ≥ 5 mm (variável primária) em nenhum período avaliado. Poucos trabalhos relatam o uso do CPC durante o tratamento periodontal, mas todos eles avaliaram o CPC associado a clorexidina, com objetivo de potencializar o efeito do controle químico do biofilme (x). Durante a fase ativa do tratamento, García-Gargallo et al. (2017) avaliaram o uso de uma nova formulação do bochecho contendo 0,12% CLX e 0,05% de CPC iniciado imediatamente após a primeira sessão de raspagem e alisamento subgengival até quatro semanas após o tratamento. Esses autores observaram resultados favoráveis para a nova formulação proposta no estudo (GARCÍA-GARGALLO et al., 2017). No entanto, não é possível conhecer o efeito real do CPC nos parâmetros clínicos e microbiológicos para este estudo, porque em todos os protocolos o CPC estava associado a CLX. Outras investigações também avaliaram o CPC 0,05% associado a CLX 0,05% utilizado durante a fase de manutenção periodontal (SANTOS et al., 2004; QUIRYNEN et al., 2005; ESCRIBANO et al., 2010). Os três estudos

demonstraram que tanto o índice de placa quanto as contagens totais bacterianas, avaliadas por meio de cultura, foram mais reduzidos no grupo usando CPC+CLX em comparação ao grupo controle sem princípio ativo, sendo que no protocolo proposto por SANTOS et al. (2004) os enxaguatórios foram usados por 15 dias, para ESCRIBANO et al. (2010) por três dias e QUIRYNEN et al. (2005) recomendou o uso por 6 meses. Além disso, Quirynten et al. (2005) também compararam o grupo CPC+CLX com grupo que utilizou 0,2% CLX, e concluíram que os efeitos contra o biofilme foram semelhantes (QUIRYNEN et al., 2005).

Apesar de que neste estudo os dois princípios ativos não foram utilizados no mesmo enxaguatório, o grupo que utilizou a combinação de CLX por dois meses e no período entre dois meses e um ano utilizou o CPC obteve o maior número de participantes que atingiram a meta clínica (~77%) quando comparado ao grupo que utilizou apenas o CPC (~47%), na avaliação final pós-tratamento ($p < 0,05$). Somado a isso, no grupo CLX/CPC apresentou o menor número de participantes que deixaram a meta clínica entre as avaliações pós-tratamento e mais indivíduos que sempre à atingiram. Esse desfecho clínico é uma variável centrada no paciente que reflete a remissão ou o controle da doença, e pode ser uma ferramenta para avaliar a necessidade futura de tratamento periodontal quando individualizada para cada paciente (FERES et al., 2020).

Outro ponto que pode ser considerado para a avaliação da remissão ou controle da doença é o perfil microbiano encontrado após o tratamento. Este perfil microbiano é compatível com a saúde quando observa-se níveis e proporções mais baixos dos complexos laranja e vermelho, e o concomitante aumento das espécies relacionadas a saúde (LÖE et al., 1978; SOCRANSKY et al., 1998; SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2002, 2005; TELES; HAFFAJEE; SOCRANSKY, 2006). A partir de um estudo anterior, foi sugerido que o resultado do tratamento pode ser considerado instável quando o complexo vermelho representa mais de 10% das espécies bacterianas do tradicional painel *Checkerboard* (FERES; FIGUEIREDO; SOARES; FAVERI, 2015). Feres et al. (2020) avaliaram a proporção dos complexos microbianos do biofilme subgengival, por meio do *Checkerboard DNA-DNA hybridization*, de indivíduos que atingiram e não atingiram a meta clínica após o tratamento periodontal (SOCRANSKY et al., 1998). Os indivíduos que atingiram a meta clínica apresentaram um perfil microbiano compatível com a saúde, sendo que o complexo vermelho estava presente entre 4-6% do total de espécies bacterianas

avaliadas, e as proporções das espécies compatíveis com o hospedeiro, como *Actinomyces sp*, bem como *V. parvula* e *Actinomyces odontolyticus* reconhecidas como participantes do “complexo roxo”, mostram-se em altos níveis.

Em 2009, Feres et al. realizaram um estudo que comparou os efeitos clínicos e microbiológicos da RAR sozinha ou combinada com controle mecânico profissional ou químico do biofilme supragengival no tratamento da periodontite. Estes autores encontraram menores proporções do complexo vermelho no grupo que utilizou a CLX quando comparado aos outros grupos após dois meses (FERES et al., 2009). No início do estudo, o complexo vermelho representava 25,8% do perfil bacteriano. Aos dois meses, reduziu para 6,5%, mas na avaliação de seis meses, essa porcentagem teve um pequeno aumento numérico (8,8%), porém sem diferença estatística. No presente estudo, aos dois meses pós terapia, a proporção do complexo vermelho foi significativamente menor no grupo CLX/CPC. Ambos os protocolos foram capazes de alterar a proporção do complexo vermelho após o tratamento em todos os sítios. Porém, vale destacar que apenas no grupo CLX/CPC, a proporção do complexo vermelho continuou reduzindo após a avaliação de dois meses até 12 meses pós-tratamento periodontal. Assim, é possível supor que a combinação de enxaguatórios CLX/CPC foi capaz de causar uma mudança ecológica mais profunda no biofilme (CUGINI et al., 2000; SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2002; FERES; FIGUEIREDO; SOARES; FAVERI, 2015), provavelmente devido ao uso da clorexidina nos meses iniciais, e pelo CPC na fase de manutenção.

Considerando a instabilidade do perfil microbiano quando a proporção do complexo vermelho é superior a 10%, é importante discutir sobre este dado nos sítios saudáveis avaliados neste estudo em pauta. Foram selecionados para coleta sítios que apresentavam PS \leq 3 mm sem sangramento à sondagem. Ainda assim, para ambos os grupos, as proporções do complexo vermelho foram superiores a 10% antes do tratamento. Este fato remete ao conceito científico de que o tratamento deve abranger todos os locais da boca, e não apenas os sítios com PS aumentada (FERES; FIGUEIREDO; SOARES; FAVERI, 2015). De fato, neste estudo, como esperado, os sítios doentes apresentaram níveis mais elevados de patógenos periodontais do que os sítios saudáveis (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005; PÉREZ-CHAPARRO et al., 2018).

É sabido que a formação do biofilme subgengival é influenciada pelo biofilme supragengival (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2002). Sendo assim, a

utilização de controle químico associado ao tratamento mecânico na fase ativa da terapia periodontal pode ajudar na alteração ecológica em todas as superfícies orais que poderiam funcionar como reservatórios de patógenos periodontais, além de agir nas espécies bacterianas em estado planctônico (MAGER et al., 2003; MARSH, 2005; FAVERI et al., 2006a). Portanto, neste estudo, foi possível notar que o controle químico do biofilme supragengival adjunto ao controle mecânico foi capaz de potencializar e prolongar os efeitos benéficos da terapia mecânica periodontal.

A principal crítica ao uso contínuo de enxaguatórios bucais no tratamento periodontal é o possível desenvolvimento de efeitos adversos. Na presente avaliação, a frequência de efeitos adversos foi similar entre os grupos, sem diferença estatística entre eles. Os tipos de efeitos adversos apresentados nesta avaliação estão de acordo com os reportados na literatura, sendo os mais prevalentes: sensação de ardência, formação extra de cálculo, alteração no paladar e a pigmentação extrínseca dos dentes, língua, mucosas e restaurações, alterações no tecido mole (FLOTRA et al., 1971; CUMMING & LÖE, 1973; CIANCIO; MATHER; BUNNELL, 1975; LOBENE et al., 1979; CIANCIO, 1986; KENI; ARAS; CHITRE, 2012; SLOTS, 2012; VAN DER WEIJEN et al. 2016; JAMES et al., 2017). No entanto, os efeitos adversos associados ao uso desses enxaguatórios são dose-dependentes (FLOTRA et al., 1971; CUMMING & LÖE, 1973; JAMES et al., 2017). Contudo, a apresentação de efeitos adversos não teve influência na adesão dos indivíduos aos grupos de tratamento.

O principal ponto forte deste estudo é ser o primeiro ensaio clínico que avaliou a eficácia de dois diferentes protocolos de controle químico do biofilme supragengival realizado durante a fase ativa e fase de manutenção do tratamento periodontal em indivíduos com periodontite. Estes resultados possuem aplicabilidade clínica objetiva, pois podem beneficiar os pacientes por meio do aprimoramento dos cuidados diários pessoais. A não apresentação de um grupo controle que fizesse uso apenas de bochechos com solução placebo poderia ser detectada como uma possível limitação deste delineamento experimental. Porém, é necessário considerar que a literatura científica já oferece dados suficientes que demonstram o poder antimicrobiano de diversos princípios ativos encontrados em enxaguatórios bucais (ADDY & MORAN, 1983; MARSH, 1992; ALBANDAR; GJERMO; PREUS, 1994; EATON et al., 1997; ERNST; PROCKL; WILLERSHAUSEN, 1998; QUIRYNEN et al., 2001; HERRERA et al., 2003; HEITZ; HEITZ-MAYFIELD; LANG, 2004; SEKINO et

al., 2004; SANTOS et al., 2004; QUIRYNEN et al., 2005; WITT et al., 2006; HAPS et al., 2008; FERES et al., 2009; TEITELBAUM et al., 2009; ESCRIBANO et al., 2010; MESTNIK et al., 2010; GARCIA et al., 2011; COSTA et al., 2013; SHETTY et al., 2013; SREENIVASAN; HARASZTHY; ZAMBON, 2013; GARCÍA-GARGALLO et al., 2017; SETHI et al., 2019) e embasam a escolha dos protocolos terapêuticos testados neste estudo.

Apesar dos resultados promissores encontrados neste estudo, a realização de novas investigações poderá confirmar os dados aqui demonstrados. Além disso, outros princípios ativos também poderão ser testados em busca do melhor protocolo terapêutico a ser oferecido aos pacientes periodontais.

6 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo clínico randomizado mostraram que:

- Ambos os tratamentos levaram a uma melhora dos parâmetros clínicos aos 12 meses após o tratamento.
- O uso do bochecho com CLX nos primeiros dois meses proporciona ao paciente mais chance de atingir os melhores resultados clínicos e microbiológicos aos 12 meses após o tratamento.

REFERÊNCIAS

- Addy M, Dolby AE. The use of chlorhexidine mouthwash compared with a periodontal dressing following the gingivectomy procedure. *J Clin Periodontol.* 1976 Feb;3(1):59-65.^[SEP]
- Albandar JM, Gjermo P, Preus HR. Chlorhexidine use after two decades of over-the-counter availability. *J Periodontol.* 1994 Feb;65(2):109-12.
- Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999 Dec;4(1):1-6.
- Ashley FP, Skinner A, Jackson P, Woods A, Wilson RF. The effect of a 0.1% cetylpyridinium chloride mouthrinse on plaque and gingivitis in adult subjects. *Br Dent J.* 1984 Sep 22;157(6):191-6.
- Axelsson P, Nyström B, Lindhe J. The long-term effect of a plaque control program on tooth mortality, caries and periodontal disease in adults. Results after 30 years of maintenance. *J Clin Periodontol.* 2004;31(9):749-757. doi:10.1111/j.1600-051X.2004.00563.x
- Barnes GP, Roberts DW, Katz RV, Woolridge ED Jr. Effects of two cetylpyridinium chloride-containing mouthwashes on bacterial plaque. *J Periodontol.* 1976 Jul;47(7):419-22.
- Beiswanger BB, Mallat ME, Jackson RD, et al. Clinical effects of a 0.12% chlorhexidine rinse as an adjunct to scaling and root planing. *J Clin Dent.* 1992;3(2):33-38.
- Berchier CE, Slot DE, Van der Weijden GA. The efficacy of 0.12% chlorhexidine mouthrinse compared with 0.2% on plaque accumulation and periodontal parameters: a systematic review. *J Clin Periodontol* 2010;37:829–39
- Borges I, Faveri M, Figueiredo LC, Duarte PM, Retamal-Valdes B, Montenegro SCL, Feres M. Different antibiotic protocols in the treatment of severe chronic periodontitis: A 1-year randomized trial. *J Clin Periodontol.* 2017 Aug;44(8):822-832.
- Boyle P, Koechlin A, Autier P. Mouthwash use and the prevention of plaque, gingivitis and caries. *Oral Dis.* 2014;20 Suppl 1:1-68. doi:10.1111/odi.1218.
- Carvalho LH, D'Avila GB, Leão A, Haffajee AD, Socransky SS, Feres M. Scaling and root planing, systemic metronidazole and professional plaque removal in the treatment of chronic periodontitis in a Brazilian population. I. Clinical results. *J Clin Periodontol.* 2004 Dec;31(12):1070-6.
- Carvalho LH, D'Avila GB, Leão A, Gonçalves C, Haffajee AD, Socransky SS, Feres M. Scaling and root planing, systemic metronidazole and professional plaque removal in the treatment of chronic periodontitis in a Brazilian population II- Microbiological results. *J Clin Periodontol.* 2005 Apr;32(4):406-11.

Chan AW, Tetzlaff JM, Altman DG, Laupacis A, Gøtzsche PC, Krleža-Jerić K, Hróbjartsson A, Mann H, Dickersin K, Berlin JA, Doré CJ, Parulekar WR, Summerskill WS, Groves T, Schulz KF, Sox HC, Rockhold FW, Rennie D, Moher D. SPIRIT 2013 statement: defining standard protocol items for clinical trials. *Ann Intern Med.* 2013 Feb 5;158(3):200-7.

Charles CH, Cronin MJ, Conforti NJ, Dembling WZ, Petrone DM, McGuire JA. Anticalculus efficacy of an antiseptic mouthrinse containing zinc chloride. *J Am Dent Assoc* 2001;132(1):94–8.

Ciancio SC. Chemotherapeutic agents and periodontal therapy. Their impact on clinical practice. *J Periodontol.* 1986 Feb;57(2):108-11.

Ciancio SG, Mather ML, Bunnell HL. Clinical evaluation of a quaternary ammonium-containing mouthrinse. *J Periodontol.* 1975 Jul;46(7):397-401.

Costa X, Laguna E, Herrera D, Serrano J, Alonso B, Sanz M. Efficacy of a new mouth rinse formulation based on 0.07% cetylpyridinium chloride in the control of plaque and gingivitis: a 6-month randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2013 Nov;40(11):1007-15.

Cugini MA, Haffajee AD, Smith C, Kent RL Jr, Socransky SS. The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases: 12-month results. *J Clin Periodontol.* 2000 Jan;27(1):30-6.

Cumming BR, Løe H. Optimal dosage and method of delivering chlorhexidine solutions for the inhibition of dental plaque. *J Periodontal Res.* 1973;8(2):57-62.

da Costa LFNP, Amaral CDSF, Barbirato DDS, Leão ATT, Fogacci MF. Chlorhexidine mouthwash as an adjunct to mechanical therapy in chronic periodontitis: A meta-analysis. *J Am Dent Assoc.* 2017;148(5):308-318. doi:10.1016/j.adaj.2017.01.021.

Davies A. The mode of action of chlorhexidine. *J Periodontal Res Suppl.* 1973;12:68-75.

Eaton KA, Rimini FM, Zak E, Brookman DJ, Hopkins LM, Cannell PJ, Yates LG, Morrice CA, Lall BA, Newman HN. The effects of a 0.12% chlorhexidine-digluconate-containing mouthrinse versus a placebo on plaque and gingival inflammation over a 3-month period. A multicentre study carried out in general dental practices. *J Clin Periodontol.* 1997 Mar;24(3):189-97.

Eley BM. Antibacterial agents in the control of supragingival plaque - a review. *British Dental Journal* 1999;186(6):286-96.

Erovcic Ademovski S, Lingström P, Renvert S. The effect of different mouth rinse products on intra-oral halitosis. *Int J Dent Hyg.* 2016 May;14(2):117-23.

Ernst CP, Prockl K, Willershausen B. The effectiveness and side effects of 0.1% and 0.2% chlorhexidine mouthrinses: a clinical study. *Quintessence Int.* 1998 Jul;29(7):443-8.

Escribano M, Herrera D, Morante S, Teughels W, Quirynen M, Sanz M. Efficacy of a low-concentration chlorhexidine mouth rinse in non-compliant periodontitis patients attending a supportive periodontal care programme: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2010 Mar;37(3):266-75.

Faveri M, Feres M, Shibli JA, Hayacibara RF, Hayacibara MM, de Figueiredo LC. Microbiota of the dorsum of the tongue after plaque accumulation: an experimental study in humans. *J Periodontol.* 2006a Sep;77(9):1539-46.

Faveri M, Gursky LC, Feres M, Shibli JA, Salvador SL, de Figueiredo LC. Scaling and root planing and chlorhexidine mouthrinses in the treatment of chronic periodontitis: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2006b Nov;33(11):819-28.

Feres M, Faveri M, Figueiredo LC, Teles R, Flemmig T, Williams R, Lang NP. Group B. Initiator paper. Non-surgical periodontal therapy: mechanical debridement, antimicrobial agents and other modalities. *J Int Acad Periodontol.* 2015 Jan;17(1 Suppl):21-30.

Feres M, Figueiredo LC, Faveri M, Stewart B, de Vizio W. The effectiveness of a preprocedural mouthrinse containing cetylpyridinium chloride in reducing bacteria in the dental office. *J Am Dent Assoc.* 2010 Apr;141(4):415-22.

Feres M, Figueiredo LC, Soares GM, Faveri M. Systemic antibiotics in the treatment of periodontitis. *Periodontol 2000.* 2015 Feb;67(1):131-86.

Feres M, Gursky LC, Faveri M, Tsuzuki CO, Figueiredo LC. Clinical and microbiological benefits of strict supragingival plaque control as part of the active phase of periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 2009 Oct;36(10):857-67.

Feres M, Soares GM, Mendes JA, Silva MP, Faveri M, Teles R, Socransky SS, Figueiredo LC. Metronidazole alone or with amoxicillin as adjuncts to non-surgical treatment of chronic periodontitis: a 1-year double-blinded, placebo-controlled, randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2012 Dec;39(12):1149-58.

Feres M, Retamal-Valdes B, Faveri M, Duarte P, Shibli J, Soares GMS, et al. Proposal of a Clinical Endpoint for Periodontal Trials: The Treat-to-Target Approach. *J Int Acad Periodontol.* 2020 Apr 1;22(2):41-53. PMID: 32224549.

Flötra L, Gjerme P, Rölla G, Waerhaug J. Side effects of chlorhexidine mouth washes. *Scand J Dent Res.* 1971;79(2):119-25.

Fonseca DC, Cortelli JR, Cortelli SC, et al. Clinical and microbiological evaluation of scaling and root planing per quadrant and one-stage full mouth disinfection associated with azithromycin or chlorhexidine: a clinical randomized controlled trial. *J Periodontol.* 2015;86(12):1340-1351.

Foulkes DM. Some toxicological observations on chlorhexidine. *Journal of Periodontal Research Supplement* 1973;12:55-60.

García V, Rioboo M, Serrano J, O'Connor A, Herrera D, Sanz M. Plaque inhibitory effect of a 0.05% cetyl-pyridinium chloride mouth-rinse in a 4-day non-brushing model. *Int J Dent Hyg.* 2011 Nov;9(4):266-73.

García-Gargallo M, Zurlohe M, Montero E, Alonso B, Serrano J, Sanz M, Herrera D. Evaluation of new chlorhexidine - and cetylpyridinium chloride-based mouthrinse formulations adjunctive to scaling and root planing: pilot study. *Int J Dent Hyg.* 2017 Nov;15(4):269-279.

Graves D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *J Periodontol.* 2008;79(8 Suppl):1585-1591. doi:10.1902/jop.2008.080183

Gu H, Fan D, Gao J, et al. Effect of ZnCl₂ on plaque growth and biofilm vitality. *Arch Oral Biol.* 2012;57(4):369-375. doi:10.1016/j.archoralbio.2011.10.001

Gunsolley JC. A meta-analysis of six-month studies of antiplaque and antigingivitis agents. *J Am Dent Assoc.* 2006;137(12):1649-1657. doi:10.14219/jada.archive.2006.0110

Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent RL Jr, Socransky SS. Clinical and microbiological features of subjects with adult periodontitis who responded poorly to scaling and root planing. *J Clin Periodontol.* 1997 Oct;24(10):767-76.

Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent RL Jr, Socransky SS. Clinical and microbiological features of subjects with adult periodontitis who responded poorly to scaling and root planing. *J Clin Periodontol.* 1997 Oct; 24 (10): 767-76.

Haffajee AD, Patel M, Socransky SS. Microbiological changes associated with four different periodontal therapies for the treatment of chronic periodontitis. *Oral Microbiol Immunol.* 2008 Apr;23(2):148-57.

Hajishengallis G, Lamont RJ. Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Mol Oral Microbiol.* 2012 Dec;27(6):409-19.

Haps S, Slot DE, Berchier CE, Van der Weijden GA. The effect of cetylpyridinium chloride-containing mouth rinses as adjuncts to toothbrushing on plaque and parameters of gingival inflammation: a systematic review. *Int J Dent Hyg.* 2008 Nov;6(4):290-303.

Haps S, Slot DE, Berchier CE, Van der Weijden GA. The effect of cetylpyridinium chloride-containing mouth rinses as adjuncts to toothbrushing on plaque and parameters of gingival inflammation: a systematic review. *Int J Dent Hyg.* 2008 Nov;6(4):290-303.

Heitz F, Heitz-Mayfield LJ, Lang NP. Effects of post-surgical cleansing protocols on early plaque control in periodontal and/or periimplant wound healing. *J Clin Periodontol*. 2004 Nov;31(11):1012-8.

Herrera D, Escudero N, Pérez L, et al. Clinical and microbiological effects of the use of a cetylpyridinium chloride dentifrice and mouth rinse in orthodontic patients: a 3-month randomized clinical trial. *Eur J Orthod*. 2018;40(5):465-474. doi:10.1093/ejo/cjx096

Herrera D, Roldán S, Santacruz I, Santos S, Masdevall M, Sanz M. Differences in antimicrobial activity of four commercial 0.12% chlorhexidine mouthrinse formulations: an in vitro contact test and salivary bacterial counts study. *J Clin Periodontol*. 2003 Apr;30(4):307-14.

Hiranmayi KV, Sirisha K, Ramoji Rao MV, Sudhakar P. Novel Pathogens in Periodontal Microbiology. *J Pharm Bioallied Sci*. 2017;9(3):155-163. doi:10.4103/jpbs.JPBS_288_16

Holbeche JD, Ruljancich MK, Reade PC. A clinical trial of the efficacy of a cetylpyridinium chloride-based mouthwash 1. Effect on plaque accumulation and gingival condition. *Aust Dent J*. 1975 Dec;20(6):397-404.

Huyck CL. 1945. The Effect of Cetylpyridinium Chloride on the Bacterial Growth in the Oral Cavity*. *Journal of the American Pharmaceutical Association (Scientific ed.)* 34:5–608 11. doi:10.1002/jps.3030340103.

James P, Worthington HV, Parnell C, Harding M, Lamont T, Cheung A, Whelton H, Riley P. Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Mar 31;3:CD008676. doi:10.1002/14651858.CD008676.pub2.

Jin Y, Yip HK. Supragingival calculus: formation and control. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002;13(5):426–41.

Jones CG. Chlorhexidine: is it still the gold standard? *Periodontol* 2000. 1997 Oct;15:55-62.

Kang JH, Jang YJ, Kim DJ, Park JW. Antimicrobial effectiveness of cetylpyridinium chloride and zinc chloride-containing mouthrinses on bacteria of halitosis and peri-implant disease. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2015 Nov-Dec;30(6):1341-7.

Karpiński TM, Szkaradkiewicz AK. Chlorhexidine--pharmaco-biological activity and application. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2015;19(7):1321-1326.

Kassebaum NJ, Smith AG, Bernabé E, Fleming TD, Reynolds AE, Vos T, et al. Global, regional, and national prevalence, incidence, and disability-adjusted life years for oral conditions for 195 countries, 1990-2015: a systematic analysis for the global burden of diseases, injuries, and risk factors. *J Dent Res*. 2017 Apr;96(4):380-7. <https://doi.org/10.1177/0022034517693566>

Keijser JAM, Verkade H, Timmerman MF, van der Weijden FA. Comparison of 2 commercially available chlorhexidine mouthrinses. *Journal of Periodontology* 2003;74(2):214-8.

Keni NN, Aras MA, Chitre V. Chlorhexidine allergy due to topical application. *Indian J Dent Res.* 2012 Sep-Oct;23(5):674-6.

Kerr WJ, Kelly J, Geddes DA. The areas of various surfaces in the human mouth from nine years to adulthood. *J Dent Res.*1991;70(12):1528-30.

Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3:17038. Published 2017 Jun 22. doi:10.1038/nrdp.2017.38

Kumar S, Patel S, Tadakamadla J, Tibdewal H, Duraiswamy P, Kulkarni S. Effectiveness of a mouthrinse containing active ingredients in addition to chlorhexidine and triclosan compared with chlorhexidine and triclosan rinses on plaque, gingivitis, supragingival calculus and extrinsic staining. *Int J Dent Hyg.* 2013 Feb;11(1):35-40.

Lang C, Murgia C, Leong M, Tan LW, Perozzi G, Knight D, Ruffin R, Zalewski P. Anti-inflammatory effects of zinc and alterations in zinc transporter mRNA in mouse models of allergic inflammation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2007 Feb;292(2):L577-84.

Lang NP, Tonetti MS. Periodontal risk assessment (PRA) for patients in supportive periodontal therapy (SPT). *Oral Health Prev Dent.* 2003;1(1):7-16.

Lindhe, J., Lang, N. & Karring, T. (2010) *Tratado de periodontia clinica e implantologia oral*. Quinta edição. 2010. Editora Guanabara Koogan S.A. Capitulo 37: Terapia não-cirúrgica, pp. 737-749; Capitulo 7: Epidemiologia das doenças periodontais, pp. 123-170; Capitulo 11: Patogenia da doença periodontal, pp. 271-291.

Liu J, Ling JQ, Wu CD. Cetylpyridinium chloride suppresses gene expression associated with halitosis. *Arch Oral Biol.* 2013 Nov;58(11):1686-91.

Lobene RR, Kashket S, Soparkar PM, Shloss J, Sabine ZM. The effect of cetylpridinium chloride on human plaque bacteria and gingivitis. *Pharmacol Ther Dent.* 1979;4(1):33-47.

Löe H, Anerud A, Boysen H, Smith M. The natural history of periodontal disease in man. The rate of periodontal destruction before 40 years of age. *J Periodontol.* 1978 Dec;49(12):607-20.

Loe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand.* 1963 Dec;21:533-51.

LOE H, THEILADE E, JENSEN SB. EXPERIMENTAL GINGIVITIS IN MAN. *J Periodontol.* 1965;36:177-187. doi:10.1902/jop.1965.36.3.177.

Mager DL, Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces. *J Clin Periodontol*. 2003 Jul;30(7):644-54.

Marsh PD. Microbiological aspects of the chemical control of plaque and gingivitis. *J Dent Res*. 1992 Jul;71(7):1431-8.

Marsh PD. Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *J Clin Periodontol*. 2005;32 Suppl 6:7-15.

Mao X, Auer DL, Buchalla W, et al. Cetylpyridinium Chloride: Mechanism of Action, Antimicrobial Efficacy in Biofilms, and Potential Risks of Resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020;64(8):e00576-20. Published 2020 Jul 22. doi:10.1128/AAC.00576-20

Marcenes W, Kassebaum NJ, Bernabé E, et al. Global burden of oral conditions in 1990-2010: a systematic analysis. *J Dent Res*. 2013;92(7):592-597. doi:10.1177/0022034513490168

Matarazzo F, Figueiredo LC, Cruz SE, Faveri M, Feres M. Clinical and microbiological benefits of systemic metronidazole and amoxicillin in the treatment of smokers with chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled study. *J Clin Periodontol*. 2008 Oct;35(10):885-96.

Mestnik MJ, Feres M, Figueiredo LC, Duarte PM, Lira EA, Faveri M. Short-term benefits of the adjunctive use of metronidazole plus amoxicillin in the microbial profile and in the clinical parameters of subjects with generalized aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2010 Apr;37(4):353-65.

Miranda SLF, Damaceno JT, Faveri M, et al. In Vitro Antimicrobial Effect of Cetylpyridinium Chloride on Complex Multispecies Subgingival Biofilm. *Braz Dent J*. 2020;31(2):103-108. doi:10.1590/0103-6440202002630

Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Clin Periodontol*. 2018;45 Suppl 20:S162-S170. doi:10.1111/jcpe.12946

Pérez-Chaparro PJ, Gonçalves C, Figueiredo LC, et al. Newly identified pathogens associated with periodontitis: a systematic review. *J Dent Res*. 2014;93(9):846-858. doi:10.1177/0022034514542468.

Pérez-Chaparro PJ, McCulloch JA, Mamizuka EM, et al. Do different probing depths exhibit striking differences in microbial profiles?. *J Clin Periodontol*. 2018;45(1):26-37. doi:10.1111/jcpe.12811.

Pitten FA, Kramer A. Efficacy of cetylpyridinium chloride used as oropharyngeal antiseptic. *Arzneimittelforschung*. 2001;51(7):588-595.

Puig SillaM, Montiel CompanyJM, Almerich SillaJM. Use of chlorhexidine varnishes in preventing and treating periodontal disease. A review of the literature. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal* 2008;13(4):E257-60.

Pulcini A, Bollaín J, Sanz-Sánchez I, et al. Clinical effects of the adjunctive use of a 0.03% chlorhexidine and 0.05% cetylpyridinium chloride mouth rinse in the management of peri-implant diseases: A randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2019;46(3):342-353. doi:10.1111/jcpe.13088

Quirynen M, Avontroodt P, Peeters W, Pauwels M, Coucke W, van Steenberghe D. Effect of different chlorhexidine formulations in mouthrinses on de novo plaque formation. *J Clin Periodontol.* 2001 Dec;28(12):1127-36.

Quirynen M, Soers C, Desnyder M, Dekeyser C, Pauwels M, van Steenberghe D. A 0.05% cetylpyridinium chloride/0.05% chlorhexidine mouth rinse during maintenance phase after initial periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 2005 Apr;32(4):390-400.

Quisno R, Foter MJ. Cetylpyridinium chloride; germicidal properties. *J Bacteriol.* 1946 Jul;52:111-7.

Radford JR, Beighton D, Nugent Z, Jackson RJ. Effect of use of 0.05% cetylpyridinium chloride mouthwash on normal oral flora. *J Dent.* 1997 Jan;25(1):35-40.

Retamal-Valdes B, Soares GM, Stewart B, Figueiredo LC, Favari M, Miller S, Zhang YP, Feres M. Effectiveness of a pre-procedural mouthwash in reducing bacteria in dental aerosols: randomized clinical trial. *Braz Oral Res.* 2017 Mar 30;31:e21.

Roldán S, Winkel EG, Herrera D, Sanz M, Van Winkelhoff AJ. The effects of a new mouthrinse containing chlorhexidine, cetylpyridinium chloride and zinc lactate on the microflora of oral halitosis patients: a dual-centre, double-blind placebo-controlled study. *J Clin Periodontol.* 2003 May;30(5):427-34.

Rölla G, Løe H, Schiott CR. The affinity of chlorhexidine for hydroxyapatite and salivary mucins. *J Periodontal Res.* 1970;5(2):90-5.

Rosa M, Sturzenberger OP. Clinical reduction of gingivitis through the use of a mouthwash containing two quaternary ammonium compounds. *J Periodontol.* 1976 Sep;47(9):535-7.

Rösing CK, Cavagni J, Gaio EJ, et al. Efficacy of two mouthwashes with cetylpyridinium chloride: a controlled randomized clinical trial. *Braz Oral Res.* 2017;31:e47. Published 2017 Jul 3. doi:10.1590/1807-3107BOR-2017.vol31.0047

Sampaio E, Rocha M, Figueiredo LC, Favari M, Duarte PM, Gomes Lira EA, Feres M. Clinical and microbiological effects of azithromycin in the treatment of generalized chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2011 Sep;38(9):838-46.

Santos S, Herrera D, López E, O'Connor A, González I, Sanz M. A randomized clinical trial on the short-term clinical and microbiological effects of the adjunctive use of a 0.05% chlorhexidine mouth rinse for patients in supportive periodontal care. *J Clin Periodontol*. 2004 Jan;31(1):45-51.

Santos SL, Conforti N, Mankodi S, Kohut BE, Yu D, Wu MM, et al. Anticalculus effect of two zinc citrate/essential oilcontaining dentifrices. *Am J Dent* 2000;13(Spec No):11C–3C.

Sanz M, Newman MG, Anderson L, Matoska W, Otomo-Corgel J, Saltini C. Clinical enhancement of post-periodontal surgical therapy by a 0.12% chlorhexidine gluconate mouthrinse. *J Periodontol*. 1989 Oct;60(10):570-6.

Schiott CR. Effect of chlorhexidine on the microflora of the oral cavity. *J Periodontal Res Suppl*. 1973;12:7-10.

Sethi KS, Mamajiwala A, Mahale S, Raut CP, Karde P. Comparative evaluation of the chlorhexidine and cinnamon extract as ultrasonic coolant for reduction of bacterial load in dental aerosols. *J Indian Soc Periodontol* 2019;23(3):226-233.

Sekino S, Ramberg P, Uzel NG, Socransky S, Lindhe J. The effect of a chlorhexidine regimen on de novo plaque formation. *J Clin Periodontol*. 2004;31(8):609-14.

Serrano J, Escribano M, Roldán S, et al. Efficacy of adjunctive anti-plaque chemical agents in managing gingivitis: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol* 2015;42:S106–38

Shetty SK, Sharath K, Shenoy S, Sreekumar C, Shetty RN, Biju T. Compare the efficacy of two commercially available mouthrinses in reducing viable bacterial count in dental aerosol produced during ultrasonic scaling when used as a preprocedural rinse. *J Contemp Dent Pract* 2013;14(5): 848-851.

Shim JY, Yim SB, Chung JH, Hong KS. Antiplaque and antigingivitis effects of a mouthrinse containing cetylpyridinium chloride, triclosan and dipotassium glycyrrhizinate. *J Periodontal Implant Sci*. 2012 Apr;42(2):33-8.

Silness J, Loe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand*. 1964 Feb;22:121-35.

Slots J. Low-cost periodontal therapy. *Periodontol 2000*. 2012 Oct;60(1):110-37.

Soares GM, Mendes JA, Silva MP, Faveri M, Teles R, Socransky SS, Wang X, Figueiredo LC, Feres M. Metronidazole alone or with amoxicillin as adjuncts to non-surgical treatment of chronic periodontitis: a secondary analysis of microbiological results from a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2014 Apr;41(4):366-76.

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.

Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000* 2002; 28: 2–55.

Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol* 2000. 2005;38:135-87.

Socransky SS, Smith C, Martin L, Paster BJ, Dewhirst FE, Levin AE. "Checkerboard" DNA-DNA hybridization. *Biotechniques*. 1994 Oct;17(4):788-92.

Sreenivasan PK, Furgang D, Markowitz K, McKiernan M, Tischio-Bereski D, Devizio W, et al. Clinical anti-microbial efficacy of a new zinc citrate dentifrice. *Clin Oral Investig* 2009;13(2):195–202.

Sreenivasan PK, Haraszthy VI, Zambon JJ. Antimicrobial efficacy of 0.05% cetylpyridinium chloride mouthrinses. *Lett Appl Microbiol*. 2013 Jan;56(1):14-20.

Tartaglia GM, Kumar S, Fornari CD, Corti E, Connelly ST. Mouthwashes in the 21st century: a narrative review about active molecules and effectiveness on the periodontal outcomes. *Expert Opin Drug Deliv*. 2017;14(8):973-982. doi:10.1080/17425247.2017.1260118.

Teitelbaum AP, Pochapski MT, Jansen JL, Sabbagh-Haddad A, Santos FA, Czlusniak GD. Evaluation of the mechanical and chemical control of dental biofilm in patients with Down syndrome. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2009 Oct;37(5):463-7.

Teles RP, Haffajee AD, Socransky SS. Microbiological goals of periodontal therapy. *Periodontol* 2000. 2006;42:180-218.

Teles RP, Teles FR. Antimicrobial agents used in the control of periodontal biofilms: effective adjuncts to mechanical plaque control? *Braz Oral Res*. 2009;23 Suppl 1:39-48.

Van der Weijden FA, Van der Sluijs E, Ciancio SG, Slot DE. Can Chemical Mouthwash Agents Achieve Plaque/Gingivitis Control?. *Dent Clin North Am*. 2015;59(4):799-829. doi:10.1016/j.cden.2015.06.002.

van der Weijden GA, Hioe KP. A systematic review of the effectiveness of self-performed mechanical plaque removal in adults with gingivitis using a manual toothbrush. *J Clin Periodontol*. 2005;32(S):6214-28.




Varoni E, Tarce M, Lodi G, Carrassi A. Chlorhexidine (CHX) in dentistry: state of the art. *Minerva Stomatol* 2012;61:399-419.

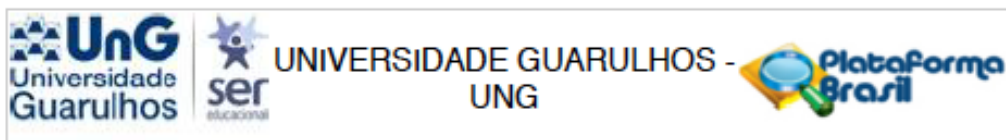
Winkel EG, Roldán S, Van Winkelhoff AJ, Herrera D, Sanz M. Clinical effects of a new mouthrinse containing chlorhexidine, cetylpyridinium chloride and zinc-lactate on oral halitosis. A dual-center, double-blind placebo-controlled study. *J Clin Periodontol*. 2003 Apr;30(4):300-6.

Witt J, Bsoul S, He T, Gibb R, Dunavent J, Hamilton A. The effect of toothbrushing regimens on the plaque inhibitory properties of an experimental cetylpyridinium chloride mouthrinse. *J Clin Periodontol*. 2006 Oct;33(10):737-42.

ANEXOS

ANEXO A - Parecer substanciado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Univeritas UNG.

		UNIVERSIDADE GUARULHOS - UNG	
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP			
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA			
Título da Pesquisa: EFICÁCIA DE TRÊS PROTOCOLOS DE CONTROLE QUÍMICO DO BIOFILME SUPRAGENGIVAL REALIZADO DURANTE O TRATAMENTO PERIODONTAL NÃO-CIRÚRGICO E TAMBÉM NA FASE DA TERAPIA DE MANUTENÇÃO EM INDIVÍDUOS COM PERIODONTITE CRÔNICA.			
Pesquisador: Luciene Cristina de Figueiredo			
Área Temática:			
Versão: 2			
CAAE: 44177015.9.0000.5506			
Instituição Proponente: Universidade Guarulhos - UNG			
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio			
DADOS DO PARECER			
Número do Parecer: 1.093.505			
Data da Relatoria: 26/05/2015			
Apresentação do Projeto:			
O projeto está de acordo com os padrões científicos e éticos em pesquisa.			
Objetivo da Pesquisa:			
Os objetivos são exequíveis e estão bem delimitados.			
Avaliação dos Riscos e Benefícios:			
Há avaliação de riscos e benefícios. As dúvidas pendentes foram esclarecidas.			
Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:			
As pendências previamente apontadas foram respondidas.			
Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:			
O TCLE contempla os padrões éticos em pesquisa com seres humanos.			
Recomendações:			
Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:			
Não há.			
<p>Endereço: Praça Tereza Cristina, 229 Bairro: Centro CEP: 07.023-070 UF: SP Município: GUARULHOS Telefone: (11)2464-1779 Fax: (11)2464-1187 E-mail: comite.etica@ung.br</p>			



Continuação do Parecer: 1.093.505

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Esta aprovação é válida pelo período previsto no cronograma postado.

Enviar relatório final até 15/07/2017, via Plataforma Brasil, contemplando as questões relativas aos Critérios Éticos da pesquisa:

- a) Houve ocorrência de fatos relevantes que alteraram o curso normal do estudo?
- b) Foram feitas eventuais modificações ou emendas ao projeto de pesquisa?
- c) A pesquisa foi concluída de acordo com o protocolo aprovado pelo CEP UnG ?
- d) Faça um parecer sobre o relacionamento Pesquisador X Participante da pesquisa durante a realização do estudo.

GUARULHOS, 03 de Junho de 2015

Assinado por:

**Regina de Oliveira Moraes Arruda
(Coordenador)**

Endereço: Praça Tereza Cristina, 229

Bairro: Centro

CEP: 07.023-070

UF: SP

Município: GUARULHOS

Telefone: (11)2464-1779

Fax: (11)2464-1187

E-mail: comite.etica@ung.br

ANEXO B – Questionário de saúde e anamnese.**PROTOCOLO Nº CRO-2015-02-MW-PERIO-BZ-BS****DADOS PESSOAIS**

Nome: _____ Data: _____

Data de nascimento: _____ Raça: _____ Fumante: () Sim () Não

HISTÓRIA MÉDICA

Nome do médico: _____ Telefone#: _____

Data da última visita: _____

Contato em caso de Emergência? Nome: _____

Telefone #: _____

Seu estado de saúde atual é: Bom ___ Médio ___ Ruim ___

Você já foi submetido a algum procedimento cirúrgico? [] Sim [] Não

Se SIM, qual?: _____

Você esta sob cuidados de algum médico? [] Sim [] Não

Se SIM, qual?: _____

Por favor, circule se você tem ou teve alguma destas doenças:

Sangramento anormal sanguínea	Anemia	Desordens sanguíneas	Transfusão
Hemofilia	AIDS	Artrite	Asma
Câncer/Tumor	Quimio/radioterapia	Doença renal/hepática	
Úlcera/ Colite	Diabetes ou açúcar no sangue anormal	Glaucoma	
Hepatite/Ictericia	Enfisema	Problemas pulmonares/respiratórios	
Problemas cardíacos	Pressão sanguínea alta/baixa	Febre reumática	
Uso de drogas	Epilepsia	Problemas de pele	

Por favor, descreva se tem algum outro problema/condição médica:

Você tem história de alergia a produtos de higiene oral, de cuidados pessoais ou a algum ingrediente desses produtos?

Se sim, por favor, explique quais? _____

Você toma algum tipo de medicação? Se sim, descreva quais:

Liste qualquer prescrição de medicamento que você esteja fazendo uso

Nome do medicamento	Quantidade	Frequência	Motivo

HISTÓRIA ODONTOLÓGICA

Nome do seu dentista: _____ Telefone: _____

Com qual frequência você visita o dentista: _____

Data da sua última visita: _____

APENAS MULHERES

Por favor, responda o que segue:

Você está grávida? _____ **S** _____ **N** Se sim, de quantos meses _____ ;Você está amamentando? _____ **S** _____ **N**

Eu entendo que as informações que eu forneci hoje são verdadeiras e correspondem ao melhor do meu conhecimento. Eu também entendo que essas informações são confidenciais e é minha responsabilidade informar qualquer alteração no meu estado de saúde. Eu entendo que minha participação no estudo é voluntária e que eu posso sair do estudo a qualquer momento.

Assinatura_____
Data

PROTOCOLO Nº CRO-2015-02-MW-PERIO-BZ-BS**FORMULÁRIO INICIAL DE RECRUTAMENTO**

Número do sujeito _____ Data _____

Sexo	_____ Masculino _____ Feminino
Data de Nascimento	_____ / _____ / _____ Dia Mês Ano
Raça	<input type="checkbox"/> Caucasiano <input type="checkbox"/> Negro <input type="checkbox"/> Espânico <input type="checkbox"/> Asiático <input type="checkbox"/> Outra, por favor, especifique: _____
Fumante	_____ Sim _____ Não
Você tem o hábito de consumir essas bebidas abaixo?	
<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não COLA <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não CAFÉ <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não CHÁ	

1. O indivíduo possui idade entre 30-70 anos de idade? Sim___ Não___
2. O indivíduo assinou o termo de consentimento (TCLE)? Sim ___ Não ___
3. O indivíduo está disponível para a duração do estudo? Sim ___ Não___
5. O indivíduo possui no mínimo 15 dentes? Sim ___ Não___
6. O indivíduo está em boas condições de saúde sistêmica? Sim___ Não___

Se alguma das respostas anteriores (1-6) foi NÃO, o indivíduo não se enquadra no estudo. Se o indivíduo se classifica para o estudo, as questões 7-22 devem ser respondidas:

7. O indivíduo apresenta condição médica que medicação profilática? Sim___ Não___
10. O indivíduo apresenta periodontite crônica moderada? Sim ___ Não ___
11. O indivíduo possui alguma lesão em tecido mole ou duro na boca? Sim ___ Não ___
12. O indivíduo possui mais de 30% dos sítios com sangramento à Sondagem? Sim ___ Não ___
13. O indivíduo apresenta pelo menos 4 sítios com profundidade de sondagem (PS) e nível clínico de inserção (NCI) > 5 mm Sim___ Não___
14. O indivíduo usa aparelho ortodôntico? Sim ___ Não ___
15. O indivíduo fez uso de antibióticos nos últimos seis meses? Sim ___ Não___
16. Uso de medicação que interfira com os resultados? Sim ___ Não ___
17. Está grávida ou amamentando? Sim___ Não___
18. Participação em algum outro estudo clínico no mês anterior ao início deste estudo? Sim___ Não___
19. Resposta imune comprometida? Sim ___ Não ___
20. O indivíduo tem história de alergia a produtos de higiene oral/pessoal ou aos seus ingredientes? Sim___ Não___
21. Alguma prescrição que interfira com os resultados do estudo? Sim ___ Não ___
22. Alguma condição médica que proíba a participação no estudo? Sim ___ Não ___
23. Uso de álcool, hábito de fumar ou uso abusivo de drogas? Sim___ Não___

Se alguma das questões 7-22 for SIM, o indivíduo não se enquadra no estudo. O indivíduo deve ser dispensado e a questão 23 completada.

23. O INDIVÍDUO SE CLASSIFICA PARA O ESTUDO? SIM___ NÃO___

Examinador Responsável

Data

ANEXO D - Avaliação dos tecidos orais moles e duros.**PROTOCOLO Nº CRO-2015-02-MW-PERIO-BZ-BS****AVALIAÇÃO DOS TECIDOS ORAIS MOLES E DUROS**

INDIVÍDUO NÚMERO _____ AVALIAÇÃO _____ DATA _____

AREANORMAL

- | | | |
|-------------------------------------|----------|-----------|
| 1. Palato mole | Sim_____ | Não _____ |
| 2. Palato duro | Sim_____ | Não _____ |
| 3. Tecido gengival | Sim_____ | Não _____ |
| 4. Mucosa bucal | Sim_____ | Não _____ |
| 5. Tecido mucoso | Sim_____ | Não _____ |
| 6. Língua | Sim_____ | Não _____ |
| 7. Áreas sublingual e submandibular | Sim_____ | Não _____ |
| 8. Glândulas salivares | Sim_____ | Não _____ |
| 9. Áreas tonsilares e faríngeas | Sim_____ | Não _____ |

Se alguma das questões 1-9 foi NÃO, por favor explique:

Data_____
Examinador Responsável

ANEXO E - Formulário de visita pós-tratamento.

PROTOCOLO Nº CRO-2015-02-MW-PERIO-BZ-BS**FORMULÁRIO DA VISITA PÓS-TRATAMENTO**

Número do sujeito _____ Iniciais do nome _____ Data _____

O indivíduo faz uso constante de alguma medicação (incluindo OTC)? SIM NÃO
 Se SIM, por favor, liste todos os medicamentos abaixo:

Medicação	Dose diária total	Data de início	Data de término (Circule C se continua)	Indicação

1. Ocorreu alguma reação inesperada ou séria desde o último exame? SIM NÃO

2. Existe algum tratamento prescrito para estas alterações? SIM NÃO

Se SIM, descreva qual: _____

3. Foi realizado algum tratamento odontológico desde o último exame? SIM NÃO

Se SIM, descreva qual: _____

4. Você esta tomando algum medicamento novo desde a consulta inicial? SIM NÃO

Se sim, qual a dose, duração e o motivo: _____

5. Para mulheres: Você está grávida ou amamentando? NÃO SABE SIM NÃO

6. Alguma resposta às questões 1-5 justifica a exclusão dos dados do indivíduo da análise estatística? SIM NÃO

Se sim, explique: _____

7. O indivíduo poderá continuar participando do estudo? SIM NÃO

Se a resposta da questão 7 for NÃO, por favor responda a questão 8

8. O indivíduo completou o estudo? SIM NÃO

Se não, explique: _____

Examinador Responsável_____
Data