



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Faculdade de Odontologia

Laís Christina Pontes Espíndola

**EFEITO ADJUNTO DA SOLUÇÃO DE HIPOCLORITO DE SÓDIO À
0,1% NO CONTROLE DO BIOFILME DENTAL, GENGIVITE E
MICROBIOTA ORAL: ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO, DUPLO-
CEGO E CONTROLADO**

Rio de Janeiro

2016

Laís Christina Pontes Espíndola

**EFEITO ADJUNTO DA SOLUÇÃO DE HIPOCLORITO DE SÓDIO À
0,1% NO CONTROLE DO BIOFILME DENTAL, GENGIVITE E
MICROBIOTA ORAL: ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO, DUPLO-
CEGO E CONTROLADO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Periodontia), Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Odontologia (Periodontia).

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula V. Colombo

Rio de Janeiro

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Espíndola, Laís Christina Pontes

Efeito adjunto da solução de hipoclorito de sódio à 0,1% no controle do biofilme dental, gengivite e microbiota oral: estudo clínico randomizado, duplo-cego e controlado/Laís Christina Pontes Espíndola – Rio de Janeiro: UFRJ/FO, 2016.

107 f total de folhas

Orientadora: Ana Paula Vieira Colombo

Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Odontologia, Programa de Pós-graduação em Odontologia (Periodontia), 2016.

Referências bibliográficas: f. 66-88

1. Doença Periodontal 2. Etiologia Microbiana- Biofilme 3. Controle Mecânico do Biofilme Periodontal 4. Controle Químico do Biofilme Periodontal 5. Hipoclorito de Sódio 6. Checkerboard – Tese.I. Colombo, Ana Paula II. UFRJ, Faculdade de Odontologia, Mestrado em Odontologia (Periodontia).III. Título

FOLHA DE APROVAÇÃO

Laís Christina Pontes Espíndola

Efeito adjunto da solução de hipoclorito de sódio à 0,1% no controle do biofilme dental, gengivite e microbiota oral: estudo clínico randomizado, duplo-cego e controlado

Dissertação de Mestrado submetido ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Periodontia), Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Odontologia (Periodontia).

Aprovada em: _____

Prof. Anna Thereza Thome Leão (Presidente da Banca examinadora), DSc (Odontologia Social), Faculdade de Odontologia da UFRJ

Renata Martins do Souto (Membro da Banca examinadora), DSc (Microbiologia), Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da UFRJ

Lucio de Souza Gonçalves, (Membro da Banca examinadora), DSc (Microbiologia), Faculdade de Odontologia, UNESA

Ana Paula Vieira Colombo (Orientadora), DMSc (Biologia Oral), Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da UFRJ

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Microbiologia Oral, Departamento de Microbiologia Médica, Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal do Rio de Janeiro, e na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro sob a orientação da professora Ana Paula Vieira Colombo.

“Nunca permita que alguém corte suas asas, estreite seus horizontes e tire as estrelas do teu céu. Nunca deixe que teu medo seja maior que a tua vontade de voar. O valor da vida está nos sonhos que lutamos para conquistar.”

Autoria desconhecida

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a Deus; aos meus amados pais Luiz Marinho e Socorro Espíndola; ao meu irmão Diego e ao meu afilhado Cauã. A distância se fez presente ao longo desses 2 anos vivendo longe de casa, entretanto o apoio, ajuda e amor de vocês foram essenciais para eu concretizar essa vitória na minha vida.

AGRADECIMENTOS

Em especial a Deus, pelo dom da minha vida e por em cada degrau de dificuldade, o Senhor me proporcionar o dobro de força e fé. Por iluminar sempre o meu caminho e por ter colocado pessoas tão especiais na minha vida.

Aos meus queridos pais, Luiz Marinho Espíndola e Maria do Socorro Pontes Espíndola, exemplos de pessoas, pelos ensinamentos, pelos valores que me ensinaram a cultivar, pelo caminho que me orientaram a seguir, por estarem sempre ao meu lado e simplesmente pelo amor incondicional que sempre me dedicaram. Não sei como agradecer pela família maravilhosa, pela educação e por tudo que vocês me proporcionaram.

A minha tia Socorro Espíndola pelo convívio diário e apoio ao longo desses dois anos.

As minhas tias pelo força e estímulo sempre.

A minha orientadora Ana Paula Colombo pelos seus ensinamentos, dedicação, paciência, pela oportunidade de convívio. Sem dúvida, foi um privilégio aprender com uma pessoa tão sábia. Serei sempre grata por auxiliar no meu crescimento profissional.

Às companheiras de laboratório pela convivência harmoniosa, auxílio e ensino na realização desse trabalho.

Aos meus alunos de iniciação científica, Marcos Henrique e Luiza Vilela, pela ajuda na coleta dos dados da minha pesquisa.

Às amigas de turma de mestrado, em especial Mariana, pessoas que tive oportunidade de conhecer e conviver, sempre tão presentes, pela amizade e carinho.

Aos pacientes, que tornaram o estudo possível.

As minhas grandes amigas Gabriela Monteiro, Larissa de Almeida, Laura Teresa, Mariana Reys, Olga Oliveira por toda ajuda, carinho e amizade, nos bons e maus momentos, desde a infância.

As minhas amigas de graduação, Thaciane Rocha e Marília Tenório, pelo apoio, amizade, ajuda e estímulo em seguir esta jornada.

Aos meus amigos Anita Machado, Udson Bandeira que fazem da minha vida no Rio de Janeiro mais leve, pela amizade e companheirismo.

A todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente, para que este trabalho acontecesse, meus sinceros agradecimentos.

Aos órgãos de Fomento: CNPq, FAPERJ e CAPES pelo apoio financeiro durante meu período de formação.

RESUMO

ESPÍNDOLA, Laís Christina Pontes Espíndola. EFEITO ADJUNTO DA SOLUÇÃO DE HIPOCLORITO DE SÓDIO À 0,1% NO CONTROLE DO BIOFILME DENTAL, GENGIVITE E MICROBIOTA ORAL: ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO, DUPLO-CEGO E CONTROLADO. Rio de Janeiro, 2016. Dissertação (Mestrado em Odontologia - Periodontia) –Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

Pouca informação existe sobre o uso de enxaguatório bucal contendo Hipoclorito de sódio (NaOCl) como uma terapia alternativa adjuvante para o controle químico do biofilme dental. O presente estudo clínico randomizado, duplo cego e controlado com placebo teve por objetivo avaliar, por um período de 6 meses, a eficácia da solução de NaOCl à 0,1%, utilizada como antisséptico bucal coadjuvante à profilaxia periodontal mecânica, na redução do biofilme supragengival, inflamação gengival, e dos níveis de patógenos periodontais e oportunistas. 32 indivíduos diagnosticados com gengivite foram recrutados da Clínica de Periodontia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, sendo os mesmos randomizados e alocados em dois grupos terapêuticos. O Grupo placebo (C, n=16) foi submetido à profilaxia periodontal ultra-sônica seguida do uso de água destilada como enxaguante bucal por 1 mês. O Grupo teste (T, n=16) foi submetido à profilaxia seguida do uso do NaOCl à 0,1% como enxaguante. O exame clínico periodontal, incluindo medidas clínicas de profundidade de sondagem (PS), nível clínico de inserção (NCI), sangramento à sondagem (SAS), sangramento gengival (IG), placa supragengival (IP) e cálculo (CA), foi realizado por um examinador calibrado no início do estudo (pré-terapia), 1, 3 e 6 meses pós-terapia. Amostras de saliva e de biofilme subgengival foram obtidas de cada paciente nesses diferentes tempos de avaliação. A composição da microbiota salivar e periodontal foi determinada pelo método do checkerboard. Diferenças entre os grupos em relação aos parâmetros clínicos e à microbiota ao longo do tempo foram avaliadas pelos testes do Qui-quadrado, Student T, GLM, Friedman e Mann-Whitney. Ambos os protocolos terapêuticos resultaram em melhora clínica significativa nos parâmetros periodontais após tratamento, com exceção do aumento clinicamente irrelevante na PS e NCI (teste de Friedman, $p < 0,01$). No entanto, não houve diferença significativa entre os grupos (teste GLM, $p > 0,05$). A maioria da espécies avaliadas na saliva apresentou um aumento em níveis, porém $> 67\%$ das espécies no biofilme subgengival reduziram em ambos os grupos terapêuticos ao longo dos 6 meses pós-terapia. Reduções significativas nos níveis dos complexos microbianos foram observadas particularmente 1 e 3 meses após tratamento. Entretanto, aos 6 meses esses níveis retornaram a valores da pré-terapia, exceto para os complexos vermelho e amarelo, e outras espécies orais que se mantiverem em níveis baixos pós-terapia em ambos os grupos ($p < 0,05$, GLM). O uso do NaOCl a 0.1% como enxaguante bucal não apresentou um efeito benéfico adicional à profilaxia periodontal ultra-sônica na redução do biofilme supragengival, gengivite e níveis de patógenos orais e oportunistas.

Palavras-chave: Biofilme Dental; Saliva; Gengivite; Controle de Placa; Profilaxia Periodontal; Enxaguatórios Bucais; Hipoclorito de Sódio; Checkerboard; Microbiota Oral.

ABSTRACT

ESPÍNDOLA, Laís Christina Pontes Espíndola. EFEITO ADJUNTO DA SOLUÇÃO DE HIPOCLORITO DE SÓDIO À 0,1% NO CONTROLE DO BIOFILME DENTAL, GENGIVITE E MICROBIOTA ORAL: ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO, DUPLO-CEGO E CONTROLADO. Rio de Janeiro, 2016. Dissertação (Mestrado em Odontologia - Periodontia) –Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

Limited data are available regarding the use of a Sodium Hypochlorite (NaOCl) mouthwash as an alternative adjuvant therapy for dental plaque chemical control. This randomized, double-blinded, placebo-controlled study aimed to evaluate for 6 months the effectiveness of a 0.1% NaOCl solution used as an antiseptic oral rinse adjunct to mechanical periodontal prophylaxis on reducing supragingival biofilm, gingival inflammation, as well as the levels of oral pathogens and opportunists. 32 individuals diagnosed with gingivitis were recruited from the Periodontics Clinic at the Federal University of Rio de Janeiro, randomized and allocated into 2 therapeutics groups. The Placebo group (C, n=16) received ultrasonic periodontal prophylaxis followed by the use of sterile distilled water as mouthwash for 1 month, whereas the Test group (T, n=16) had prophylaxis followed by the use of 0.1% NaOCl as mouthwash. Full-mouth periodontal examination including measurements of probing depth (PD), clinical attachment level (CAL), bleeding on probing (BOP), gingival bleeding (GI), supragingival plaque (PI) and calculus (CA) was carried out by one trained examiner at baseline (pre-therapy), 1, 3 and 6 months pos-therapy. Saliva and subgingival biofilm samples were obtained from each patient at the same follow up time points. The composition of the salivary and periodontal microbiota was determined by the checkerboard method. Significance of differences between groups for clinical and microbiological parameters over time were sought by Chi-square, Student T, GLM, Friedman and Mann-Whitney tests. Both therapeutic protocols resulted in significant clinical improvement in periodontal parameters over time, except for PD and CAL which presented a slight increase (Friedman test, $p < 0.01$). However, no significant differences between groups were observed for these parameters (GLM, $p > 0.05$). Most species in saliva presented an increase in mean counts, whereas $>67\%$ of the species in the subgingival biofilm decreased in both therapeutic groups over time. Significant reductions on the microbial complexes levels were observed mainly at 1 and 3 months pos-therapy. However, at 6 months, these complexes rebounded to pre-therapy counts, except for the red and yellow complexes, and other oral species which were maintained at low levels after treatment in both groups ($p < 0.05$, GLM). The use of 0.1% NaOCl as an oral rinse adjunctive to mechanical periodontal prophylaxis did not provide additional benefits on reducing the supragingival biofilm, gingivitis and levels of microbial pathogens.

Key Words: Dental Biofilm; Saliva; Gingivitis; Plaque Control; Periodontal Prophylaxis; Mouthrinses; Sodium Hypochlorite; Checkerboard; Oral Microbiota.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Classificação da doença periodontal. Esquema A: Periodonto inflamado, sem perda de inserção clínica e sem perda óssea alveolar (gingivite). Esquema B: Lesão periodontal com perda óssea e formação da bolsa periodontal (periodontite). Fonte: Adaptado de CARRANZA *et al.* 2003.....02
- Figura 2.** Complexos microbianos no biofilme subgengival. Fonte: SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2002.....03
- Figura 3.** Estrutura molecular dos antissépticos clorexidina, iodopovidona, triclosan e cloreto de cetilpiridíneo.....14
- Figura 4.** Estrutura molecular do Hipoclorito de Sódio.....16
- Figura 5.** Mecanismo de ação do Hipoclorito de Sódio.....16

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Quadro 1. Protocolo original de desinfecção total da boca introduzido por Quirynen <i>et al.</i> (1995).....	07
Quadro 2. Classificação dos antissépticos comumente utilizados nos enxaguantes bucais, seu mecanismo de ação e efeitos colaterais.....	10
Quadro 3. Estudos que utilizaram o NaOCl, metodologia utilizada, concentração e seus resultados.....	19

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

A.P.V.C.- Ana Paula Vieira Colombo
Aa - *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
AAP – Academia Americana de Periodontia
ADA – American Dental Association
BD – Biofilme dentário
BHI - *Brain heart infusion*
BOP- *Bleeding on probing*
C – Grupo placebo
CA- *Dental calculus index*
CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CCP- Cloreto de Cetilpiridíneo
CCS- Centro de Ciências da Saúde
CEP - Comitê de Ética em Pesquisa
CHX - Clorexidina
CAL- *Clinical attachment level*
DNA – *Deoxyribonucleic Acid*
DP- Doença Periodontal
EDTA –*Ethylenediamine Tetraacetic acid*
et al – e outros
FAPERJ - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FDA – Food and Drug Administration
FMD – *Full Mouth Disinfection*
GI – *Gingival index*
GLM – *General Linear Models*
ICC – Intervalo de correlação de classe
IC – Intervalo de confiança
IG – Índice gengival
IP – Índice de placa
k – Valor individual de p desejado
L.C.P.E.- Laís Christina Pontes Espíndola
NCI – Nível clínico de inserção
OE- Óleos Essenciais
PD – *Probing Deph*
PS – Profundidade de sondagem
RAR- Raspagem e Alisamento Radicular
RCT- *Randomized Controlled Trial*
SAS- Sangramento à sondagem
SPSS – Statistical Package for the Social Sciences
T – Grupo teste
TE – Tampão tris-EDTA
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro
UFC – Unidades Formadoras de Colônias

SUMÁRIO

RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	xi
LISTA DE TABELAS E QUADROS.....	xii
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	01
1.1. Doença Periodontal- Definição.....	01
1.2. Etiologia Microbiana- Biofilme.....	02
1.3. Controle Mecânico do Biofilme Periodontal.....	05
1.4. Controle Químico do Biofilme Periodontal.....	06
1.5. Antimicrobianos tópicos utilizados no controle do biofilme dental.....	08
1.5.1. Clorexidina	10
1.5.2. Iodopovidona.....	11
1.5.3. Triclosan.....	12
1.5.4. Cloreto de Cetilpiridíneo.....	13
1.5.5. Óleos Essenciais.....	14
1.6. Hipoclorito de Sódio.....	15
2. PROPOSIÇÃO.....	21
3. MANUSCRITO CIENTÍFICO.....	22
4. DISCUSSÃO.....	61
5. CONCLUSÃO.....	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
ANEXO I.....	92
ANEXO II.....	95
ANEXO III.....	97

1. INTRODUÇÃO

1.1. Doença Periodontal – Definição:

A doença periodontal (DP) é definida como uma infecção de natureza polimicrobiana, multifatorial, que resulta em um processo inflamatório crônico o qual afeta os tecidos de proteção e sustentação dos dentes de indivíduos susceptíveis, o que pode resultar na perda do elemento dentário (PAGE *et al.*, 1997). Sua ocorrência envolve uma complexa interação entre bactérias periodonto-patogênicas, e destas com o hospedeiro.

Apesar da etiologia microbiana primária das DPs, vários fatores associados ao hospedeiro, como fatores genéticos, sistêmicos, comportamentais e fatores ambientais ou locais podem modular o início, progressão, gravidade e resposta terapêutica dessas infecções, embora esses mecanismos ainda não sejam completamente compreendidos (PAGE *et al.*, 1997; KIM *et al.*, 2007, TELES *et al.*, 2013). O fumo, por exemplo, é categorizado como o mais importante fator de risco para o desenvolvimento e progressão da DP (AKL *et al.*, 2010; BAUMER *et al.*, 2011).

A DP é uma das doenças inflamatórias crônicas humanas mais frequentes na população mundial e estima-se que entre 30-50% dos adultos com 30 anos ou mais de idade sejam acometidos por esta doença. (ALBANDAR, 2002; BAEUM & SCHEUTZ, 2002; SHEIHAM & NETUVELI, 2002; DYE, 2012). A mesma corresponde à segunda maior causa de perda dentária no mundo (PETERSEN & OGAWA, 2005), assim como no Brasil, sendo a mais prevalente depois da cárie dentária (MS, 2011).

Essas infecções apresentam manifestações clínicas variadas, assim como uma etiopatogenia específica, o que resultará em abordagens terapêuticas e prognósticos distintos (TONETTI & MOMBELLI, 1999). Dentre os diversos sistemas de classificação das DPs, o mais utilizado foi proposto pela Academia Americana de Periodontia em 1999. Através desta classificação, as DPs agrupam-se duas principais entidades distintas, gengivites e periodontites (ARMITAGE, 1999). A gengivite caracteriza-se como uma inflamação superficial da gengiva, reversível, na qual o epitélio encontra-se íntegro, sem haver perda de inserção, apesar das alterações patológicas (Figura 1, Esquema A). Já a periodontite corresponde a uma inflamação com destruição do periodonto e ocorre quando as alterações patológicas vistas na gengivite progredem até haver destruição do ligamento periodontal e migração do epitélio juncional. Existe um acúmulo de placa nos tecidos mais profundos, causando uma perda de inserção por destruição do tecido conjuntivo e por reabsorção do osso alveolar (Figura 1, Esquema B).

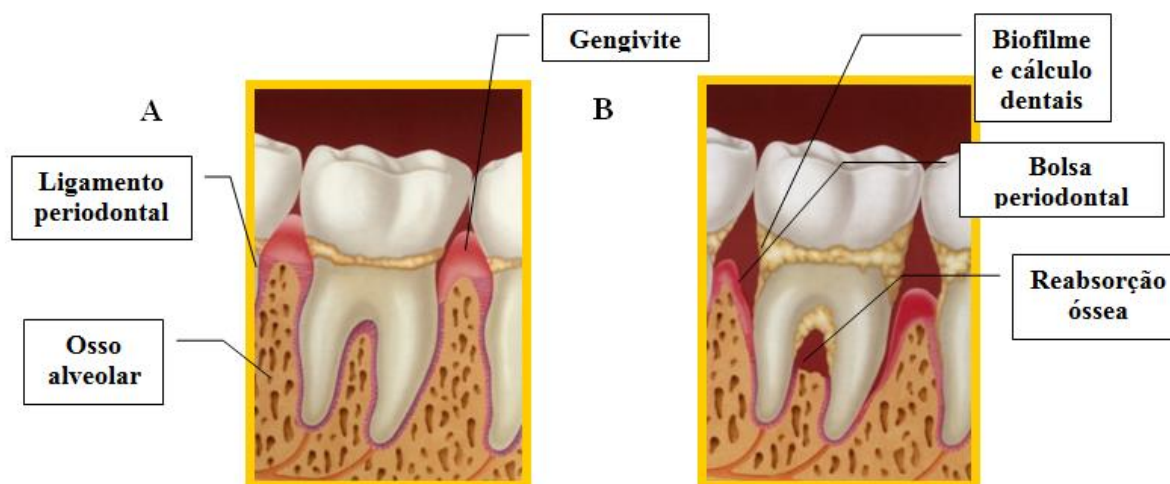


Figura 1. Classificação das doenças periodontais. Esquema A: Periodonto inflamado, sem perda de inserção clínica e óssea alveolar (gengivite). Esquema B: Lesão periodontal com perda óssea e formação da bolsa periodontal (periodontite). Adaptado de CARRANZA *et al.*, 2003.

1.2. Etiologia Microbiana – Biofilme

O biofilme dentário (BD) corresponde a uma comunidade microbiana espacialmente organizada de forma não aleatória aderida à superfície dentária envolvida em uma matriz glicoprotéica (COSTERTON *et al.*, 1999). Microrganismos são capazes de aderir a superfícies, multiplicar-se e co-agregar-se, sendo este um mecanismo primordial para o crescimento de muitas espécies distintas. A formação do biofilme é um fator de virulência, pois confere maior resistência a fatores nocivos ambientais, incluindo os mecanismos de defesa do hospedeiro, presença de microrganismos concorrentes, presença de substâncias potencialmente nocivas, como antimicrobianos, proporcionando maior chance de sobrevivência no hospedeiro e confere também uma maior resistência à ação mecânica. Tem sido demonstrado que existem associações específicas entre diferentes bactérias no BD (RAMS *et al.*, 1997, SOCRANSKY *et al.*, 1988; SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2002). Em 1998, Socransky e colaboradores descreveram que algumas espécies bacterianas orais do biofilme subgengival estavam intimamente relacionadas entre si e agrupavam-se em complexos, e que essas associações dentro desses complexos eram organizadas de forma hierárquica. Esses autores também demonstraram que os complexos apresentavam uma correlação espacial entre si (SOCRANSKY *et al.*, 1988). Os complexos azul, roxo, amarelo e verde correspondem aos microrganismos condizentes com a saúde oral, enquanto que os

complexos laranja e, principalmente, vermelho, estão associados a sítios periodontais e/ou indivíduos portadores de DP (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2002).

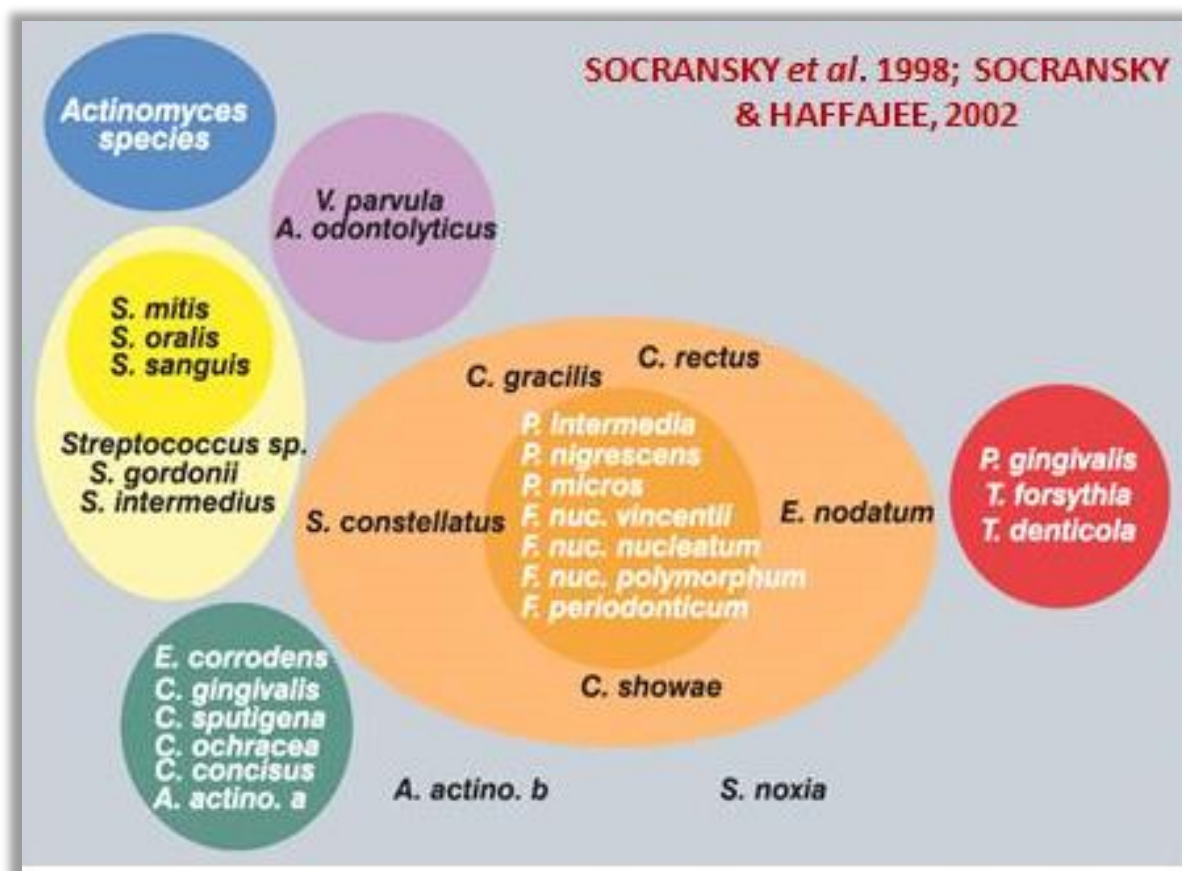


Figura 2.Complexos microbianos no biofilme subgengival. Fonte: SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2002.

Na presença da saúde periodontal há o predomínio de estreptococos orais e espécies de *Actinomyces*, os quais são microrganismos Gram-positivos de baixo potencial patogênico, normalmente considerados colonizadores primários do biofilme periodontal, que possuem um papel benéfico contra a colonização de espécies mais patogênicas (SLOTS, 1979; HAFFAJEE *et al.*, 2009). A presença dessa microbiota normal residente é capaz de inibir a colonização de patógenos (VOLLAARD & CLASENER, 1994), visto que ocupam os sítios de ligações potencialmente utilizados para adesão pelas espécies patogênicas (WADE, 2013). A importância deste efeito pode ser visto quando a microbiota comensal é interrompida, por exemplo, através, do uso de antimicrobianos (SULLIVAN *et al.*, 2001). Outro exemplo é a ausência de um controle adequado do biofilme periodontal que resulta na modificação do microambiente periodontal (inflamação gengival) e favorece o aumento da complexidade e patogenicidade deste biofilme. Nesta condição de gengivite, há um aumento de bactérias

Gram-negativas anaeróbicas (principalmente espécies do complexo laranja), com conseqüente liberação de endotoxinas e outras enzimas que ocasionam a inflamação e irritação gengival, ativando as vias pró-inflamatórias, embora várias bactérias facultativas Gram-positivas e Gram-negativas também possam contribuir para a destruição periodontal (ARMITAGE, 2010; BEIKLER & FLEMMIG, 2011). A doença é totalmente reversível se a higiene oral for reintegrada (LOE *et al.*, 1965), sendo a quantidade de placa bacteriana presente, sua carga e maturidade correlacionados com a gravidade da doença (SOCRANSKY, 1977). Por mecanismos ainda desconhecidos, a gengivite não tratada pode progredir para os tecidos de suporte dos dentes, o que acarreta na periodontite em determinados indivíduos susceptíveis, como um resultado de disbiose entre esse biofilme e o sistema imune do hospedeiro (SLOTS & RAMS, 1991; SOCRANSKY & HAFFAJEE, 1992; WOLFF *et al.*, 1994). Na periodontite, os microrganismos predominantes incluem os membros dos complexos laranja e vermelho (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*), bem como a espécie *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, sendo o clone JP2 associado a um alto potencial leucotóxico contra neutrófilos humanos, fortemente associado às formas agressivas da DP (ARMITAGE, 2010; HENDERSON *et al.*, 2010; KILIAN *et al.*, 2006).

Com o desenvolvimento de métodos moleculares para a detecção de microrganismos em diversos habitats do organismo humano, observou-se que a diversidade da microbiota oral é significativamente maior do que anteriormente estabelecido por métodos tradicionais de cultivo microbiano (PASTER *et al.*, 2001; 2006). Em bolsas periodontais, por exemplo, podem ser detectadas até 400 espécies bacterianas diferentes (PASTER & DEWHIRST, 2009). Além disso, observa-se que cerca de 50% dessas espécies são ainda não cultiváveis ou ainda não foram descritas (PASTER *et al.*, 2001; 2006). Outras espécies microbianas normalmente associadas a infecções em outras partes do organismo humano, bem como espécies ambientais também tem sido descritas em proporções e níveis elevados na infecção periodontal (RAMS *et al.*, 1990; 1992; COLOMBO *et al.*, 2005; 2006; 2009; 2012; FERRARO *et al.*, 2007; SOUTO & COLOMBO, 2008a; 2008b; SUN *et al.*, 2009; CUESTA *et al.*, 2010; HELLER *et al.*, 2011; 2012; ARTESE *et al.*, 2012; SILVA-SENE *et al.*, 2013; SILVA-BOGHOSSIAN *et al.*, 2011; 2014). Entre essas espécies, podemos destacar *Enterococcus faecalis*, *Dialister pneumosintes*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Parvimonas micra*, *Streptococcus anginosus*, *Desulfobulbos* ssp. e o grupo TM7 ssp. O papel desses microrganismos na etiopatogenia das doenças periodontais ainda é desconhecido.

1.3. Controle Mecânico do Biofilme Periodontal

Em diversos estudos (LINDHE & NYMAN, 1975; NYMAN *et al.*, 1975; ROSLING *et al.*, 1976; AXELSSON & LINDHE, 1981; LINDHE & LILJENBERG, 1984), ficou estabelecido o papel fundamental da higiene oral para o sucesso da terapêutica periodontal. Os experimentos clássicos de Loe *et al.* (1965) demonstraram que o acúmulo de placa durante 3 semanas resultava no desenvolvimento de gengivite generalizada. Após a remoção da placa pela re-instituição da higiene oral, a inflamação gengival era então revertida. Outros confirmaram esses achados tanto em humanos como em animais experimentais (LINDHE & NYMAN, 1975; PAYNE *et al.*, 1975; PAGE & SCHROEDER, 1976; MOORE *et al.*, 1982; BRECX *et al.*, 1987; 1988). Procedimentos de higiene bucal também podem influenciar positivamente a ecologia microbiana nas diversas profundidades de bolsas periodontais (SIEGRIST & KORNMAN, 1982; DAHLE'N *et al.*, 1992; AL-YAHFOUFI *et al.*, 1995). Com os avanços tecnológicos dos métodos de diagnóstico microbiológico, tem se demonstrado que a terapia mecânica não cirúrgica periodontal e estratégias de controle da placa supragengival parecem ter um efeito benéfico e duradouro na composição da microbiota subgengival (XIMENEZ - FYVIE *et al.*, 2000; HAFFAJEE *et al.*, 2003; CARVALHO *et al.*, 2004).

Com a finalidade de minimizar, ou até mesmo eliminar o biofilme periodontal patogênico, a raspagem e o alisamento radicular (RAR) é instituída como tratamento básico de referência na terapia periodontal, e consiste na remoção do biofilme e cálculo dentários, cimento e dentina contaminados (NEWMAN & CARRANZA, 2004). A RAR tem seus efeitos clínicos bem documentados, sendo verificada a redução da inflamação, diminuição da profundidade de sondagem e do nível clínico de inserção (MORRISON *et al.*, 1980; BADERSTEN *et al.*, 1981; LINDHE *et al.*, 1983; PIHLSTROM *et al.*, 1983; RAMFJORD *et al.*, 1987; KALDAHL *et al.*, 1993; HAFFAJEE *et al.*, 1997; CARVALHO *et al.*, 2005; COLOMBO *et al.*, 2005). Essas alterações clínicas pós-terapia estão associadas às alterações microbiológicas, como a diminuição nos níveis de patógenos periodontais (SLOTS, 1979; PEDRAZZOLI *et al.*, 1991; HAFFAJEE *et al.*, 1997; COLOMBO *et al.*, 2005). Apesar da grande eficácia da RAR como terapia básica periodontal, verificou-se que esta tem um efeito limitado sobre alguns patógenos (HAFFAJEE *et al.*, 1997; CUGINI *et al.*, 2000; COLOMBO *et al.*, 2005). Isso pode ser devido à dificuldade em se eliminar ou reduzir esses patógenos em regiões de difícil acesso, como sítios com bolsas periodontais profundas (DARBY *et al.*, 2005; DOUNGUDOMDACHA *et al.*, 2001), defeitos de furca (LOOS *et al.*, 1988), bem

como no interior dos tecidos e células epiteliais (COLOMBO *et al.*, 2007; 2009). Além disso, vale salientar que os patógenos periodontais podem colonizar, além da bolsa periodontal, outros sítios intra-orais tais como a língua, amígdalas e membranas mucosas (ASIKAINEN *et al.*, 1991; DANSER *et al.*, 1994; MAGER *et al.*, 2003), podendo ocorrer a translocação intra-oral de patógenos de um sítio para outro.

Há um consenso de que uma meticulosa escovação uma vez ao dia é suficiente para manter a saúde bucal, prevenindo a cárie e doença periodontal (LANG *et al.*, 1973; ATTIN *et al.*, 2005). Diversos métodos, incluindo o uso de escovas de dentes, escovas interdentais e fio dental são regularmente recomendados no controle mecânico de placa. Entretanto, a maioria dos indivíduos não consegue remover de forma eficaz a placa, principalmente de áreas interdentais (CUMMING & LOE, 1973). A eficácia da remoção de placa é, entre outros aspectos, dependente da destreza e rigor dos indivíduos (FRANSEN, 1986; WILSON, 1987). Estudos clínicos demonstram que o controle de placa auto-realizado associado à profilaxia profissional 3 a 6 vezes ao ano pode impedir a progressão da periodontite (AXELSSON & LINDHE, 1981; AXELSSON *et al.*, 1991; 2004). Os resultados da limpeza mecânica forneceram a base para a implementação de conceitos de prevenção, mas ao mesmo tempo, sugeriram a necessidade do desenvolvimento de agentes adjuvantes para o controle químico do BD (ALBERT-KISZELY *et al.*, 2007).

1.4. Controle Químico do Biofilme Periodontal

Evidências confirmam o papel fundamental de uma higiene oral adequada na manutenção da saúde periodontal. Logo, a prevalência disseminada de gengivite no mundo sugere uma certa ineficiência do auto-controle mecânico do BD pela maioria dos indivíduos. A utilização rotineira da escovação e o uso de fio dental diversas vezes pode constituir uma tarefa tediosa e de consumo exagerado de tempo para a rotina de muitos pacientes. Além disso, o controle mecânico do BD pode ser dificultado por fatores locais, como o uso de próteses e aparelhos ortodônticos, mau posicionamento dentário, entre outros (ADDY, 1986; MARECHAL, 1991; BAKER, 1995; CORTELLI & THENÓUX 2007). A terapia periodontal mecânica básica também pode ter sua eficácia limitada por não afetar patógenos periodontais presentes no interior de células e tecidos epiteliais, ou em outros habitats da cavidade bucal que funcionariam como reservatórios de patógenos capazes de recolonizar sítios periodontais tratados.

Com o objetivo de conseguir um controle mais efetivo do BD e minimizar a translocação e disseminação intra-oral cruzada de patógenos periodontais em diferentes

nichos ecológicos, o uso de diversos agentes químicos antimicrobianos, incluindo antibióticos e antissépticos, tem sido preconizado como adjuvantes do controle mecânico de placa e da terapia básica de RAR (DePAOLA *et al.*, 1989; LANG *et al.*, 1982; OVERHOLSER *et al.*, 1990; SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2002). Na última década, em particular, foi proposta uma nova abordagem de terapia periodontal mecânica associada a antimicrobianos, denominada *Full-mouth disinfection* (FMD), que se baseia na completa RAR em um intervalo de 24 horas (QUIRYNEN *et al.*, 1995), ao contrário da terapia periodontal convencional, que envolve a RAR em sextantes ou quadrantes com média de duração de tratamento em 4 a 6 semanas. (KOSHY *et al.*, 2001; QUIRYNEN *et al.*, 2001). Segundo o protocolo original de FMD de Quiryne *et al.* (1995), existem diversos passos que devem ser seguidos (Tabela 1). A terapia de RAR intensiva reduz consideravelmente o número total de bactérias subgengivais patogênicas (HAFFAJEE *et al.*, 1997; LOOS *et al.*, 1988; MOUSQUES *et al.*, 1980), e com isso desenvolve um ambiente favorável para o controle da DP. Em associação à RAR, faz-se uso da irrigação subgengival das bolsas periodontais e escovação da língua com Clorexidina (CHX) gel, (OOSTERWAAL *et al.*, 1989;1991), além do uso de enxaguatório bucal com CHX (RINDOM-SCHIOTT *et al.*, 1976; KALAGNA *et al.*, 1989; MAGNUSSON *et al.*, 1984).

Quadro 1. Protocolo original de desinfecção total da boca introduzido por Quiryne *et al.*(1995).

RAR (toda a dentição em 2 visitas dentro de 24 horas, ou seja, 2 dias consecutivos) sob anestesia local
Escovação do dorso da língua por 1 min com 1% de gel de CHX
Enxágue 2 vezes com 0,2% de CHX por 1 min (durante os últimos 10s, o paciente realiza gargarejo na tentativa de alcançar as amígdalas)
Aplicação de gel de CHX a 1% três vezes por 10 min, após ambas as sessões de RAR, e repetido no 8º dia
Utilização de 10 ml de CHX à 0,2% como enxaguatório bucal, 2 vezes por dia, durante 1 minuto por 2 semanas.
Instruções de higiene bucal, incluindo escovação dentária e da língua, limpeza interdental com escovas interdentais ou outros métodos de controle de placa

Através de um estudo piloto, o grupo de Quiryne comparou os efeitos da terapia de FMD (conforme o protocolo original) com a terapia periodontal convencional em pacientes

com periodontite avançada. Verificou-se que a redução de placa e profundidade de sondagem, assim como dos níveis de espécies patogênicas, foi significativamente maior para o grupo submetido ao FMD no primeiro mês pós-terapia. No entanto, após 2 meses, não houve diferença nos níveis de patógenos entre os grupos. Posteriormente, resultados à longo prazo deste estudo piloto foram reproduzidos e os achados clínicos foram favoráveis à terapia de FMD, com redução significativamente maior da profundidade de sondagem e ganho de inserção em bolsas profundas até 8 meses pós-terapia (BOLLEN *et al.*, 1996; VANDEKERCKHOVE *et al.*, 1996). Análises microbiológicas revelaram uma redução significativa de espécies patogênicas (BOLLEN *et al.*, 1996), porém não a um nível de significância estatística ao final do estudo. Bollen e colaboradores (1998) utilizaram o protocolo original parcialmente modificado, com o uso de CHX como enxaguatório bucal estendido por 2 meses, e incluindo spray de CHX com a finalidade de desinfecção adicional das amígdalas. Aos 2 meses, verificou-se uma redução significativa de BD e gengivite em relação ao controle. A análise microbiológica demonstrou uma redução significativa de microrganismos com motilidade e espiroquetas nos 2 grupos, sendo a redução no grupo FMD maior. Esta maior redução foi atribuída ao uso prolongado de CHX e à boa higiene oral mantida pelos pacientes, tempo necessário para estabelecer um ambiente menos adequado para o estabelecimento de bactérias patogênicas (KOSHY *et al.*, 2004). Outros estudos também reportaram resultados clínicos e microbiológicos favoráveis empregando modificações da FMD, como o uso de outros antimicrobianos tópicos que não a CHX, antimicrobianos sistêmicos, e terapia de RAR com ultra-som (QUIRYNEN *et al.*, 2000; QUIRYNEN *et al.*, 2006; KNÖFLER *et al.*, 2007). Por exemplo, Zanatta *et al.* (2006) testaram a ação do iodopovidona a 0,5%, Cosyn *et al.* (2007) utilizaram gel de CHX altamente concentrado para aplicação subgengival e Cortelli *et al.* (2009) empregaram os óleos essenciais como antimicrobiano combinado à FMD. Todos esses autores reportaram um efeito benéfico adicional na redução da placa e inflamação gengival em relação ao grupo controle. Já estudos utilizando antimicrobianos de ação sistêmica associados à FMD reportaram resultados bastante variados (Gomi *et al.*, 2007; Moreira & Feres-Filho 2007; Cionca *et al.*, 2009; Ribeiro *et al.*, 2010; Yashima *et al.*, 2009). Em geral, houve redução na ocorrência de bacteremia, mas maior ocorrência de efeitos adversos como diarreia, principalmente quando se fez uso da azitromicina.

1.5. Antimicrobianos tópicos utilizados no controle do biofilme dental

Os antissépticos são agentes antimicrobianos fundamentais para o tratamento de infecções associadas à biofilme, visto que podem destruir diversos componentes de bactérias, vírus e leveduras, eliminando praticamente o risco de desenvolvimento de resistência, além de não interagirem com medicamentos de administração sistêmica (ROBERTS & MULLANY, 2010). Por apresentar um elevado grau de segurança, antissépticos sob a forma de enxaguatórios (colutórios) orais têm sido preconizados como agentes químicos adjuntos ao controle do BD e da gengivite, e manutenção da terapia periodontal convencional (WU & SAVITT, 2002; BAEHNI & TAKEUCHI, 2003; HUJOEL *et al.*, 2005; ADDY, 2008). Já foi verificado que quando associado com a RAR, o antisséptico bucal resulta numa redução de patógenos periodontais mais eficaz (ROSLING *et al.*, 1986), bem como maior ganho de inserção periodontal (ROSLING *et al.*, 1983; ROSLING *et al.*, 1986; RAMS & SLOTS, 1996). Feres *et al.* (2009) compararam os efeitos clínicos e microbiológicos da RAR isoladamente, RAR associada ao controle mecânico profissional do BD, ou RAR associada ao uso do enxaguatório bucal contendo clorexidina em indivíduos com periodontite crônica. Verificou-se que os tratamentos, quando associados, apresentaram melhorias clínicas em relação à RAR apenas, sendo as alterações microbiológicas benéficas mais evidentes em indivíduos tratados com CHX (FERES *et al.*, 2009).

Os enxaguatórios representam uma forma de veiculação de substâncias antissépticas, sendo constituída de uma mistura de substâncias antimicrobianas, água e/ou álcool, surfactantes, umectantes e flavorizantes (TORRES *et al.*, 2000). Sua principal característica está relacionada com a substantividade, que corresponde a capacidade do agente químico manter-se ativo na cavidade bucal por uma máxima quantidade de tempo, sendo a mesma variada nos diversos produtos disponíveis no mercado.

O público em geral, incluindo os profissionais da área odontológica, é massivamente exposto a propagandas de inúmeros produtos de higiene oral que aclamam que estes melhoram diversas condições relacionadas a infecções orais. Muitos desses produtos já estão no mercado há bastante tempo e possuem boa aceitação, apesar de muitos apresentarem falsos efeitos terapêuticos (WU & SAVITT, 2002; ADDY, 2008). A eficácia e segurança desses produtos é normalmente regulada pela American Dental Association (ADA) e Food and Drug Administration (FDA). Em 2003, um comitê da FDA (FDA's Dental Plaque Subcommittee of the Non-prescription Drugs Advisory Committee) publicou as normas que reconhecem a eficácia e segurança de produtos orais para prevenção do BD e gengivite (WU & SAVITT, 2002; FDA, 2003). O FDA divide esses produtos em 3 categorias. Categoria I: o

ingrediente ativo do produto é seguro, eficaz e o rótulo é condizente com o conteúdo do produto e sua ação. Categoria II: o ingrediente não é normalmente reconhecido como seguro e eficaz, e o rótulo do produto não condiz com seu conteúdo. Categoria III: não há dados suficientes para avaliar a segurança e eficácia do produto.

Dentre os diversos agentes químicos com efeito anti-placa e anti-gengivite utilizados como ingredientes ativos em enxaguatórios orais, os antissépticos mais frequentemente usados nas formulações disponíveis no mercado são o cloreto de cetilpiridínio, triclosan, digluconato de clorexidina e os óleos essenciais (WU & SAVITT, 2002; BAEHNI & TAKEUCHI, 2003; HUJOEL *et al.*, 2005; MARINHO & ARAÚJO, 2007; ADDY, 2008). O quadro a seguir sumariza esses principais antissépticos, seu mecanismo de ação e efeitos colaterais.

Quadro 2. Classificação dos antissépticos comumente utilizados nos enxaguantes bucais, seu mecanismo de ação e efeitos colaterais.

Antisséptico	Classificação	Mecanismo de Ação	Efeitos Colaterais
Clorexidina	Bisbiguanida	Inibição do transporte de açúcar e produção de ácido; inibição da captação de aminoácidos, síntese de polissacarídeos e funções da membrana celular, inibição da atividade da protease.	Gosto amargo, manchamento de dentes, língua e restaurações, alteração no paladar.
Iodopovidona	Iodopovidona	Oxidação dos grupos amino, triol e hidroxilo fenólico.	Reações alérgicas, coceira, ardor, vermelhidão e bolhas.
Cloreto de Cetilpiridíneo	Quaternário de amônia	Alteração na membrana celular; inibição de crescimento e morte celular.	Alteração na cor dos dentes, restaurações e língua, irritação da mucosa oral.
Óleos Essenciais	Óleos essenciais	Inibição da produção de ácido e crescimento bacteriano; inibição da síntese de polissacarídeos.	Ardor e descamação da mucosa oral.
Triclosan	Fenol	Inibição do transporte de açúcar e produção de ácido; inibição de proteases.	Alergias, alteração hormonal, resistência antimicrobiana.

1.5.1. Clorexidina

A CHX é considerada o agente quimioterápico padrão-ouro no controle do BD e da gengivite (ADDY & MORAN, 1997). Desenvolvida na década de 40, a CHX é uma bisbiguanida (Figura 3), extensamente utilizada na área da Medicina e Odontologia. Na área odontológica, a CHX inicialmente foi utilizada em cirurgias com a finalidade de desinfecção pré-cirúrgica da boca por apresentar um amplo espectro, exercendo atividade contra bactérias, fungos e alguns vírus (SLOTS *et al.*, 1991). Seu poder antibacteriano está relacionado com a sua estrutura de molécula bicatiônica que interage com a superfície celular bacteriana carregada negativamente. Após adsorvida, a integridade celular da bactéria é alterada, resultando em um vazamento de componentes de baixo peso molecular do citoplasma celular (DENTON, 1991), provocando danos aos microrganismos. Sua principal característica é a alta substantividade, que corresponde à capacidade da substância química aderir em superfícies de tecidos moles e duros, o que lhe permite agir durante um longo período após sua aplicação, sendo a mesma de aproximadamente 12 horas (ADAMS & ADDY, 1994). A CHX é considerada uma substância segura, estável e eficaz na prevenção e no controle da formação de BD e inibição do desenvolvimento de gengivite (LOE *et al.*, 1976; LANG & BRECX, 2006; GUNSOLLEY, 2010). Para esta finalidade, a CHX está disponível numa diversidade de concentrações, sendo a de 0,2% a mais utilizada e considerada a concentração padrão internacional (MANDEL, 1994; HASE *et al.*, 1998; NETO *et al.*, 2008). Uma concentração mais baixa de CHX (0,12%) foi testada em diversos estudos e também tem demonstrado benefícios clínicos (KEIJSER *et al.*, 2003; Van STRYDONCK *et al.*, 2005). Devido à necessidade de diminuir os efeitos colaterais, como gosto amargo, coloração marrom de dentes, língua e restaurações, alterações no paladar (FLOTRA *et al.*, 1971; WATTS & ADDY, 2001), uma variedade de antissépticos contendo CHX em menores concentrações encontram-se disponíveis: 0,1%, 0,05% e 0,06%. No entanto, a eficácia da CHX em baixas concentrações na redução na inflamação gengival ainda não está bem esclarecida (JOYSTON-BECHAL & HERNAMAN, 1993; HOFFMANN *et al.*, 2001; CLAYDON *et al.*, 2002; ZIMMER *et al.*, 2006; DUSS *et al.*, 2010). Em uma revisão sistemática sobre o efeito de um enxaguante bucal de 0,12% e 0,2% de CHX na redução do BD e gengivite, concluiu-se que existe uma pequena diferença significativa no efeito somente sobre o BD a favor da concentração de 0,2%, não havendo diferença entre as duas concentrações na redução da gengivite (BERCHIER *et al.*, 2010). A CHX ainda pode ser utilizada em outras formas, como na consistência de gel na concentração de 1%, por um período de aproximadamente 15 dias, e também na concentração de 0,012%, podendo ser

usada por longo prazo (FRANCIS *et al.*, 1987a; FRANCIS *et al.*, 1987b; PIENIHAKKINEN *et al.*, 1995; PORRAS *et al.*, 2002). Em relação ao uso da CHX em dentifrícios, Slot *et al.* (2007) não observaram diferenças na redução do BD quando compararam a CHX à 0,12% utilizada como creme dental ou enxaguante bucal.

1.5.2. Iodopovidona

O iodopovidona constitui um antisséptico importante no tratamento da doença periodontal, e uma variedade de outras infecções orais (SLOTS, 2002), por ser um agente bactericida, fungicida e anti-viral. Seu mecanismo de ação decorre da oxidação dos grupos amino, triol e hidroxilo fenólico (Figura 3), sendo capaz de matar a maioria das bactérias em crescimentos planctônicos, apesar de ter uma ação diminuída em bactérias sésseis em formações de biofilme (ANDERSON *et al.*, 1990). Encontra-se disponível comercialmente na forma de iodopovidona em uma solução a 10% em água, sendo capaz de agir contra os principais periodontopatógenos *in vitro* dentro de 15 -30s (SHIRAISHI & NAKAGAWA, 2002; NAKAGAWA *et al.*, 2006). Estudos têm mostrado uma melhora na condição periodontal após o tratamento com iodopovidona (RAHN, 1993; RIBEIRO *et al.*, 2010; SAHRMANN *et al.*, 2010). Hoang e colaboradores (2003) estudaram o efeito da irrigação subgingival com iodopovidona associada à RAR em bolsas periodontais com evidência radiográfica de cálculo subgingival. Os autores verificaram uma redução de 95 a 100% nos níveis de patógenos periodontais em 44% das bolsas após irrigação. A American Heart Association e a ADA (DAJANI *et al.*, 1997) recomendam o enxágue com iodopovidona nos sítios dentários antes de procedimentos odontológicos invasivos para reduzir o risco de bacteremia. Esta aplicação pode ser realizada com auxílio de uma seringa próximo da base de bolsas periodontais, ou ainda, através do uso de gaze embebida em iodopovidina (REIMER *et al.*, 2002). Entretanto, seu uso é limitado por desencadear reações alérgicas, que incluem coceira, ardor, vermelhidão e bolhas no local de tratamento, manchamento dos dentes e/ou outros tecidos bucais.

1.5.3. Triclosan

O Triclosan ou triclosano é um composto fenólico não iônico com ação antimicrobiana de largo espectro, que atua sobre a membrana citoplasmática de bactérias, impedindo a captação de aminoácidos em concentrações bacteriostáticas. Em concentrações bactericidas, provoca uma desorganização da membrana bacteriana, extravasamento de alguns componentes celulares, e conseqüentemente a morte celular (PANAGAKOS *et al.*,

2005). Por mais de 40 anos, o triclosan vem sendo amplamente utilizado como antisséptico em uma grande variedade de produtos de higiene pessoal, incluindo enxaguantes bucais e dentífricos, como também cosméticos, utensílios de cozinha e brinquedos plásticos para crianças. Nos produtos de higiene bucal, o triclosan é mais efetivo em combinação com o citrato de zinco (tem efeito sinérgico, aumentando sua ação antimicrobiana) ou com o copolímero metil vinil éter e anidrido maléico, o qual aumenta sua retenção na superfície dentária, e conseqüentemente sua substantividade (BAUROTH *et al.*, 2001). As concentrações utilizadas nesses produtos podem variar de 0,1 a 1%, sendo as concentrações nos cremes dentais e enxaguantes entre 0,2 e 0,3%. Os dados obtidos a partir de estudos clínicos reportando o uso do triclosan como enxaguatório bucal e como componente dos cremes dentais, demonstraram que o triclosan conseguiu reduzir significativamente o acúmulo de biofilme, entretanto não demonstrou efeitos na prevenção da inflamação gengival (CLANAHAN & BARTIZEK 2002; PIRES *et al.*, 2003).

Entretanto, muitos enxaguantes orais disponíveis no mercado removeram o triclosan de suas formulações e substituíram por outro componente ativo, por exemplo, o uso de CCP em concentrações mais elevadas, devido aos efeitos colaterais reportados pelo uso do triclosan. Órgãos de vigilância sanitária e controle de medicamentos afirmam que este composto é seguro, porém alguns estudos apresentaram resultados contraditórios sobre sua utilização do triclosan nesses produtos (CLANAHAN & BARTIZEK 2002; PIRES *et al.*, 2003). Dentre os efeitos deletérios aos seres vivos, destacam-se as alterações hormonais, desenvolvimento de alergias, indução de bactérias resistentes a antibióticos, e degradação em dioxina, composto organoclorado que tem ação cancerígena e extremamente tóxico (YUEH & TUKEY 2016). Esse produto degradado no meio ambiente tem efeito acumulativo e pode afetar animais e plantas (YUEH & TUKEY 2016). Apesar de aprovado pelo Food and Drugs Administration (FDA), os órgãos reguladores de medicamentos estão atualmente revisando os perigos do uso de triclosan. Empresas como Johnson & Johnson® e Avon® anunciaram planos para remover esta substância química de suas linhas de produtos de consumo.

1.5.4. Cloreto de Cetilpiridíneo

O Cloreto de Cetilpiridíneo (CCP) é um amônio quaternário (Figura 3), catiônico, com atividade antimicrobiana contra um amplo espectro bacteriano (KELLER & TERRIS, 1964; BAKER *et al.*, 1941; JENKINS *et al.*, 1994), que tem como mecanismo de ação a penetração na membrana celular bacteriana, provocando alterações no seu metabolismo, inibição de crescimento e morte celular (QUISNO & FOTER, 1946; HUGO & LONGWORTH, 1965;

IKEDA & TAZUKE, 1985; BLOCK, 1991). Bochechos à base de CCP foram comercializados nos Estados Unidos desde 1940. Os dados obtidos a partir de estudos clínicos demonstraram redução significativa da placa supragengival com o uso de bochechos contendo 0,05% a 0,1% de CCP (CIANCIO *et al.*, 1975; MORAN & ADDY, 1991; RENTON-HARPER *et al.*, 1996). Apesar da eficácia anti-placa, os resultados anti-gengivite parecem ser controversos (CIANCIO *et al.*, 1992; KORNMAN, 1986). Albert-Kiszely *et al.* (2007) compararam os efeitos de um enxaguatório bucal experimental contendo 0,07% de CCP com o enxaguatório bucal contendo óleos essenciais (OE) sobre o acúmulo de BD e prevenção de gengivite durante 6 meses. Os autores demonstraram não haver diferença significativa nos efeitos anti-placa e anti-gengivite entre os grupos. Com o objetivo de aumentar a substantividade, novas formulações vêm sendo testadas, dentre elas o uso de CPC a 0,07% e sem álcool. Em um estudo clínico com 6 meses de duração, os resultados mostraram que a redução de placa e gengivite foi tão eficaz quanto à dos óleos essenciais, tidos como controles positivos (WITT *et al.*, 2005). O CCP apresenta como efeito adverso alteração na cor dos dentes, restaurações e língua, além de irritação da mucosa oral, que pode ocorrer principalmente em indivíduos com hipossalivação.

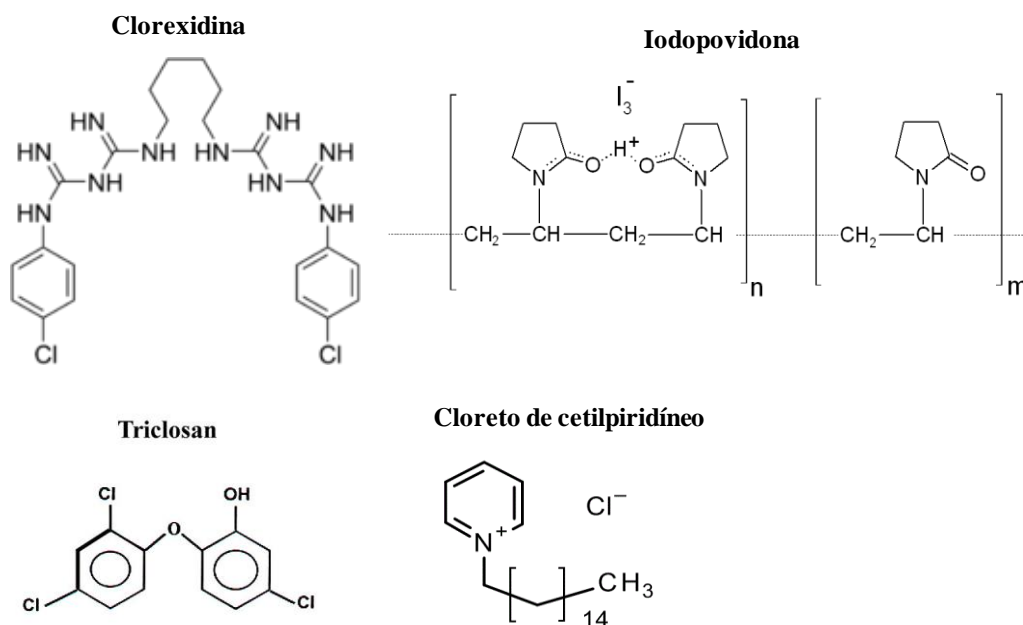


Figura 3. Estrutura molecular dos antissépticos clorexidina, iodopovidona, triclosan e cloreto de cetilpiridíneo.

1.5.5. Óleos Essenciais

Os OE tiveram sua aprovação pela ADA em 1987 (COUNCIL ON DENTAL THERAPEUTICS, 1986; DePAOLA *et al.*, 1989; OVERHOLSER *et al.*, 1990; GORDON *et al.*, 1985). Sua composição apresenta uma combinação de ingredientes fixos ativos de timol (0,064%), eucaliptol (0,092%), salicilato de metila (0,06%), e mentol (0,042%). Esta formulação, derivada do trabalho original de Lister com ácido carbólico, é um dos antissépticos bucais com a mais longa história, desde o século XIX. Os OE apresentam um largo espectro antimicrobiano, afetando microrganismos Gram-positivos, Gram –negativos e leveduras. Sua eficácia é atribuída em função da sua atividade bactericida, provocando ruptura da parede celular e inibição de enzimas (FINE *et al.*, 1996). No entanto, os OEs podem também atuar na superfície dos dentes, dificultando a colonização bacteriana (FINE *et al.*, 1996). O efeito destes agentes como substância anti-placa e anti-gengivite tem sido bem documentado, sendo justificado seu uso como regime diário de higiene oral (BARNETT, 2003; 2006). Porém, os mesmos podem apresentar efeitos adversos que incluem ardor e descamação da mucosa oral. A eficácia e segurança de enxaguatório bucais contendo uma fixa combinação de OE foi demonstrada em diversos ensaios clínicos, tanto em relação à inibição da formação de BD, quanto de gengivite (LAMSTER *et al.*, 1983; GORDON *et al.*, 1985; DePAOLA *et al.*, 1989; OVERHOLSER *et al.*, 1990; CHARLES *et al.*, 2000; 2001; SHARMA *et al.*, 2002; 2004; GORDON *et al.*, 1985; BAUROTH *et al.*, 2002). Nesses estudos com 6 meses de duração, observou-se a redução do BD supragengival em comparação ao grupo controle, assim como o efeito anti-gengivite. Em um trabalho que avaliou a penetração dos OE no BD, após o uso de enxaguatório bucal com OE verificou-se que 78,7% dos microrganismos nas amostras de BD foram eliminados em comparação a 27,9% no grupo placebo (PAN *et al.*, 2000). Esses achados indicaram que os OEs são capazes de penetrar na matriz extracelular do BD e exercer seu efeito antimicrobiano nas bactérias inseridas nessa estrutura. Posteriormente, Fine e colaboradores (2005, 2007a, 2007b) demonstraram que o uso de enxaguante bucal contendo OE, duas vezes ao dia por 14 dias, resultava em uma redução significativa de mais de 50% de várias espécies do biofilme supragengival e subgengival, incluindo uma redução de 88,5% de anaeróbios totais em comparação ao placebo.

1.6. Hipoclorito de Sódio

Além dos agentes antissépticos descritos previamente, o Hipoclorito de sódio (NaOCl) tem sido proposto como um potente antisséptico oral que pode ser utilizado como

coadjuvante no controle do BD, tendo como uma das principais vantagens o seu baixo custo. A utilização do NaOCl como desinfetante e esterilizante começou há mais de um século atrás (BLOCK, 1991; RUTULA & WEBER 1995). Em 1744, com a descoberta do cloro, pelo químico sueco Scheele, foi inaugurada a era da química. Em 1825, o Francês Labarraque relatou a utilização de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ no saneamento geral das morgues, esgotos, latrinas, estábulos, enfermarias de hospitais, navios e prisões. O mesmo informou que os Cirurgiões de Paris alcançaram grande sucesso em casos de carbúnculo, gangrena hospitalar, úlceras e queimaduras, quando as feridas eram cobertas com pensos que continham uma solução aquosa diluída de NaOCl (*apud*BLOCK, 1991). Durante a Primeira Guerra Mundial, Dakin introduziu o uso de solução de NaOCl (0,05 %) para a anti-sepsia de feridas abertas e infectadas (*apud*CURSONS et al., 1980). Em 1984, Traube estabeleceu o uso de NaOCl no tratamento da água, e posteriormente este agente passou a ser utilizado em todo o mundo, por desempenhar um papel importante na saúde pública, reduzindo a transmissão cruzada de agentes infecciosos através de água potável e de superfícies ambientais. O NaOCl (Figura 4) possui um alto poder citotóxico, por isso é um dos mais potentes agentes antissépticos e desinfetantes eficaz contra bactérias, fungos e vírus. É hidrolisado em água, formando o ácido hipocloroso (HOCl) e o íon hipoclorito (OCI). O ácido hipocloroso é dividido em ácido clorídrico (HCl) e o átomo de oxigênio (O), que é um forte oxidante. O equilíbrio entre ácido hipocloroso e o íon hipoclorito permite a neutralização da molécula de ácido hipocloroso, que se difunde através da parede celular microbiana e altera o potencial de oxidação-redução da célula. No interior da célula, a molécula de NaOCl reage com as proteínas, os ácidos nucleicos e lipídios, inativando enzimas essenciais ao metabolismo dos microrganismos (Figura 5).

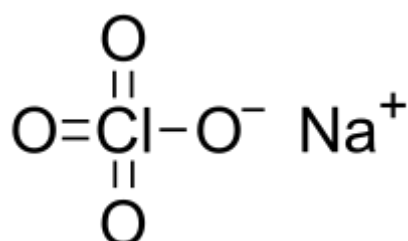


Figura 4. Estrutura molecular do Hipoclorito de Sódio.

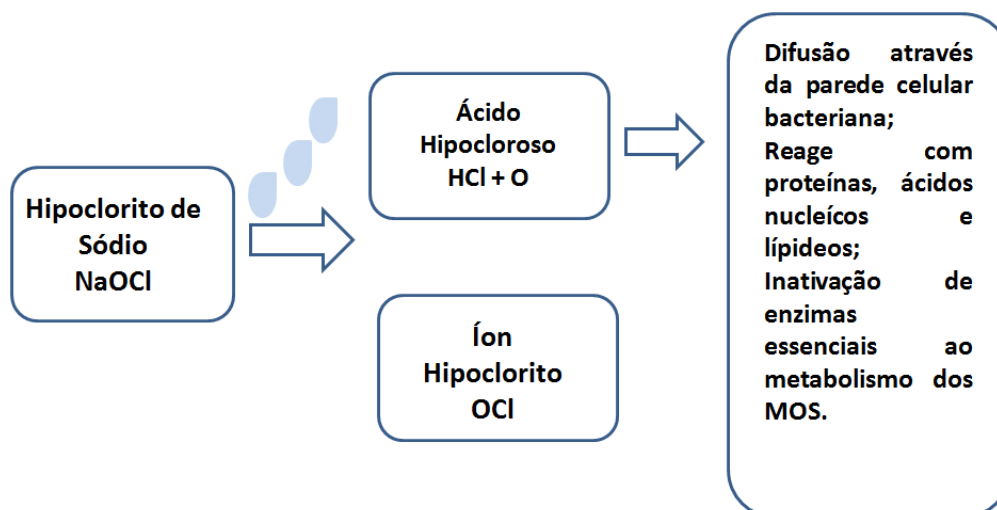


Figura 5. Mecanismo de ação do Hipoclorito de Sódio.

Dentre as diversas vantagens do uso do NaOCl pode-se destacar a ocorrência natural em neutrófilos humanos, monócitos e macrófagos (HARRISON & SCHULTZ, 1976); a ausência de indução de reações alérgicas; o fato de não ser carcinogênico ou teratogênico, com um histórico de segurança de um século; e o baixo custo (BRUCH, 2007). O Conselho da ADA sobre terapêutica odontológica designou o NaOCl a 0,1% como antisséptico bucal e sugeriu seu uso para aplicação direta nas membranas mucosas (AMERICAN DENTAL ASSOCIATION, 1984). O NaOCl diluído não apresenta contra-indicações e seu alto grau de segurança permite o uso freqüente, rotineiro e amplo por cirurgiões-dentistas e pacientes. Além disso, encontra-se amplamente disponível como água sanitária em concentrações de 5-6 %, com custo excepcionalmente baixo. Na Odontologia, o NaOCl tem sido utilizado há mais de um século como desinfetante do canal radicular (MOHAMMADI, 2008). A boa aceitação desta solução como irrigante de canais radiculares deve-se as suas excelentes propriedades, incluindo a capacidade de dissolver tecidos orgânicos, ser antimicrobiano, possuir pH alcalino, promover o clareamento, ser desodorizante e ter baixa tensão superficial (CLARKSON & MOULE, 1998; MARCHESAN *et al.*, 1998; PAIVA *et al.*, 1989; PÉCORA *et al.*, 1997;1999; ESTRELA, 2002; SIQUEIRA *et al.*, 2002). O NaOCl, ao contrário da CHX, não apresenta substantividade, isto é, sua atividade antimicrobiana resume-se apenas ao momento da irrigação (WHITE *et al.*, 1997). Diferentes concentrações do NaOCl são empregadas durante o preparo biomecânico, podendo ser encontradas no mercado sob a forma de diferentes soluções, tais como o Líquido de Dakin (NaOCl a 0,5% neutralizada por ácido bórico); Líquido de Dausfrene (NaOCl a 0,5% neutralizada por bicarbonato de sódio);

Solução de Milton (NaOCl a 1,0% estabilizada por cloreto de sódio); Licor de Labarraque (NaOCl a 2,5%); Soda Clorada (NaOCl entre 4 e 6%); e Água Sanitária (NaOCl entre 2 e 2,5%). Porém, não existe uma unanimidade na escolha das mesmas como irrigante intracanal (LEONARDO, 2005).

Como enxaguatório bucal, o NaOCl exerce uma ampla atividade antimicrobiana contra o biofilme oral (SPRATT *et al.*, 2001; BUERGERS *et al.*, 2008; CHÁVEZ DE PAZ *et al.*, 2010; GOSAU *et al.*, 2010). Em um estudo realizado por Lobene e colaboradores (1972), estudantes universitários deixaram de realizar a higiene oral diária e passaram apenas a realizar o bochecho com o NaOCl a 0,5% (solução Carrel-Dakin) com a finalidade de observar os efeitos clínicos desta substância. Os autores observaram que o uso da solução de NaOCl foi capaz de reduzir em 47% a quantidade de biofilme dentário em comparação ao controle com água destilada. Além disso, escores de pré-tratamento de gengivite foram mantidos no grupo que utilizou o enxágüe com NaOCl, enquanto os escores de gengivite no grupo controle aumentaram em 50%. Esses autores também demonstraram que o NaOCl alterou para ≥ 24 h, a capacidade do BD de produzir ácidos orgânicos após desafio com sacarose, o que sugere um potencial efeito anti-cárie. (LOBENE *et al.*, 1972). Já De Nardo *et al.* (2012) avaliaram os efeitos de enxaguante com NaOCl a 0,05% no controle de inflamação gengival. Após um período de terapia periodontal profissional, usando um modelo experimental de gengivite, os indivíduos substituíram durante 21 dias todos os métodos de higiene oral pelo enxaguante. Houve uma redução de 47% no BD e 48% na inflamação gengival no grupo que usou NaOCl em relação ao grupo placebo (água destilada). Posteriormente, Gálvan e colaboradores (2014) realizaram um estudo randomizado e controlado para avaliar o efeito do enxaguante de NaOCl a 0,25%, utilizado 2 vezes por semana, durante 3 meses. Em relação ao controle, o NaOCl a 0,25% resultou em uma significativa diminuição de BD e sangramento à sondagem, o que constitui uma abordagem promissora para o tratamento da doença periodontal. Entretanto, o mal gosto foi o principal efeito adverso relatado (GÁLVAN *et al.*, 2014). Outro estudo relatou uma redução significativa no sangramento à sondagem, mesmo em bolsas periodontais profundas, após uso do NaOCl a 0,25% utilizado duas vezes por semana como enxaguatório oral (Gonzalez e colaboradores 2015). Recentemente, Bizzarro e colaboradores avaliaram através de um RCT o efeito clínico e microbiológico da desinfecção local NaOCl à 0.5% com ou sem agentes antimicrobianos sistêmicos associado à RAR durante o período de 12 meses, não sendo encontrado efeitos adjuntos com a utilização do NaOCl isolado e associado com antibióticos quando comparados a RAR. (BIZZARRO *et al.*, 2016).

Quadro 3. Estudos que utilizaram o NaOCl, metodologia utilizada, concentração e seus resultados.

Autor, Ano	Metodologia utilizada	Concentração de NaOCl	Resultados
Lobene et al., 1972	Modelo de Gengivite Experimental	0,5%	↓47% Índice de Placa ↓50% Índice Gengival Modificado
DeNardo et al., 2012	Modelo de Gengivite Experimental	0,05%	↓47% Índice de Placa ↓48% Índice Gengival Modificado
Gálvan et al., 2014	Bochecho de NaOCl em pacientes diagnosticados com periodontite	0,25%	Superfícies livres de placa: Vestibular ≠ 3,2X ; Linguais: ≠ 6,5 X e ≠14,5 X sem sangramento à sondagem
Gonzalez et al., 2015	Bochecho de NaOCl em pacientes diagnosticados com periodontite	0,25%	Redução significativa no sangramento à sondagem
Bizzarro et al., 2016	Irrigação na bolsa periodontal + uso de antimicrobianos sistêmicos	0,5%	Não foi encontrado efeito adjunto no uso de NaOCl isolado e associado com antibióticos quando comparados a Raspagem e Alisamento Radicular

Apesar do número limitado de estudos disponíveis na literatura nacional e internacional, evidências indicam que o NaOCl na forma de enxaguante bucal apresenta alta eficácia antimicrobiana sobre o BD e promove a redução da inflamação gengival. Assim, considerando a ampla disponibilidade, o baixo custo e a alta eficácia desse antisséptico, mais estudos clínicos randomizados e controlados necessitam ser desenvolvidos para a avaliação do uso rotineiro do NaOCl como uma estratégia alternativa adjunta à terapia mecânica para o controle do BD e inflamação periodontal.

2. PROPOSIÇÃO

Avaliar o efeito da solução de NaOCl à 0,1%, utilizada como enxaguante bucal, adjunto à profilaxia periodontal mecânica na redução do biofilme supragengival, inflamação gengival, e níveis de patógenos periodontais e oportunistas em indivíduos portadores de gengivite.

3. MANUSCRITO CIENTÍFICO

Original Article

Lack of adjunctive effect of 0.1% sodium hypochlorite oral rinse combined to prophylaxis on supragingival biofilm, gingival inflammation and oral microbiota: a 6-month RCT.

Running title: Effects of NaOCl mouthwash on biofilm, gingivitis and pathogens

Laís Christina Pontes Espíndola^{1,2}, Ana Paula Vieira Colombo^{1,2}

¹ School of Dentistry, Department of Clinics, Federal University of Rio de Janeiro, and

²Institute of Microbiology, Department of Medical Microbiology, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

***Corresponding author:**

Dr. Ana Paula V. Colombo

UFRJ/CCS - Instituto de Microbiologia Paulo de Góes - Bloco I, lab. I2-03; Av. Carlos Chagas Filho, 373 Cidade Universitária - Rio de Janeiro, RJ, Brasil - CEP: 21941-902 -

Email: apcolombo@micro.ufrj.br

Conflict of interest and source of funding: The authors declare that they have no conflict of interests. This work was supported in part by National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), and Coordination of Improvement of Higher Education

Personnel (CAPES), Brasilia, Brazil; and Foundation for Research Financial Support in the State of Rio de Janeiro (FAPERJ), Rio de Janeiro, Brazil.

Clinical relevance

Scientific rationale for the study: Different mouthwashes have been proposed for controlling biofilm and gingivitis. Few studies, however, using sodium hypochlorite (NaOCl) are available. NaOCl presents high antimicrobial efficacy and safety, and low cost. In this RCT, we tested the efficacy of 0.1 % NaOCl as an adjunctive oral rinse to professional ultra-sonic prophylaxis on reducing supragingival biofilm, gingival inflammation and levels of microbial pathogens in gingivitis patients over a period of 6 months.

Principal findings: The use of 0.1 % NaOCl as mouthwash associated to professional ultra-sonic prophylaxis had no additional beneficial effect on periodontal clinical parameters, mainly on reduction of supragingival biofilm and gingivitis over time. Likewise, similar decreases in oral microorganism levels were observed for both the therapeutic groups after 6 months of monitoring.

Practical implications: Although NaOCl presents high antimicrobial efficacy and it is widely available at low cost, its use at 0.1% as an oral rinse does not provide an adjunctive effect to mechanical professional ultra-sonic prophylaxis for controlling supragingival biofilm, gingivitis and microbial pathogens.

Abstract

Aim: To test the adjunctive effect of 0.1% Sodium hypochlorite (NaOCl) oral rinse combined to ultra-sonic prophylaxis on reducing supragingival biofilm, gingival inflammation and levels of microbial pathogens. **Methods:** In this 6-month double-blinded RCT, 32 individuals with gingivitis were assigned to the NaOCl (n = 16) or placebo group (n = 16), and received professional ultra-sonic prophylaxis followed by rinsing with 0.1% NaOCl or distilled water, respectively, twice a day for 1 month. Full mouth periodontal examination was performed at baseline, 1, 3 and 6 months post-therapy. Subgingival biofilm and saliva samples were obtained at the same time points and analysed for their composition by checkerboard. Differences between groups over time were examined by Student t test, Mann-Whitney, GLM, Friedman and Chi-square tests. **Results:** Both therapeutic protocols resulted in significant clinical improvement in periodontal parameters over time, except for probing depth and attachment level which had a slight increase ($p < 0.01$). No significant differences between groups were observed ($p > 0.05$). Most species in saliva increased in mean counts, whereas $> 67\%$ of the species in the subgingival biofilm decreased similarly in levels in both groups over time. Significant reductions in the microbial complexes were seen mainly at 1 and 3 months post-therapy, but they returned to baseline levels in both groups, except for the red and yellow complexes, and other oral species which were kept in low levels at 6 months ($p < 0.05$, GLM). **Conclusions:** The use of 0.1% NaOCl as mouthwash did not provide an additional benefit to periodontal mechanical prophylaxis in reducing supragingival biofilm, gingivitis and microbial pathogens.

Key Words: Dental Biofilm; Saliva; Gingivitis; Plaque Control; Periodontal Prophylaxis; Mouthrinses; Sodium Hypochlorite; Checkerboard; Oral Microbiota.

Introduction

Periodontal disease is an inflammatory condition of infectious etiology that affects millions of people worldwide (Albandar 2002, Dye 2012, Kassebaum et al. 2014), being the second major cause of tooth loss (Petersen & Ogawa 2005). Its occurrence involves complex interactions between commensal and pathogenic species of the periodontal biofilm and the host (Socransky et al. 1998, Socransky & Haffajee 2002, 2005). In addition, these interactions are modulated by immunological, genetic and environmental factors that influence the onset, progression and severity of these infections (Page et al. 1997, Kim et al. 2007).

Treatment of periodontal diseases focuses mainly on suppressing the periodontal pathogenic microbiota, modulating the host response and promoting tissue healing to provide a healthy periodontal microenvironment for the restoration of a host-compatible microbiota (Haffajee et al. 2006, Teles et al. 2006). Regardless of the therapeutic protocol, the key factor for a successful periodontal therapy is the establishment of an adequate mechanical control of dental biofilm (Ximenez-Fyvie et al. 2000, Haffajee et al. 2003, Carvalho et al. 2004). However, an efficient mechanical plaque control is not achieved by most of the individuals of the general population (Slots 2012), and the introduction of antimicrobials as adjuncts to mechanical plaque control has been indicated in order to improve oral hygiene (Wu & Savitt 2002, Baehni & Takeuchi 2003, Hujoel et al. 2005, Marinho & Araújo 2007, Addy 2008).

Considering the spread increase of antibiotic resistance and the high costs of new generation antibiotics, antiseptics have been utilized as major antimicrobials for chemical plaque control. Among those, sodium hypochlorite (NaOCl) has been shown to be a potent large-spectrum antiseptic and disinfectant (Rutula 1995). In dentistry, NaOCl has been used for over a century as an efficient irrigating solution in endodontic treatment (Mohammadi

2008, Siqueira et al. 2002). NaOCl has excellent antimicrobial properties, good penetration in the polysaccharide biofilm matrix, low occurrence of side effects (Bruch 2007), and it is generally available at very low cost. The Council of ADA on Dental Therapeutics appointed NaOCl at 0.1% as a safe and efficient antimicrobial mouthwash, and suggested its use for direct application to mucous membranes (American Dental Association 1984). Evidence have shown that NaOCl exerts an effective antimicrobial activity against oral biofilm and reduces gingival inflammation (Chavez da Paz et al. 2010, Gosau et al. 2010, De Nardo et al 2012, Galvan et al. 2014, Gonzalez et al. 2015). In a RCT study, De Nardo et al. (2012) evaluated the clinical effects of an oral rinse with 0.05% NaOCl, twice a day for 21 days, on supragingival biofilm accumulation and gingival inflammation using an experimental gingivitis model. The NaOCl group showed a 47% biofilm reduction and 48% decrease in gingival inflammation compared to the placebo. Likewise, Galvan et al (2014) reported that a twice-weekly oral rinse with 0.25% NaOCl produced significant decreases in dental plaque and bleeding on probing, with minor complaints about bad taste. Recently, Bizzarro et al. (2016) evaluated in a RCT the clinical and microbiological effects of local disinfection NaOCl 0.5 % with or without systemic antimicrobials associated to the basic periodontal therapy for a period of 12 months, not being found adjunct effect using the isolated NaOCl and associated with antibiotics when compared to periodontal basic therapy (BIZZARRO et al. 2016).

Given the limited number of controlled clinical studies, the high antimicrobial efficacy and safety, as well as the low cost of NaOCl, the present investigation assessed the adjunctive effects of a 0.1% NaOCl oral rinse combined to professional prophylaxis on reducing supragingival biofilm, gingival inflammation and levels of oral pathogens in individuals with gingivitis for a 6-month follow up period.

Material and Methods

Subject Population

The current study was conducted according to the principles outlined in the Declaration of Helsinki of 1975 on experimentation involving human subjects, revised in 2000. The study protocol was approved by the Human Research Ethics Committee of the Clementino Fraga Filho Hospital of the Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ), Brazil (approval #931.061). Participants were recruited from the Division of Graduate Periodontics of the School of Dentistry at UFRJ, between January and December of 2015. To be enrolled, all patients were individually informed about the nature of the proposed treatment, its risks and benefits, and signed informed consent forms. Additionally, every patient was granted the right to drop out the study, at any time. All patients had at least 18 years of age, a minimum of 18 teeth, and a diagnosis of gingivitis (AAP 1999). Exclusion criteria included history of periodontal treatment or prophylaxis 6 months previously the initial examination; smoking or history of smoking in the past 5 years; use of topical or systemic antimicrobials (including mouthwashes) in the last 6 months, and of anti-inflammatory drugs in the last 3 months prior to the initial examination; ongoing orthodontic treatment; presence of diabetes, immune-deficiencies, pregnancy and nursing.

Study Design and Sample Size

This was a clinical intervention, randomized, double-blinded, placebo-controlled study with a 6-month follow up period. The primary outcome variable was the presence of visible supragingival biofilm, determined by the plaque index (PI). The evaluated secondary variables were gingival inflammation, determined by the gingival index (GI), probing depth (PD), clinical attachment level (CAL), bleeding on probing (BOP), dental calculus index (CA), and mean prevalence and counts of microbial species in saliva and periodontal biofilm.

The sample-size calculation took into consideration an estimated alpha error of 5% and 80% of power to detect a 25% difference between treatment groups in mean % of sites with PI post-therapy. Thus, 13 subjects were required in each group. Assuming a possible dropout rate of 20% throughout the study, 16 individuals were selected in each group.

Clinical Monitoring

At the first visit, patients were evaluated regarding demographic features, medical and dental health history by an anamnesis questionnaire. Periodontal clinical measurements were performed by a single trained and calibrated examiner (L.C.P.E) using a North Carolina probe (UNC-15, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA). Calibration was carried out in five patients with gingivitis who were not included in the main study. Pairs of examinations were conducted in each individual with a 1 week interval between them, and the kappa coefficients for PI and GI were 0.82 and 0.85, respectively. For PD and CAL, the intra-class correlation coefficients were 0.90 and 0.92. The periodontal clinical parameters evaluated included PD and CAL (mm), % of PI, BOP, GI and CA at 6 sites per tooth of all teeth except third molars. Clinical examinations were performed at baseline (pre-treatment), 1 month, 3 and 6 months after treatment.

Suitable Concentration of Sodium Hypochlorite

In several studies, different concentrations of NaOCl have been used in oral rinse formulations (Lobene et al. 1972, De Nardo et al 2012, Galvan et al. 2014, Gonzalez et al. 2015, Bizzarro et al. 2016). To determine the ideal concentration of NaOCl in the mouthwash solution, we evaluated the *in vitro* antimicrobial efficacy of various concentrations against subgingival plaque using a disc diffusion method. Plaque samples were obtained from patients with gingivitis, pooled and incubated in BHI (Brain Heart Infusion) broth for 48 h at

37°C in anaerobiosis. The standardization of the inoculum was inoculated on BHI agar plates and sterile disc papers containing different concentrations of NaOCl (0.05%, 0.1%, 0.25%, 0.5% and 1%), chlorhexidine (CHX) 0.12% (positive control), and de-ionized water (negative control) were placed on the plates in duplicate. Plates were incubated in anaerobiosis for 48 h at 37°C. Halos of inhibition measured by one examiner were 15.5 mm for CHX, 12.0 mm for 1% NaOCl, 9.5 mm for 0.5% NaOCl, 7.5 mm for 0.25% and 0.1% NaOCl, and 6.5 mm for 0.05% NaOCl. Following that, the *in vivo* effect of these concentrations on the reduction of salivary microbial counts was examined. Unstimulated saliva was collected from 4 volunteers, diluted in saline solutions and plated on blood agar. Volunteers were then asked to rinse with the solutions for 30s. Although the higher concentrations of NaOCl presented greater inhibition halos, the strong bleach smell and taste detected immediately during rinsing by the volunteers led us to test only the 0.1% solution. Saliva was again obtained 30 min after rinsing, diluted and plated on blood agar. Pre- and post-rinsing plates were incubated for 48 h at 37°C in anaerobiosis. A reduction of 66.6% in the UFC/mL of saliva was computed after rinsing with 0.1% NaOCl. Considering the antimicrobial efficacy of the 0.1% NaOCl rinsing, its safety and recommendation for use as topical antimicrobial by ADA (ADA 1984), this was the concentration selected for use as oral rinse in the present investigation.

Randomization and Allocation Concealment

After initial periodontal examination, eligible subjects were assigned consecutive and ascending numbers, and allocated into a therapeutic group (test or placebo) by using a block randomization method. The allocation was conducted by a senior researcher (A.P.V.C.), not directly involved with the examination or treatment procedures, and the codes of the groups were revealed only after completion of the statistical analyses. The oral rinses containing 0.1% of NaOCl (test group) or distilled water (placebo group) were freshly prepared every

week and encased in identical opaque coded bottles in the Oral Microbiology Laboratory at UFRJ. The NaOCl containing product were prepared by diluting a standard solution of 2.5% NaOCl (Asfer Indústria Química Ltda) in sterile distilled water. Each bottle had a total volume of 250 mL of the solution, and was weekly handled to patients.

Therapeutic Protocols

After the initial clinical examination and sampling, all patients received oral hygiene instruction, as well as a dental kit containing a toothbrush, dental floss and fluoride toothpaste. These patients returned after 1 week for treatment according to the therapeutic group they were allocated to. All subjects received a single session of full mouth supra and subgingival prophylaxis with ultrasonic instrumentation of approximately 1 h of duration. Then, patients received a bottle containing 0.1% NaOCl or distilled water, and were instructed to rinse with 15 mL of the product for 30 s, twice a day during 1 week. Mouthwashing was carried out for 4 weeks. Patients returned every week to be evaluated for plaque control (enhanced oral hygiene and visual inspection card), and side effects (through a specific questionnaire). Patient's adherence to therapeutic protocols was monitored by telephone messages.

Saliva and Biofilm Sampling

Saliva and subgingival biofilm sampling were performed before clinical examination, at baseline (pre-treatment), 1 month, 3 and 6 months after treatment. Unstimulated saliva samples were collected into plastic sterile recipients, centrifuged at 12.000 x g for 10 min, and the pellet suspended in 150 µL of TE buffer (10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, pH 7.6), according to Silva-Boghossian et al. (2008). Subgingival biofilm samples were obtained from 8 periodontal sites (2 sites per quadrant) presenting gingivitis of each patient. After removal

of supragingival biofilm with sterile gauze, subgingival biofilm samples were individually collected using sterile curettes (Hu-Friedy®), and placed into microtubes containing 150 µL of TE buffer.

Microbiological Assessment

Microbiological analyses were carried out by the checkerboard DNA-DNA hybridization technique (Socransky et al. 1994), with modifications (Heller et al. 2012). Briefly, samples were lysed and fixed in individual lanes on a nylon membrane (GE Healthcare LifeSciences, Piscataway, USA) and hybridized against whole genomic digoxigenin-labelled (Roche Diagnóstica Brasil Ltda., São Paulo, Brazil) probes (Table 1S). DNA from *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) serotypes a, b and c was grouped into one probe, as was DNA from *Propionibacterium acnes* I and II. *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, and *Klebsiella pneumoniae* were combined in an enterics probe. Bound probes were detected with phosphatase-conjugated antibody to digoxigenin (Roche Diagnóstica Brasil Ltda) and fluorescence (AttoPhos®, Promega Corporation, Madison, WI), and captured by an imaging system (Storm™ 860 and ImageQuant® version 5.2, Molecular Dynamics, GE Healthcare Life Sciences). Signals were evaluated visually by comparison with the standards at 10^5 and 10^6 cells for the test species on the same membrane, and recorded as: 0= not detected; 1= $<10^5$ cells; 2= $\sim 10^5$; 3= 10^5 - 10^6 cells; 4= $\sim 10^6$; 5= $>10^6$ cells.

Statistical Analysis

All analyses were performed using a statistical program (SPSS, Statistical Package for the Social Sciences 21.0, IBM Brazil, São Paulo, Brazil). Data entry was carried out by one

investigator (L.C.P.E.) and error proofed by a senior investigator (A.P.V.C.) during the study. All variables were tested for normality in distribution by the Kolmogorov-Smirnov test. Demographic data were computed for each individual and compared between groups by Chi-square and Student t test. Full mouth periodontal clinical measurements were averaged for each patient and within groups at each follow up visit. Differences between groups in clinical parameters at baseline were tested by the Student t test, whereas differences in clinical changes over time were examined by the Generalized Linear Model of Repeated Measures (GLM). Microbial data were presented as mean prevalence and levels of the tested species. For saliva samples, the frequency and mean levels of each species was computed for each group and over time. For plaque samples, the frequency of each species in the 8 sites was computed for each subject and then averaged within groups. The levels of each species were calculated by transforming the scores 0 to 5 in counts. Mean counts were computed for each patient and within groups. Species were also grouped into the microbial complexes described by Socransky et al. (1998) and Socransky & Haffajee (2002). Differences between groups were evaluated by Chi-square, Cochran's, Mann-Whitney and Friedman tests. GLM was used to seek for significant differences in mean count changes of microbial complexes between groups over time. Intention-to-treat analyses using the Next Observation Carried Backward (for 3-month missing data) or the Last Observation Carried Forward (for 6-month missing data) strategies were carried out for missing clinical and microbiological data from patients not attending all follow-up sessions. The level of significance was set at 5%.

Results

Study Population

The flow chart of the study population is presented in Figure 1. Out of 112 screened patients, 32 were eligible for the study based on the inclusion and exclusion criteria. All 32

patients were allocated into the two therapeutic groups and received treatment. After treatment, 2 patients (1 in the C and 1 in the T group) did not return for follow up examinations, and 2 patients were excluded in the T group due to the use of antibiotics. In addition, 1 patient in the C group and 6 patients in the T group missed the 3-month evaluation but returned at 6 months, whereas 1 patient in the T group missed the 6-month follow up. Thus, a total of 28 individuals were evaluated in the current study for clinical and microbiological data.

Side Effects

The 28 subjects who finished the study reported full adherence to the prescribed course of the placebo and NaOCl mouthrinses. Adverse effects were reported by 33.3% of the individuals in the C group and 46.2% in the T group. The most frequently reported side effects were bad taste (35%) and altered taste (25%), followed by burning (14%), mouth sores (14%), nausea (10%) and change in teeth coloration (7%). No differences between groups were observed for these side effects (Chi-square test, $p>0.05$).

Demographic and Clinical Features

Baseline demographic and clinical data of the study population are presented in Table 1. Similar distributions for gender, race/color and socioeconomic levels, and mean age were observed for both therapeutic groups at baseline (Chi-square and Student T tests, $p>0.05$). Regarding therapeutic response, Figure 2 shows the periodontal clinical parameters in both groups post-therapy. For PD (Fig. 2A) and CAL (Fig. 2B), there was a significant but modest increase (0.22 mm for C and 0.20 mm for T group) in both groups over time (Friedman test, $p<0.01$). This increase was slower in the T group, and at 3 months the mean PD and CAL was significantly higher in the C group compared to the T group (T test,

$p < 0.05$). Both groups showed significant reductions in PI, GI, CA, BOP (Figures 2C-F) over time (Friedman test, $p < 0.01$) but these differences were not significant between groups (GLM test, $p < 0.05$).

Microbiological Data - Saliva

The microbial profile of saliva in the C and T groups at baseline is depicted in figure 1S. Most of the species evaluated, including gingivitis-related species (*Campylobacter* spp., *Eubacterium nodatum*, *Fusobacterium nucleatum* ss. *nucleatum*, *Fusobacterium periodonticum*, *Streptococcus constellatus*, *Prevotella* spp., and *Parvimonas micra*) and opportunist microorganisms (*Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*) were detected in high prevalence and levels (high scores) in both groups, and no significant differences were observed between them. Changes in frequency of detection of microbial species in saliva from both groups over time are presented in table 2S. Significant reductions were detected only for *Actinomyces naeslundii* I, *Campylobacter showae*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Dialister pneumosintes* and *Veillonella parvula* ($p < 0.05$, Friedman test). No significant differences between groups were observed in any post-therapy time point ($p > 0.05$, Cochran's test).

Figure 2S shows the mean counts of microbial species in saliva from both groups at different post-therapy time points. Few species differed between groups at different post-therapy follow ups ($p < 0.05$, Mann-Whitney test). In general, more than half of the tested species increased in mean counts at 6 months compared to baseline levels, particularly in the C group, and very few species decreased over time ($p < 0.05$, Friedman test). *V. parvula* showed a significant increase in both groups. *Streptococci* also increased after treatments, mainly in the C group. The T group had a higher impact in reducing all 4 salivary

Actinomyces spp., however these changes were not statistically significant ($p > 0.05$, Friedman test).

Microbiological Data – Subgingival Biofilm

Changes in prevalence of microbial species in subgingival biofilm in both therapeutic groups over time are presented in Figure 3. Significant reductions were observed in the C group for several species, however only *Neisseria mucosa* decreased in the T group at 6 months ($p < 0.05$, Friedman test). Differences between groups were observed only for *C. albicans*, *F. nucleatum ss. nucleatum*, *G. morbillorum* and *P. gingivalis* after therapy ($p < 0.05$, Mann-Whitney test). Considering that 8 periodontal sites were sampled per patient, very little changes in the colonization of these sites by the tested species were observed after treatments.

Reductions in mean counts were more pronounced and were detected in more than 67% of the species evaluated in both groups at 6 months (figure 4). Changes were significant for several species in the C group, whereas only 6 species (*Actinomyces oris*, *V. parvula*, *Streptococcus sanguinis*, *P. micra*, *N. mucosa*, and *Prevotella melaninogenica*) showed significant changes over time in the T group. Similarly to saliva, *V. parvula* increased significantly in mean counts in both groups; however, oral streptococci showed a mean reduction post-therapy, particularly in the C group. Moreover, other health-related species (*A. oris*) increased significantly in the T group ($p < 0.05$, Friedman test). Comparisons between groups at the post-therapy follow ups showed significant differences mostly at 1 month and 3 months for the species *C. ochracea*, *C. albicans*, *Eikenella corrodens*, *E. faecalis*, *streptococci*, *A. oris*, *Prevotella* spp., and *Pseudomonas aeruginosa*. At 6 months, *Filifactor alocis* was detected in significantly lower levels in the T than the C group ($p < 0.05$, Mann-Whitney test).

Given the complex interactions among species within the subgingival microbiota, species were clustered in the microbial complexes (Socransky et al. 1998, Socransky & Haffajee 2002). In addition, non-oral opportunist species and other oral microorganisms evaluated were grouped into two clusters. The mean counts of each member of a complex were added within that complex. The proportion of each complex of the total microbial counts including all species was also computed. The effects of both treatments on the mean counts and proportions of the complexes over time are presented in figures 5A and 5B, respectively. Significant changes in the mean total counts of the complexes over time were observed for the purple, blue, yellow and red complexes, and other oral species ($p < 0.05$, GLM). These changes were similar between groups ($p > 0.05$, GLM). Complexes reduced in counts mainly right after the mouthwash use (1 month) and at 3 months, but returned to baseline levels at 6 months in both groups, with the exception of the red and yellow complexes, and other oral species which were kept at low levels over time ($p < 0.05$, GLM). In terms of proportions (figure 5B), there was an increase in the blue, purple and green complexes, and in non-oral species. In contrast, orange and yellow complexes, and other oral species decreased in proportions of the total counts over time. These changes were more pronounced in the T group, but no differences between groups were observed. Of interest, the red complex diminished in proportions in the T group over time, while this complex returned to baseline proportions at 6 months post-therapy in the C group.

Discussion

Over the years, there has been an intensive search for antimicrobial agents to be used as adjuncts of mechanical biofilm control (Wu & Savitt 2002, Baehni & Takeuchi 2003, Hujoel et al. 2005, Addy 2008). In addition to the high antimicrobial efficacy and safety, these chemicals should be widely available at low cost. NaOCl is one example of a potent,

safe and inexpensive antiseptic used for decades in dentistry (Zehnder 2006). However, very few studies have investigated the adjunctive effect of NaOCl as a supplement of mechanical periodontal therapy (Lobene et al. 1972, De Nardo et al. 2012, Galvan et al. 2014, Gonzalez et al. 2015, Bizzarro et al. 2016). The current RCT evaluated the efficacy of a 0.1% NaOCl mouthwash as an adjunct to ultrasonic prophylaxis on the reduction of supragingival biofilm, gingival inflammation and levels of microbial species in saliva and subgingival biofilm, in gingivitis patients for a period of 6 months. One initial concern about the use of this antiseptic was the ideal concentration. We have chosen the 0.1% concentration based on *in vitro* and *in vivo* pilot experiments, and on the recommendation of the ADA (1984). It is possible that at this concentration NaOCl does not present the best antimicrobial efficacy against the periodontal biofilm, which would justify our clinical and microbiological findings. Other investigators have proposed higher concentrations; however, the increase in the dropout rate and adverse effects are quite significant (Galvan et al. 2014, Gonzalez et al. 2015). In this study, the adverse effects were considered tolerable, and as expected, bad taste was the most common side effect here reported (De Nardo et al. 2012, Galvan et al. 2014, Gonzalez et al. 2015). Although the use concentration of the NaOCl 0.5%, Bizzarro et al. (2016) showed a small dropout over and no side effects over 1 year follow up. The overall dropout rate was relatively low (12.5%), and a total of 28 treated individuals were analyzed. All 28 patients were evaluated at 1 month post-therapy, but 7 individuals missed one of the 3 or 6-month follow up visit. For missing data, next observation carried backward or last observation carried forward imputation methods were performed to prevent reduction in sample size and loss of statistical power (Wertz 1995, Sandeep 2011).

Our clinical data showed that gingivitis patients from both therapeutic groups presented a significant reduction in supragingival biofilm, periodontal inflammation and presence of calculus over time, and the use of 0.1% NaOCl mouthwash for 4 weeks did not

provide an additional benefit to ultra-sonic prophylaxis. In contrast, other authors showed a greater and significant reduction in supragingival plaque accumulation and gingivitis in the NaOCl group compared to the distilled water placebo group (De Nardo et al. 2012, Galvan et al. 2014, Gonzalez et al. 2015). These contradictory data may be explained by differences in NaOCl concentration, study design, periodontal clinical condition of the sample population, as well as the administration, frequency and duration of the antimicrobial (Lobene et al. 1972, De Nardo et al. 2012, Galvan et al. 2014, Gonzalez et al. 2015, Bizzarro 2016). Two of these studies used an experimental gingivitis model, and the NaOCl was not used as an adjunct to mechanical biofilm control but as a substitute of oral hygiene methods. In this scenario of absence of oral hygiene, rinsing with NaOCl seems to prevent new plaque formation (Lobene et al. 1972, De Nardo et al. 2014). The other authors have reported an efficient anti-inflammatory effect of a higher concentration of NaOCl rinsing (0.25%) in individuals with periodontitis. A significant reduction in BOP, even in moderate to deep periodontal pockets, was observed in the NaOCl group compared to the distilled water placebo in the absence of supra or subgingival scaling and root planing (Galvan et al. 2014, Gonzalez et al. 2015). The authors speculate that the anti-inflammatory effect of oral rinsing on deep pockets may result from the anti-plaque effect of NaOCl on supragingival biofilm accumulation, which in turn may lead to beneficial changes in the composition of the subgingival microbiota (Ximenez - Fyvie et al. 2000, Haffajee et al. 2003, Carvalho et al. 2004, Gonzalez et al. 2015). On the other hand, NaOCl itself has been shown to exert anti-inflammatory properties by interfering on activation of pro-inflammatory genes (Leung et al. 2013, Mainnemaire et al. 2004). These data should be considered carefully since topical antimicrobials, either as an oral rinse or periodontal irrigation solution should be administered as an adjunct to mechanical therapy, particularly in periodontitis patients. Also, the effects of a long term use of NaOCl mouthwash have not been evaluated in any of these studies.

Although there was a significant improvement in terms of dental plaque and periodontal inflammation, a significant but clinically minimal (0.2 mm) increase in mean PD and CAL was observed in both treated groups over time. Of interest, this increase was slower in the T group compared to the placebo group until 3 months of monitoring. Accordingly to previous studies, shallow sites do lose attachment (approximately 0.4 mm) after mechanical instrumentation, whereas greater attachment gain is observed in deep pockets (Cobb 1996, Hung & Douglass 2002, Van der Weijden et al. 2002, Faveri et al. 2005). Given that our gingivitis patients presented mostly 1-3 mm PD, these findings could be expected.

No studies evaluating the impact of NaOCl as an oral rinse on the composition of the oral microbiota have been carried out. In our current “highly germ-free era”, it is important to understand the effects of widely used topical antiseptics on the diversity of our microbiome (Reid et al. 2011, Cho & Blaser 2012). Given that, the short and long term impacts that daily used antimicrobial oral rinses may have on the composition of saliva need to be investigated. Although the microbial composition of saliva represents mainly the microbiota of the tongue (Mager et al. 2003), whole saliva has been proved to have a high diagnostic value for identification of microorganisms related to periodontal diseases (Umeda et al. 1998, Eger et al. 1996). In saliva samples, high prevalence and levels of oral species, including members of the orange complex, as well as opportunist pathogens were detected in both groups pre-therapy, corroborating other studies in gingivitis patients (Socransky & Haffajee 2005). However, changes in frequency of detection (colonization) of these species were minimal in both groups over time, indicating no major effect of the 1 month oral rinsing with NaOCl on saliva. In contrast, we noticed an unusual increase in the salivary levels of many species, including healthy-related streptococci and *V. parvula*, but also pathogenic species. These changes were more marked in the C group.

Regarding the effects of treatment on the subgingival biofilm, most species presented a modest decrease in prevalence in both groups, even though these reductions were more significant in the C group. As reported by other investigators (Haffajee et al. 1997, Cugini et al. 2000, Colombo et al. 2005) non-surgical mechanical periodontal therapy has a less pronounced impact on the frequency than on the counts of microbial species in the periodontal biofilm. This fact reflects the characteristic resilience of our oral microbiota which tend to rebound and re-colonize the same oral habitats after a disturbance (prophylaxis and/or topical antimicrobial) (Dewhirst et al. 2010). However, post-therapy recolonization normally occurs at levels lower than the pre-therapy levels. In fact, over 65% of the tested species were detected in lower counts at 6 months in both groups, including several periodontal pathogens but also some periodontal health-related species such as the oral streptococci and *N. mucosa*. The opportunist pathogens *E. faecalis* and *P. aeruginosa* were present in higher counts at 6 months in both groups, whereas Gram-negative enterics increased after therapy and then returned to pre-therapy counts in both groups. The increase in levels of these microorganisms in the biofilm may be a result of the reduction of several other oral bacteria, which may have opened a new niche for these species. Although significant differences in the mean counts of a few species were seen between groups at 1 and 3 months after therapy, at 6 months only *F. alocis* was detected at higher counts in the C compared to the T group. This species has been considered a major periodontal and endodontic pathogen associated with persistent infection (Colombo et al. 2009, Siqueira & Rôças 2009), and its reduction should be considered as a target for treatment with antimicrobials. Clustering of subgingival biofilm species in microbial complexes also revealed similar changes in both groups over time. Except for streptococci, health-related complexes increased at 6 months, particularly in the T group. Furthermore, the pathogenic red complex had a more pronounced reduction in the T group while it showed a tendency to

return to baseline levels in the placebo group. In general, changes over time on the microbial profile of the subgingival microbiota were quite similar between groups, corroborating the similarity in the clinical response to both treatments.

Despite the fact that NaOCl is an efficient, safe and low cost antiseptic, its short term use as an oral rinse, at the recommended low concentration of 0.1%, does not provide additional clinical and/or microbiological benefits to mechanical periodontal prophylaxis in individuals with gingivitis. Further clinical investigations testing higher concentrations and/or longer periods of administration are encouraged to determine whether this antimicrobial may indeed be recommended as a daily mouthwash.

Acknowledgments

This study was supported in part by National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Coordination of Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), Brasilia, Brazil; and Foundation for Research Financial Support in the State of Rio de Janeiro (FAPERJ), Rio de Janeiro, Brazil.

References

- Addy, M. (2008) Oral hygiene products: potential for harm to oral and systemic health? *Periodontol 2000* **48**, 54-65.
- American Academy of Periodontology. (1999) International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions. *J Periodontol* **4**(1).
- Albandar, J. M. (2002) Periodontal diseases in North America. *Periodontology 2000* **29**, 31–69.
- American Dental Association. (1984) *Terapeutica Dental aceites*. Chicago, IL: ADA, 326.
- Baehni, P.C., Takeuchi, Y. (2003) Anti-plaque agents in the prevention of biofilm-

- associated oral diseases. *Oral Diseases* **9**(1), 23-29.
- Bizzarro, S.; Van der Velden, U.; Loos, B.G. (2016) Local disinfection with sodium hypochlorite as adjunct to basic periodontal therapy: a randomized controlled trial. *J Clin Periodontol*, doi: [10.1111/jcpe.12578](https://doi.org/10.1111/jcpe.12578).
- Bruch, M.K. (2007) A toxicidade e segurança de hipoclorito de sódio a tópica. *Contrib Nephrol* **154**, 24-38.
- Carvalho, L. H., D'ávila, G. B., Leão, A., Haffajee, A. D., Socransky, S. S., Feres, M. (2004) Scaling and root planing, systemic metronidazole and professional plaque removal in the treatment of chronic periodontitis in a Brazilian population. I. Clinical results. *Journal of Clinical Periodontology* **31**, 1070–1076.
- Chávez De Paz, L.E., Bergenholtz, G., Svensäter, G. (2010) Os efeitos de antimicrobianos em bactérias do biofilme endodônticos. *J Endod* **36**, 60-77.
- Cho, I., Blaser, M.J. (2012) The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nature Reviews Genetics* **13**, 260-270.
- Colombo, A. P.; Teles, R. P.; Torres, M. C.; Rosalem, W.; Mendes, M. C.; Souto, R. M.; Uzeda, M. (2005) Effects of non-surgical mechanical therapy on the subgingival microbiota of Brazilians with untreated chronic periodontitis: 9-month results. *Journal of Periodontology* **76**, 778–784.
- Colombo, A.P.V., Boches, S.K., Cotton, S.L., Goodson, J.M., Kent, R., Socransky, S.S., Hasturk, H., Vandyke, T.E., Dewhirst, F., Paster, B.J. (2009) Comparisons of subgingival microbial profiles of refractory periodontitis, severe periodontitis and periodontal health using the human oral microbe identification microarray. *J Periodontol* **80**(9), 1421-1432.
- Cobb, C.M. (1996) Non-surgical pocket therapy: mechanical. *Annals of Periodontology*, **1**, 443-490.

- Cugini, M. A., Haffajee, A. D., Smith, C., Kent, R. L. JR., Socransky, S. S. (2000) The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal disease: 12-month results. *Journal of Clinical Periodontology* **27**, 30–36.
- De Nardo, R., Chiappe, V., Gomez, M., Romanelli, H., Slots, J. (2012) Effect of 0.05% sodium hypochlorite oral rinse on supragingival biofilm and gingival inflammation. *Int Dent J* **62**, 208–212.
- Dewhirst, F.E., Chen, T., Izard, J., Paster, B.J., Tanner, A.C.R., Yu, W., Lakshmanan, A., Wade, W.G. (2010) The human oral microbiome. *J. Bacteriol* **192**(19), 5002-5017.
- Dye, B. A. (2012) Global periodontal disease epidemiology. *Periodontol 2000* **58**(1), 10-25.
- Eger, T., Muller, H.P., Heinecke, A. (1996) Ultrasonic determination of gingival thickness subject variation and influence of tooth type and clinical features. *Journal of Clinical Periodontology* **23**(9), 839-845.
- Faveri, M. Controle mecânico e químico da placa dentária supragengival associado à raspagem e alisamento radicular- estudo clínico e microbiológico. 2005. 99 f. Tese (Mestrado em Odontologia)- Universidade Guarulhos, São Paulo.
- Galvan, M., Gonzalez, S., Cohen, C.L., Alonaizan, F.A., Chen, CT-L., Rich, S.K., Slots, J. (2014) Periodontal effects of 0.25% sodium hypochlorite twice-weekly oral rinse. A pilot study. *J Periodont Res* **49**, 696-702.
- Gosau, M., Hahnel, S., Schwarz, F. (2010) Efeito de seis diferentes métodos de Peri implantite desinfecção sobre in vivo biofilme oral humana. *Clin Oral Implants Res*, 866-872.
- Gonzalez, S., Cohen, C.L., Galvan, M., Alonaizan, F.A., Rich, S.K., J. Slots, J. (2015) Gingival bleeding on probing: relationship to change in periodontal pocket depth and effect of sodium hypochlorite oral rinse. *J Periodont Res* **50**, 397–402.

- Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Dibart, S., Smith, C., Kent, R. L. JR., Socransky, S.S. (1997) The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *Journal of Clinical Periodontology* **24**, 324–334.
- Haffajee, A. D., Arguello, E. I., Ximenez-Fyvie, L. A., Socransky, S. S. (2003) Controlling the plaque biofilm. *International Dental Journal* **53**, 191–199.
- Haffajee, A.D., Teles, R.P., Socransky, S.S. (2006) The effect of periodontal therapy on the composition of the subgingival microbiota. *Periodontol 2000* **42**, 219–258.
- Heller, D., Silva-Boghossian, C.M., do Souto, R.M., Colombo, A.P. (2012) Subgingival microbial profiles of generalized aggressive and chronic periodontal diseases. *Arch Oral Biol* **57**, 973–80.
- Hujoel, P.P., Cunha-Cruz, J., Loesche, W.J., Robertson, P.B. (2005) Personal oral hygiene and chronic periodontitis: a systematic review. *Periodontol 2000* **37**, 29–34.
- Hung, H.C., Douglass, C.W. (2002) Meta-analysis of the effect of scaling and root planing, surgical treatment and antibiotic therapies on periodontal probing depth and attachment loss. *Journal of Clinical Periodontology* **29**, 975–986.
- Kassebaum, N.J., Bernabé, E., Dahiya, M., Bhandari, B., Murray, C.J.L., Marcenes, W. (2014) Global burden of severe periodontitis in 1990–2010: a systematic review and meta-regression. *Journal of Dental Research* **93**(11), 1045–1053.
- Kim, Y.J., Viana, A.C., Scarel-Caminaga, R.M. (2007) Influences of genetic factors in the etiopathogenesis of periodontal disease. *Rev Odontol UNESP* **36**(2), 175–180.
- Leung, T.H., Zhang, L.F.; Wang, J.; Ning, S.; Knox, S.J.; Kim, S.K. (2013) Topical hypochlorite ameliorates NF- κ B-mediated skin diseases in mice. *J Clin Invest* **123**, 5361–5370.

- Lobene, R.R., Soparkar, P.M., Hein, J.W. (1972) Um estudo sobre os efeitos dos agentes anti-sépticos e de um dispositivo de irrigação pulsátil à placa e gengivite. *J Periodontol* **43**, 564-568.
- Mainnemare, A., Mégarbane, B., Soueidan, A., Daniel, A., Chapple, I.L. (2004) Hypochlorous acid and taurine-*N*-monochloramine in periodontal diseases. *J Dent Res* **83**(11), 823–831.
- Mager, D. L., Ximenez-Fyvie, L. A., Haffajee, A. D., Socransky, S. S. (2003) Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces. *J Clin Periodontol* **30**,644-654.
- Marinho, B.V.S., Araújo, A.C.S. (2007) O uso dos enxagatários bucais sobre a gengivite e o biofilme dental. *International Journal of Dentistry* **6**(4), 124-131.
- Mohammadi, Z. (2008) Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *Int DentJ* **58**,329–341.
- Page, R. C., Offenbacher, S., Schroeder, H. E., Seymour, G. J., Kornman, K. S. (1997) Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontology 2000* **14**, 216-48.
- Petersen, P.E., Ogawa, H. (2005) Strengthening the prevention of periodontal disease: the WHO approach. *J Periodontol* **76**(12),2187-2193.
- Reid, G.,Younes, J.A.,Van der Mei, H.C., Gloor, G.B., Knight, R, Busscher, H.J. (2011) Microbiota restoration: natural and supplemented recovery of human microbial communities. *Nature Reviews Microbiology* **9**, 27-38.
- Rutala, W., Weber, D.J. (1955) **Use of chemical germicides in the United States: 1994 and beyond.** In W. A. Rutala (ed.), *Chemicalgermicides in health care*, 1–22. Association for Professionals in Infection Controland Epidemiology, Inc., Washington, D.C., and Polyscience Publication,Morin Heights, Canadá.
- Sandeep, K.G. (2011) Intention-to-treat concept: A review. *Perspect Clin Res* **2**(3), 109–112.

- Siqueira, E.L., Nicoletti, M.A., Bomabana, A.C., Santos, M. (2002) Influência do pH sobre a estabilidade química da solução de hipoclorito de sódio a 0,5%. *RPG* **9**(3), 207-211.
- Siqueira Jr, J.F., Rôças, I.N. (2009) Diversity of endodontic microbiota revisited. *JDR*, **88**, 11969-11981.
- Slots, J. (2012) Low-cost periodontal therapy. *Periodontol 2000* **60**, 110–137.
- Socransky, S. S., Smith, C., Martin, L., Paster, B. J., Dewhirst, F. E., Levin, A. E. (1994) "Checkerboard" DNA-DNA hybridization. *Biotechniques* **17**, 788-792.
- Socransky, S. S., Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Smith, C., Kent, R. L. (1998) Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* **25**, 134-144.
- Socransky, S. S., Haffajee, A. D. (2002) Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000* **28**, 12-55.
- Socransky, S. S., Haffajee, A. D. (2005) Periodontal microbial ecology. *Periodontol 2000* **38**, 135-187.
- Teles, R.P., Haffajee, A.D., Socransky, S.S. (2006) Microbiological goals of periodontal therapy. *Periodontol 2000* **42**, 180–218.
- Umeda, M., Chen, C., Bakker, I., Contreras, A., Morrison, J.L., Slots, J. (1998) Risk indicators for harboring periodontal pathogens. *J Periodontol*. **69**(10), 1111-8.
- Van der Weijden, G.A., Timmerman, M.F. (2002) A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* **29**(3), 55-71.
- Wertz, R.T. (1995) Intention to treat: Once randomized, always analyzed. *Clin Aphasiol* **23**, 57–64.

Wu, C.D., Savitt, E.D. (2002) Evaluation of the safety and efficacy of over-the-counter oral hygiene products for the reduction and control of plaque and gingivitis. *Periodontology 2000* **28**, 91–105.

Ximenez-Fyvie, L. A., Haffajee, A. D., Som, S., Thompson, M., Torresyap, G., Socransky, S. S. (2000) The effect of repeated supragingival plaque removal on the composition of the supra- and subgingival microbiota. *Journal of Clinical Periodontology* **27**, 637–647.

Zehnder, M. (2006) Root canal irrigants. *J Endod* **32**, 389–398.

Table 1. Demographic and periodontal data of the sample population at baseline.

Parameters	C group (n=15)	T group (n=13)
Mean (SD) Age (years)	25.07 (6.82)	18.9 (5.34)
Gender		
% Males	73.3	69.2
% Females	26.7	30.8
Race		
% White	66.7	76.9
% African-American	6.6	7.7
% Others	26.7	15.4
% Monthly family income (US\$)		
≤ 500	20	15.4
> 500	80	84.6
% Education		
High School	6.7	7.7
Higher Education	93.3	92.3
Mean (SD) periodontal parameters		
Missing teeth	0.60 (1.4)	1.08 (3.04)
PD (mm)	1.97 (0.12)	1.95 (0.13)
CAL (mm)	1.96 (0.12)	1.96 (0.12)
% sites with BOP	19.81 (8.21)	18.32 (8.73)
% sites with PI	31.85 (8.93)	34.85 (17.19)
% sites with GI	22.00 (8.31)	19.59(6.88)
% sites with CA	7.97(5.56)	8.08(8.17)

C group: ultra-sonic prophylaxis + distilled water rinsing; T group: ultra-sonic prophylaxis + 0.1% NaOCl rinsing. PD: probing depth; CAL: clinical attachment level; BOP: bleeding on probing; PI: supragingival biofilm; GI: gingival bleeding index; CA: calculus index; SD: standard deviation.

Figure legends

Figure 1. Flow chart of the study population. C: control group (professional ultra-sonic prophylaxis plus distilled water rinsing). T: test group (professional ultra-sonic prophylaxis plus 0.1% NaOCl rinsing).

Figure 2. Full mouth mean (SD) of periodontal clinical parameters of individuals in both therapeutic groups at different follow up time points. (A) mean probing depth (mm), (B) mean clinical attachment level (mm), mean % of sites with (C) supragingival plaque, (D) gingival bleeding, (E) bleeding on probing and (F) calculus. C group: ultra-sonic prophylaxis + distilled water rinsing; T group: ultra-sonic prophylaxis + 0.1% NaOCl rinsing. * Refers to significant difference between groups at 3 months, $p < 0.05$ (T test). † Refers to significant differences within groups over time ($p < 0.01$, GLM). Both groups showed significant changes over time for this parameter, but no differences between groups were observed (GLM test).

Figure 3. Mean frequency (%) of microbial species in subgingival biofilm samples from both therapeutic groups at baseline and different post-therapy time points. C group: ultra-sonic prophylaxis + distilled water rinsing; T group: ultra-sonic prophylaxis + 0.1% NaOCl rinsing. *Aa: Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. * Refers to significant differences between groups at 1 month, ** at 3 months, and † at 6 months ($p < 0.05$, Mann-Whitney test). # Refers to significant changes over time within the C group, and ## within the T group ($p < 0.05$, Friedman test).

Figure 4. Mean counts of microbial species in subgingival biofilm samples from both therapeutic groups at baseline and different post-therapy time points. C group: ultra-sonic prophylaxis + distilled water rinsing; T group: ultra-sonic prophylaxis + 0.1% NaOCl rinsing. *Aa: Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. The colored shades represent the microbial complexes described by Socransky et al. (1998) and Socransky & Haffajee (2002). * Refers to significant differences between groups at baseline, ** at 1 month, † at 3 months,

and †† at 6 months ($p < 0.05$, Mann-Whitney test). # Refers to significant changes in microbial counts over time within each group ($p < 0.05$, Friedman test).

Figure 5. (A) Mean total counts of microbial members of the oral complexes described by Socransky et al. (1998) and Socransky & Haffajee (2002) in subgingival biofilm of individuals from both C group (ultra-sonic prophylaxis + distilled water rinsing) and T group (ultra-sonic prophylaxis + 0.1% NaOCl rinsing) over time. (B) Proportions of each microbial complex of the total mean counts of species from all complexes. # Refers to significant changes in microbial counts of the complexes over time within groups ($p < 0.05$, GLM test).

Figure 1

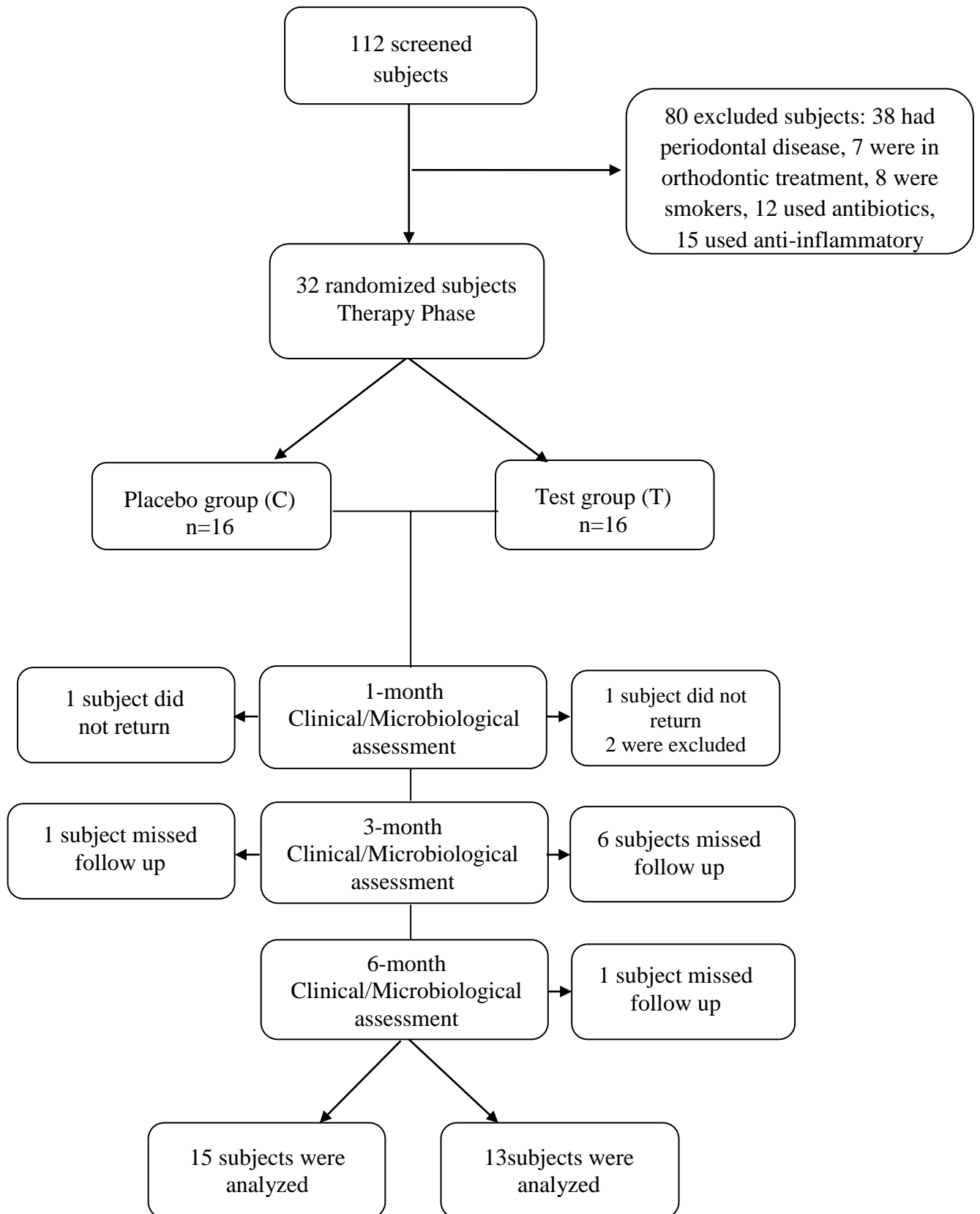


Figure 2

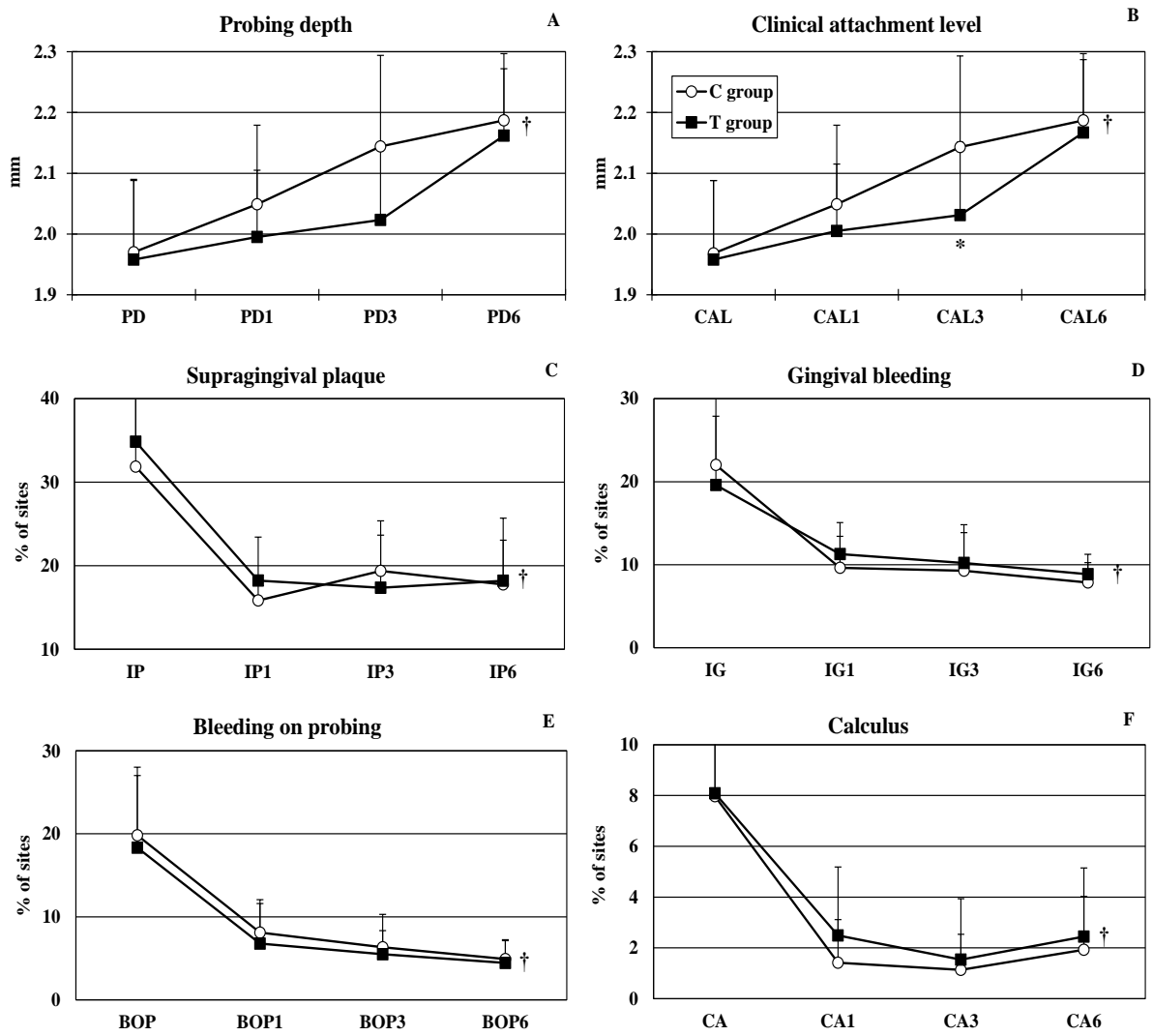


Figure 4

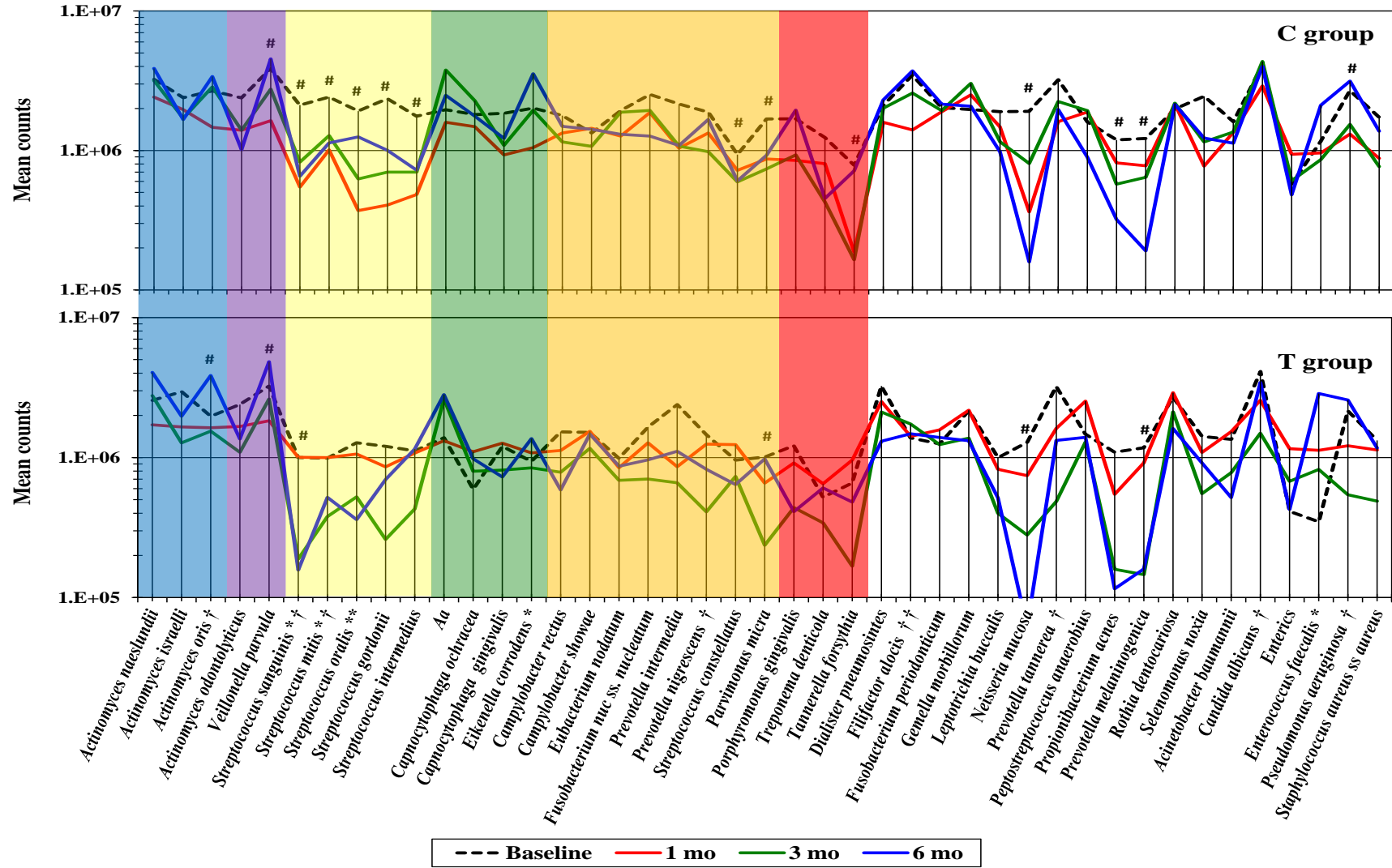


Figure 5A

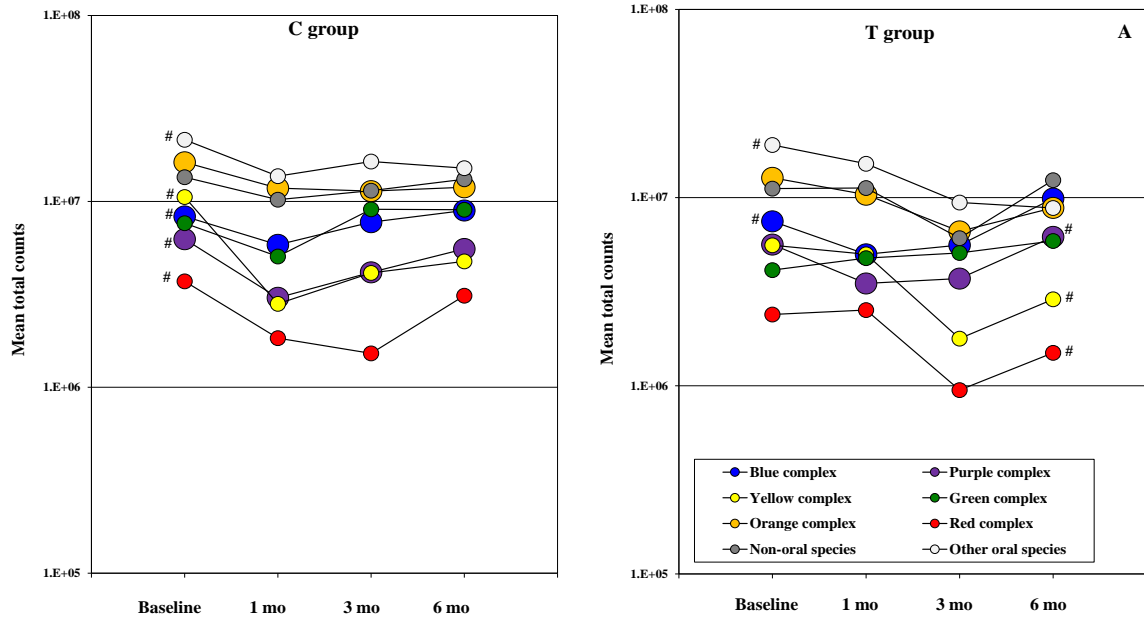
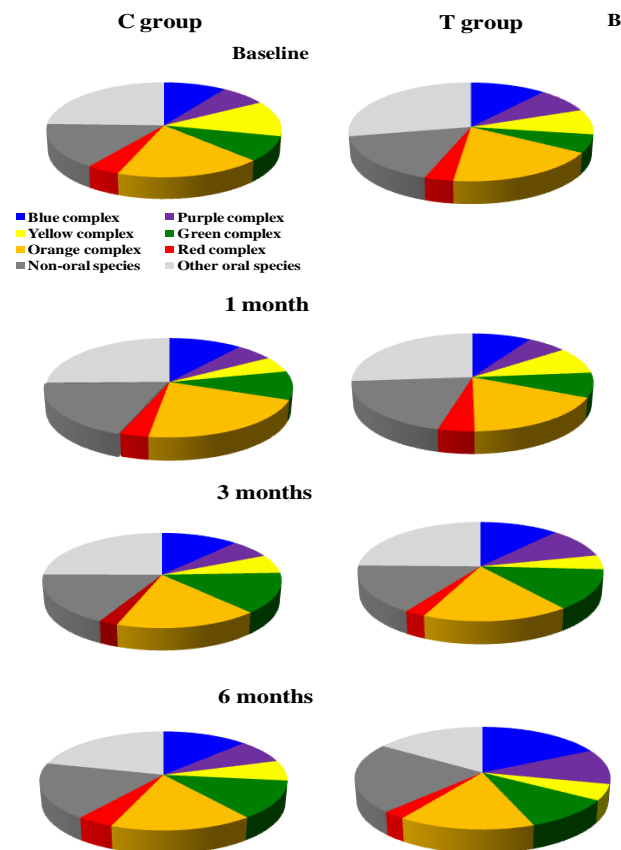


Figure 5B



Appendix

Table 1S. Microbial strains used for the whole genomic DNA probes.

Taxa	Strain ^a	Taxa	Strain ^a
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans a</i>	43718	<i>Gemella morbillorum</i>	27824
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans b</i>	29523	<i>Leptotrichia buccalis</i>	14201
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans c</i>	625 ^b	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10031
<i>Acinetobacter baumannii</i>	19606	<i>Klebsiella oxytoca</i>	12833
<i>Actinomyces israelii</i>	12102	<i>Neisseria mucosa</i>	19696
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	17929	<i>Parvimonas micra</i>	33270
<i>Actinomyces naeslundii I</i>	12104	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	27337
<i>Actinomyces oris (A. viscosus)</i>	43146	<i>Prevotella melaninogenica</i>	25845
<i>Campylobacter rectus</i>	33238	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	33277
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	33624	<i>Prevotella intermedia</i>	25611
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	33596	<i>Prevotella nigrescens</i>	33563
<i>Candida albicans</i>	10231	<i>Prevotellatannerae</i>	51259
<i>Campylobacter showae</i>	51146	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10145
<i>Dialister pneumosintes</i>	GBA27 ^b	<i>Propionibacterium acnes I</i>	11827
<i>Eubacterium nodatum</i>	33099	<i>Propionibacterium acnes II</i>	11828
<i>Eikenella corrodens</i>	23834	<i>Rothiadentocariosa</i>	17931
<i>Enterococcus faecalis</i>	10100	<i>Selenomonas noxia</i>	43541
<i>Enterobacter agglomerans</i>	27155	<i>Streptococcus constellatus</i>	27823
<i>Enterobacter cloacae</i>	10699	<i>Streptococcus mitis</i>	49456
<i>Enterobacter sakazakii</i>	12868	<i>Streptococcus oralis</i>	35037
<i>Enterobacter aerogenes</i>	13048	<i>Streptococcus sanguinis</i>	10556
<i>Enterobacter gergoviae</i>	33028	<i>Streptococcus gordonii</i>	10558
<i>Escherichia coli</i>	10799	<i>Streptococcus intermedius</i>	27335
<i>Filifactoralocis</i>	35896	<i>Staphylococcus aureus ss aureus</i>	33591
<i>Fusobacterium nucleatum ss. nucleatum</i>	25586	<i>Tannerella forsythia</i>	43037
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	33693	<i>Treponema denticola</i>	B1 ^b
		<i>Veillonella parvula</i>	10790

^a ATCC (American Type Culture Collection, Rockville, MD); ^b The Forsyth Institute, Cambridge, MA

Table 2S. Frequency of detection (%) of microbial species in saliva samples from both therapeutic groups at different post-therapy time points.

Taxa	C group				T group			
	Baseline	1 mo	3 mo	6 mo	Baseline	1 mo	3 mo	6 mo
<i>A. naeslundii I</i>	100*	100	100	80	100**	100	100	69
<i>A. israelii</i>	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>A. viscosus</i>	100	100	100	93	100	100	100	92
<i>A. odontolyticus</i>	100	100	100	100	100	100	100	92
<i>Aa</i>	100	100	100	100	100	100	100	92
<i>A. baumannii</i>	100	100	100	93	100	100	100	92
<i>C. rectus</i>	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>C. ochracea</i>	100	100	100	100	100	100	100	92
<i>C. albicans</i>	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>C. showae</i>	93	100	100	93	100**	100	100	69
<i>C. gingivalis</i>	93	100	100	87	100**	100	100	69
<i>D. pneumosintes</i>	100	100	100	87	100**	100	100	69
<i>Enterics</i>	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>E. faecalis</i>	93	100	100	100	100	100	100	100
<i>E. corrodens</i>	100	100	100	100	92	100	100	100
<i>E. nodatum</i>	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>F. alocis</i>	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>F. periodonticum</i>	100	100	100	93	100	100	100	85
<i>F. nuc. nucleatum</i>	100	100	100	100	100	100	100	92
<i>G. morbilorum</i>	93	100	100	100	100	100	100	100
<i>L. buccalis</i>	87	100	93	87	85	100	85	69
<i>N. mucosa</i>	93	100	100	100	92	100	100	100
<i>P. tannera</i>	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>P. anaerobius</i>	100	100	100	100	100	100	100	92
<i>P. aeruginosa</i>	87	100	100	100	92	100	100	100
<i>P. acnes</i>	100	100	93	93	100	100	92	77
<i>P. melaninogenica</i>	100	93	93	93	100	100	100	92
<i>P. intermedia</i>	93	100	100	100	92	92	92	92
<i>P. micra</i>	100	100	100	100	92	100	100	100
<i>P. nigrescens</i>	93	100	100	100	92	92	92	100
<i>P. gingivalis</i>	93	100	100	100	92	100	100	92
<i>R. dentocariosa</i>	93	100	93	100	100	92	92	92
<i>S. aureaus</i>	87	100	100	100	100	100	100	92
<i>S. noxia</i>	93	100	100	100	100	100	100	92
<i>S. constellatus</i>	100	100	100	93	100	100	100	92
<i>S. sanguinis</i>	93	100	100	100	100	100	100	100
<i>S. mitis</i>	93	100	100	100	100	100	100	100
<i>S. oralis</i>	100	100	100	100	100	100	92	100
<i>S. gordonii</i>	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>S. intermedius</i>	100	87	73	100	100	85	85	100
<i>T. denticola</i>	100	100	93	100	100	92	85	100
<i>T. forsythia</i>	93	100	100	87	100	92	100	100
<i>V. parvula</i>	100*	100	80	100	100	92	77	92

* Refers to significant changes in prevalence over time, within the groups ($p < 0.05$ and ** $p < 0.01$, Friedman test). No significant differences between groups were observed in any post-therapy time point (Chi-square test). *Aa*: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. C group: ultra-sonic prophylaxis + distilled water rinsing; T group: ultra-sonic prophylaxis + 0.1% NaOCl rinsing.

Appendix figure legends

Figure 1S. Frequency (%) of scores (levels) of microbial species in saliva samples from both therapeutic groups at baseline. No significant differences between groups were found (Chi-square test, $p > 0.05$). Different bar shades represent the scores 0 (not detected); 1 ($< 10^5$ cells); 2 ($\sim 10^5$); 3 (10^5 - 10^6 cells); 4 ($\sim 10^6$); 5 ($> 10^6$ cells). C group: ultra-sonic prophylaxis + distilled water rinsing; T group: ultra-sonic prophylaxis + 0.1% NaOCl rinsing. Aa: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Figure 2S. Mean counts of microbial species in saliva samples from both therapeutic groups at different post-therapy time points. C group: ultra-sonic prophylaxis + distilled water rinsing; T group: ultra-sonic prophylaxis + 0.1% NaOCl rinsing. Aa: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. The colored shades represent the microbial complexes described by Socransky et al. (1998) and Socransky & Haffajee (2002). *Refers to significant difference between groups at baseline, ** at 1 month, † at 3 months, and †† at 6 months ($p < 0.05$, Mann-Whitney test). #Refers to significant changes in microbial counts over time within each group ($p < 0.05$, Friedman test).

Figure 1S

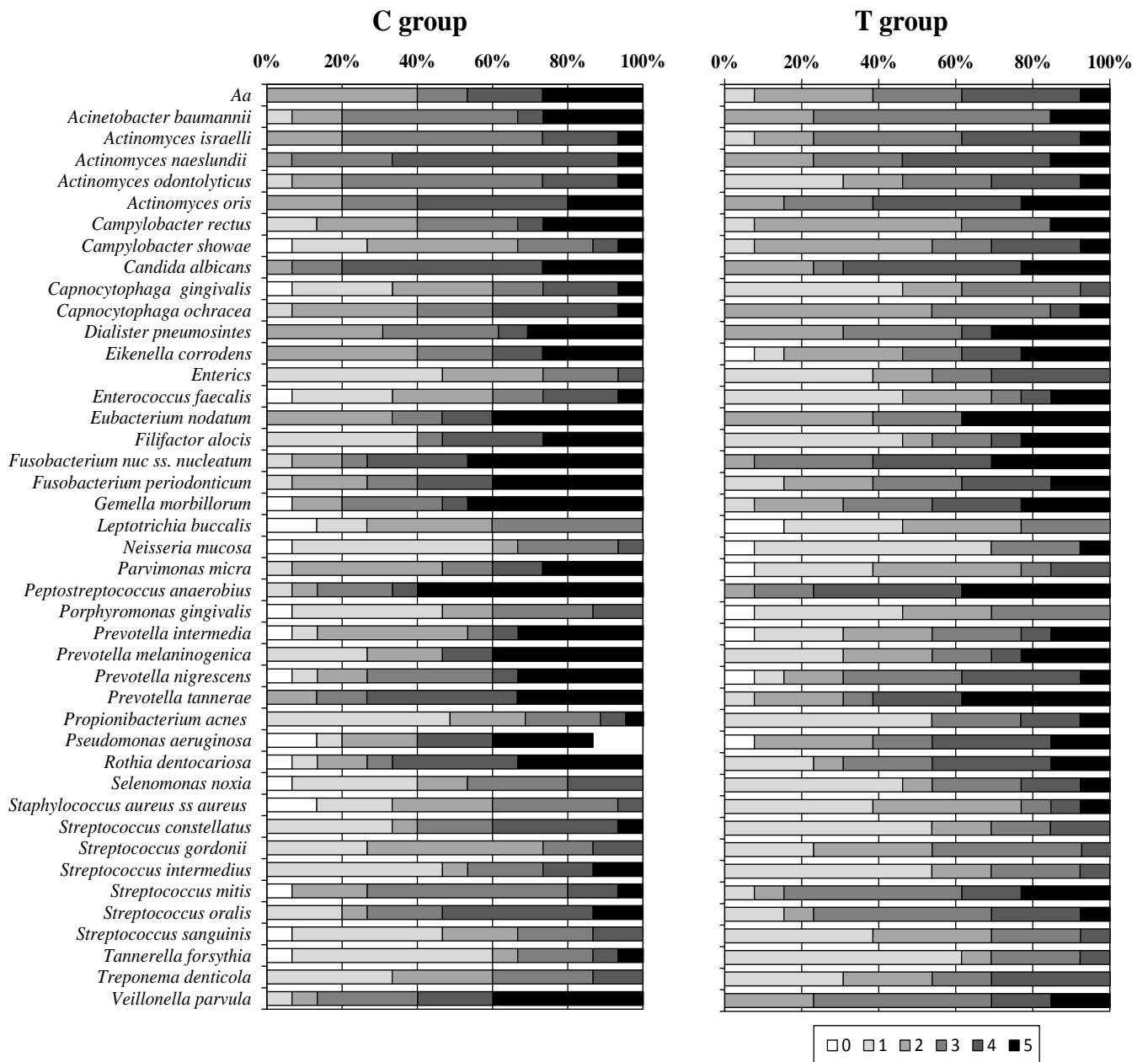
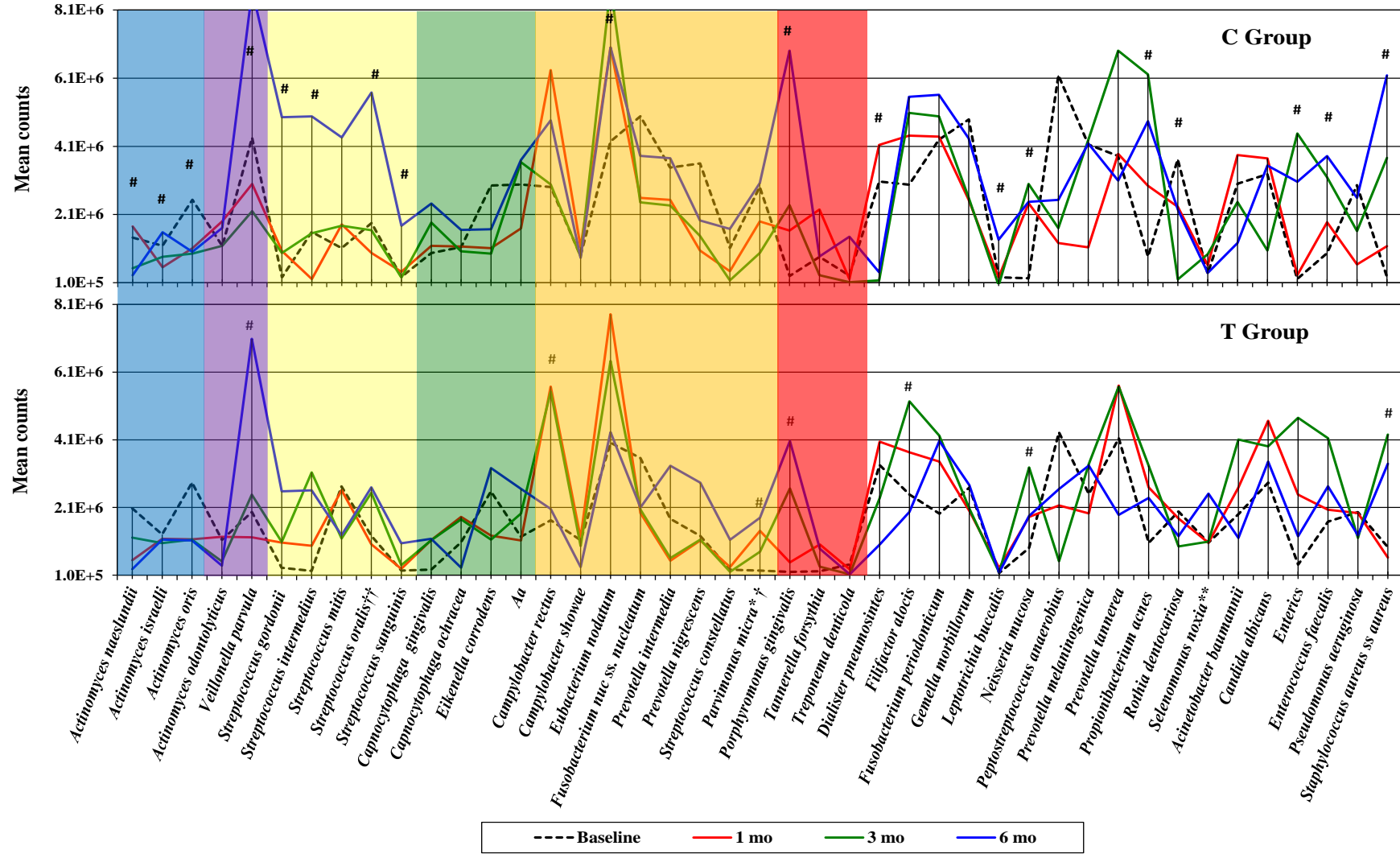


Figure 2S



4. DISCUSSÃO

Sabe-se que o controle do biofilme supragengival é um fator primordial no êxito da terapia periodontal (OVERHOLSER *et al.*, 1990; LANG *et al.*, 1982; dePAOLA *et al.*, 1989; SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2002). Entretanto, os métodos tradicionais de higiene bucal são realizados de modo ineficiente pela maioria dos indivíduos da população em geral (MARECHAL, 1991; BAKER, 1995; CORTELLI & THENÓUX, 2007). Dessa forma, antimicrobianos tópicos, na forma de géis, enxaguantes orais ou soluções de irrigação periodontal têm sido preconizados como agentes adjuntos ao controle mecânico do biofilme. Dentre esses antimicrobianos, a CHX é o mais eficiente antisséptico bucal na redução do biofilme dental e inflamação periodontal, considerado como agente padrão-ouro no controle da placa e gengivite (ADDY & MORAN, 1997; SLOTS, 2012). Entretanto, seu uso é limitado em virtude dos seus efeitos colaterais e também do custo relativamente alto (FLOTRA *et al.*, 1971; WATTS & ADDY, 2001). Antimicrobianos de baixo custo, alta eficácia, segurança e ampla disponibilidade no mercado, como o NaOCl, tem sido investigados como possíveis agentes alternativos para o controle do biofilme dental (BRUCH, 2007; AMERICAN DENTAL ASSOCIATION, 1984). Apesar do grande potencial do NaOCl como antisséptico oral, um número muito limitado de estudos, principalmente randomizados e controlados, investigaram a eficácia do NaOCl como enxaguante bucal (LOBENE *et al.*, 1972; De Nardo *et al.*, 2012; GALVAN *et al.*, 2014; GONZALEZ *et al.*, 2015; BIZZARRO *et al.*, 2016).

O presente estudo duplo-cego, controlado e randomizado avaliou por um período de 6 meses o efeito adjunto do NaOCl a 0.1% utilizado como enxaguatório bucal na profilaxia periodontal profissional para redução do biofilme supragengival, inflamação gengival e níveis de patógenos microbianos orais em pacientes com gengivite. O perfil microbiano foi determinado através da análise da composição da saliva e biofilme subgengival. A escolha da concentração ideal do NaOCl foi avaliada inicialmente em experimentos pilotos. Pode-se observar que concentrações acima de 0,1% eram imediatamente percebidas pelos participantes voluntários, provavelmente pelo forte odor e sabor amargo, o que inviabilizaria o cegamento do estudo. Considerando a concentração recomendada pela ADA (1984) e os efeitos antimicrobianos obtidos nesses experimentos pilotos, a concentração de 0,1% foi a empregada nesse estudo. Em comparação com as concentrações utilizadas, por exemplo, na terapia endodôntica (2,5 a 5%), essa concentração de 0,1% é bastante diluída e pode não ser a mais eficaz contra o biofilme dental, o que justificaria os resultados clínicos e microbiológicos semelhantes ao placebo com água destilada. Concentrações mais elevadas, como a de 0,25% e

0,50%, tem sido propostas, mas não para uso diário (GALVAN *et al.*, 2014; GONZALEZ *et al.*, 2015). Nesses estudos, a proposta era utilizar o NaOCl a 0,25% 2 vezes por semana, na ausência de terapia periodontal ou procedimentos de higiene oral para avaliação da formação de biofilme. Os autores reportaram uma eficácia muito superior ao placebo, entretanto a falta de aderência ao tratamento que teve uma curta duração de 3 meses foi extremamente alta, com cerca de 40% de perda de participantes. É possível que essa perda possa estar relacionada aos efeitos adversos no NaOCl, mas os autores não atribuem a alta taxa de perda a esses efeitos, declarando que a principal queixa foi o gosto amargo, sem maiores complicações (DE NARDO *et al.*, 2012; GALVAN *et al.*, 2014; GONZALEZ *et al.*, 2015). Já no recente estudo de BIZZARRO e colaboradores (2016) utilizam o irrigação de NaOCl a 0,50% em bolsas periodontais, apresentando um baixo índice de perda de indivíduos (10%) e nenhum efeito colateral ao longo do acompanhamento. De fato, o principal efeito colateral reportado em nosso estudo foi o gosto amargo. Porém, nossa taxa de perda de indivíduos da amostra após tratamento foi relativamente baixa (12.5%). Dos 4 pacientes que não retornaram para a avaliação de 1 mês, 2 foram excluídos pelo uso de antibióticos e os outros 2 não retornaram por motivos desconhecidos. De um total de 28 indivíduos que foram avaliados 1 mês pós-terapia, 6 perderam a re-avaliação de 3 meses e apenas 1 não retornou para a última avaliação de 6 meses. Esse período de re-avaliação aos 3 meses coincidiu com um período turbulento na UFRJ, visto que foi um período de greve de docentes e funcionários, o que justifica o alto número de indivíduos não avaliados. Considerando que as faltas a essas avaliações não ocorreram por problemas com o tratamento ou com a randomização, foram utilizados métodos de imputação para dados perdidos a fim de não se reduzir o tamanho amostras e a potência do estudo (WERTZ, 1995; SANDEEP, 2011).

Os dados clínicos obtidos ao longo dos 6 meses de monitoramento demonstraram que pacientes com gengivite de ambos os grupos terapêuticos apresentaram uma redução bastante significativa no acúmulo de biofilme supragengival e inflamação gengival, bem como sangramento à sondagem e presença de cálculo. Ou seja, o uso diário de solução de NaOCl a 0,1% como enxaguante oral por um período de 4 semanas após a profilaxia periodontal não apresentou nenhum efeito benéfico adicional à profilaxia combinada ao placebo. O mesmo também foi observado no estudo que fez uso irrigação subgengival de NaOCl a 0,5% em bolsas periodontais (BIZZARRO *et al.*, 2016). Ao contrário desses achados, outros autores reportaram maior eficácia do enxaguatório com NaOCl sobre o biofilme supragengival e a gengivite em relação ao placebo (DE NARDO *et al.*, 2012; GALVAN *et al.*, 2014;

GONZALEZ *et al.*, 2015). Provavelmente, esses dados contraditórios resultam de diferenças metodológicas entre os estudos, tais como a concentração do NaOCl empregada, o desenho do estudo, a condição clínica periodontal da amostra, e como, com que frequência e por quanto tempo o antisséptico foi administrado (LOBENE *et al.*, 1972; DE NARDO *et al.*, 2012; GALVAN *et al.*, 2014; GONZALEZ *et al.*, 2015). Nos estudos de Lobene e De Nardo e colaboradores, utilizou-se um modelo de gengivite experimental no qual o antisséptico NaOCl foi usado como um substituto, e não uma terapia adicional ao controle mecânico do biofilme pelos métodos convencionais de higiene oral. Nesse sentido, houve menor formação de biofilme supragengival e, conseqüentemente de inflamação gengival nos indivíduos que utilizaram o NaOCl durante os 21 dias sem higiene oral em comparação ao grupo que enxaguou com água destilada (LOBENE *et al.*, 1972; DE NARDO *et al.*, 2014). Já Galvan *et al.* (2014) e Gonzalez *et al.* (2015) utilizaram o dobro da concentração de NaOCl (0,25%) que utilizamos, porém limitaram seu uso a 2 vezes por semana. Os 30 pacientes do estudo tinham periodontite crônica e, além do enxaguatório, receberam irrigação subgengival com o NaOCl ou placebo no início do estudo e após 2 semanas utilizando o enxaguante, sem nenhuma terapia mecânica periodontal. Após 2 semanas, houve uma redução significativa de biofilme supragengival na face vestibular dos dentes no grupo que usou o NaOCl, enquanto não houve nenhuma diferença do grupo placebo. Na avaliação de 3 meses, somente 12 pacientes completaram o estudo. Ainda assim, houve uma redução significativa no sangramento à sondagem no grupo teste em relação ao placebo. Esse efeito do enxaguante na inflamação periodontal, mesmo em bolsas moderadas e profundas, foi atribuído à redução do biofilme supragengival pelo NaOCl, o que teria um impacto benéfico na microbiota subgengival (XIMENEZ - FYVIE *et al.*, 2000; HAFFAJEE *et al.*, 2003; CARVALHO *et al.*, 2004; GONZALEZ *et al.*, 2015). Por outro lado, o NaOCl também parece ter uma ação anti-inflamatória (LEUNG *et al.*, 2013; MAINNEMARE *et al.*, 2004). Não fica claro, entretanto, se os pacientes utilizaram o NaOCl durante os 3 meses, ou apenas por 2 semanas para justificar tal efeito. É importante ressaltar que as análises de 3 meses foram feitas a nível de sítio e dente, e não a nível de paciente, aumentando assim o tamanho amostral. Os poucos estudos que reportam uma eficácia anti-placa e anti-gengivite significativa do NaOCl como antisséptico oral apresentam inúmeras limitações e seus resultados devem ser interpretados com cautela. Nenhum desses estudos avaliaram os efeitos a longo prazo do uso do NaOCl como enxaguatório bucal, tanto os efeitos benéficos como os adversos. Além disso, a utilização do NaOCl, seja como enxaguante ou irrigante de bolsas periodontais, deveria ser

preconizada como uma terapia adjunta à terapia mecânica periodontal no controle do biofilme dental, principalmente em pacientes com periodontite. O uso de NaOCl como irrigante em bolsas periodontais adjunto à terapia mecânica periodontal foi avaliado por um grupo de pesquisadores, não sendo reportado nenhum efeito clínico e microbiológico adjunto (BIZZARRO *et al.*, 2016). Entretanto o desenho experimental do estudo apresentou-se um pouco controverso, visto que foi utilizado durante 28 dias previamente a terapia mecânica periodontal bochecho de clorexidina a 0,12% 2 vezes ao dia, dificultando a avaliação da ação do NaOCl.

Apesar dos parâmetros de profundidade de sondagem e nível clínico de inserção não serem as principais variáveis clínicas de nossas análises, pudemos observar que houve um aumento significativo e progressivo dessas medidas em ambos os grupos terapêuticos ao longo do tempo. Esse aumento foi mais lento no grupo T até os 3 meses. Em termos clínicos, o aumento na profundidade de sondagem e nível clínico de inserção (em média de 0,2 mm) nos dois grupos foi irrelevante e até esperado, visto que nossos pacientes tinham gengivite e profundidade de sondagens entre 1 e 3 mm. Como relatado em outros estudos, sítios com essas profundidades de sondagem tendem a perder até 0,4 mm de inserção após instrumentação periodontal mecânica (COBB *et al.*, 1996; HUNG & DOUGLASS, 2002; VAN DER WEIJDEN & TEMMERMAN, 2002; FAVERI *et al.*, 2005).

Em relação ao impacto do uso contínuo de enxaguante com NaOCl na microbiota oral, não há informação suficiente disponível na literatura científica. Atualmente, vivemos uma era voltada à eliminação total de germes, não só do meio ambiente como de nossos organismos. Entretanto, estudos vem demonstrando que a utilização massiva de antissépticos sob a forma de loções, sabonetes, álcool géis, etc pode levar a uma diminuição na diversidade de nosso microbioma, resultando no surgimento de diversas doenças (REID *et al.*, 2011; CHO & BLASER, 2012). Logo, é de extrema importância que avaliemos o impacto a curto e longo prazo do uso diário de antimicrobianos tópicos orais na composição da microbiota oral. Nossa análise microbiológica envolveu tanto a avaliação da microbiota salivar quanto do biofilme subgengival.

Apesar da saliva representar basicamente a microbiota predominante da língua (MAGER *et al.*, 2003), a identificação de patógenos periodontais na saliva apresenta uma forte correlação com o diagnóstico clínico periodontal (UMEDA *et al.*, 1998; EGER *et al.*, 1996). De fato, a análise pré-terapia da saliva de nossos pacientes portadores de gengivite revelou alta prevalência e altos níveis de várias espécies orais, incluindo membros do

complexo laranja associados ao quadro clínico de gengivite (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2005). Além desses, patógenos oportunistas também foram detectados em níveis elevados (SOUTO & COLOMBO, 2008a; 2008b). Poucas foram as alterações na frequência de detecção (colonização) dessas espécies nos dois grupos terapêuticos durante o monitoramento pós-terapia. Por outro lado, foi possível observar um aumento na contagem de várias espécies microbianas, incluindo espécies compatíveis com saúde periodontal (estreptococos orais e *V. Parvula*), e também espécies patogênicas.

Em relação à composição do biofilme subgengival, também pode-se observar uma alta frequência e altos níveis de vários patógenos periodontais, e espécies oportunistas, como já descrito para pacientes com DP em outros trabalhos (RAMS *et al.*, 1990; RAMS *et al.*, 1992; COLOMBO *et al.*, 2005; 2009; 2016; FERRARO *et al.*, 2007; SOUTO & COLOMBO, 2008a; 2008b; SUN *et al.*, 2009; CUESTA *et al.*, 2010; HELLER *et al.*, 2011; 2012; SILVA-SENEM *et al.*, 2013; SILVA-BOGHOSSIAN *et al.*, 2011; 2014). O impacto da profilaxia supragengival associada ao NaOCl ou placebo foi bastante modesto, apesar da maioria das espécies ter reduzido em prevalência ao longo dos 6 meses.

Conforme relatado por outros pesquisadores (HAFFAJEE *et al.*, 1997; CUGINI *et al.*, 2000; COLOMBO *et al.*, 2005), a terapia periodontal mecânica não-cirúrgica tem um impacto menos pronunciado sobre a frequência do que sobre as contagens de espécies microbianas no biofilme periodontal. Este fato reflete a característica de resiliência da nossa microbiota oral, que tendem a recuperar e re-colonizar os mesmos habitats oral após uma mudança (profilaxia e/ou antimicrobiana tópica) (DEWHIRST *et al.*, 2010). No entanto, a recolonização após a terapia normalmente ocorre em níveis mais baixos do que os níveis pré-terapia. Na verdade, mais de 65% das espécies testadas foram detectadas em contagens inferiores aos 6 meses em ambos os grupos, incluindo vários patógenos periodontais, mas também algumas espécies relacionadas com a saúde periodontal, como o estreptococos orais e *N. mucosa*. Os patógenos oportunistas *E. faecalis* e *P. aeruginosa* foram detectados em contagens superiores aos 6 meses em ambos os grupos, ao passo que entéricos gram-negativos apresentaram-se aumentados após terapia e, em seguida, em níveis menores em ambos os grupos. O aumento dos níveis destes microrganismos no biofilme pode ser um resultado da redução de várias outras bactérias orais, que podem ter aberto um novo nicho para estas espécies. Embora as diferenças significativas nas médias de algumas espécies foram observadas entre os grupos no 1 e 3 meses após a terapia, aos 6 meses foi detectada *F. alocis* em contagens mais elevadas no grupo C em comparação com o grupo T. Esta espécie tem sido

considerada como um importante patógeno periodontal e associada com infecção endodôntica persistente (COLOMBO *et al.*, 2009; SIQUEIRA & RÔÇAS, 2009), e a sua redução deve ser considerada como um alvo para o tratamento com agentes antimicrobianos. Clustering de espécies de biofilme subgingival em complexos microbianas também revelou mudanças semelhantes em ambos os grupos ao longo do tempo. Exceto para os estreptococos, complexos relacionados com a saúde aumentou em 6 meses, particularmente no grupo T. Além disso, o complexo vermelho patogênico teve uma redução mais pronunciada no grupo T, enquanto que mostrou uma tendência para voltar aos níveis da linha de base no grupo de placebo. Em geral, as mudanças ao longo do tempo sobre o perfil microbiológico da microbiota subgingival foram bastante semelhantes entre os grupos, corroborando a semelhança na resposta clínica a ambos os tratamentos.

Apesar do NaOCl ser eficiente, seguro e de baixo custo, o seu uso a curto prazo como um enxaguatório bucal, a baixa concentração recomendada de 0,1%, não proporciona benefícios clínicos e/ou microbiológicos adicionais para a profilaxia periodontal mecânica em indivíduos com gengivite. Novas investigações clínicas testando concentrações mais elevadas e/ou longos períodos de administração são incentivados para determinar se este antimicrobiano pode realmente ser recomendado como um anti-séptico bucal diário.

5. CONCLUSÃO

A solução de hipoclorito de sódio à 0,1% utilizada como antisséptico bucal coadjuvante à profilaxia periodontal não apresentou eficácia superior à profilaxia ultra-sônica de forma isolada na redução do biofilme supragengival, inflamação gengival e níveis de patógenos periodontais e oportunistas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, D.; ADDY, M. **Mouthrinses.** *Adv Dent Res*, 8, 291-301, 1994.

ADDY, M. **Chlorhexidine compared with other locally delivered antimicrobials.** A short review. *J Clin Periodontol*, 13, 957-964, 1986.

ADDY, M.; MORAN, J.M. **Clinical indications for the use of chemical adjuncts to plaque control: chlorhexidine formulations.** *Periodontol 2000*, 15, 52-54, 1997.

ADDY, M. **Oral hygiene products: potential for harm to oral and systemic health?** *Periodontol 2000*, 48, 54-65, 2008.

AKL, E.A.; GADDAM, S.; GUNUKULA, S.K.; HONEINE, R.; JAOUDE, P.A.; IRANI, J. **The effects of waterpipe tobacco smoking on health outcomes: a systematic review.** *Int J Epidemiol*, 39(3), 834-57, 2007.

ALBANDAR, J. M. **Periodontal diseases in North America.** *Periodontology 2000*, 29, 31-69, 2002.

ALBERT-KISZELY, A.; PJETURSSON, B.E.; SALVI, G.E.; WITT, J.; HAMILTON, A.; PERSSON, G.R.; LANG, N.P. **Comparison of the effects of cetylpyridinium chloride with an essential oil mouth rinse on dental plaque and gingivitis – a six-month randomized controlled clinical trial.** *J Clin Periodontol*, 34, 658-667, 2007.

AL-YAHFOUFI, Z.; MOMBELLI, A.; WICKI, A.; LANG, N. P. **The effect of plaque control in subjects with shallow pockets and high prevalence of periodontal pathogens.** *Journal of Periodontology*, 22, 78-84, 1995.

AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. *Terapeutica Dental aceites.* Chicago, IL: ADA, 326, 1984.

ANDERSON, R.L.; VESS, R.W.; PANLILIO, A.L.; FAVERO, M.S. **Prolonged survival of *Pseudomonas cepacia* in commercially manufactured povidone-iodine.** *Appl Environ Microbiol*, 56, 3598-3600, 1990.

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

ARMITAGE, G.C. **Comparison of the microbiological features of chronic and aggressive periodontitis.** *Periodontol 2000*, 53, 70–88, 2010.

ARTESE, H.P.; SOUSA, C.O.; TORRES, M.C.; SILVA-BOGHOSSIAN, C.M.; COLOMBO, A.P. **Effect of non-surgical periodontal treatment on the subgingival microbiota of patients with chronic kidney disease.** *Braz Oral Res*, 26(4), 366-372, 2012.

ASIKAINEN, S.; ALALUUSUA, S.; SAXE'N, L. **Recovery of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* from teeth, tongue, and saliva.** *Journal of Periodontology*, 62, 203–206, 1991.

ATTIN, T.; HORNECKER, E.; LOESCHE, W. J.; SYED, S. A. **Tooth brushing and oral health:how frequently and when should tooth brushingbe performed?** *Oral Health and Preventive Dentistry*, 3, 135–140, 2005.

AXELSSON, P.; LINDHE, J. **The significance of maintenance care in the treatment of periodontal disease.** *Journal of Clinical Periodontology*, 8, 281–294, 1981.

AXELSSON, P.; LINDHE, J.; NYSTROM, B. **On the prevention of caries and periodontal disease. Results of a 15-year longitudinal study in adults.** *Journal of Clinical Periodontology*, 18, 182–189, 1991.

AXELSSON, P.; NYSTROM, 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.** *Journal of Clinical Periodontology*, 31, 749–757, 2004.

BADERSTEN, A.; NILVEUS, R.; EGELBERG, J. **Effect of nonsurgical periodontal therapy. I.Moderately advanced periodontitis.** *Journal of Clinical Periodontology*, 8, 57–72, 1981.

BAEHNI, P.C. & TAKEUCHI, Y. **Anti-plaque agents in the prevention of biofilm-associated oral diseases.** *Oral Diseases*, 9(1), 23-29, 2003.

BAELUM, V. & SCHEUTZ, F. **Periodontal diseases in Africa.** *Periodontology 2000*, 79–103, 2002.

BAKER, Z.; HARRISON, R.W.; MILLER, B.F. **Action of synthetic detergents on the metabolism of bacteria.** *J Exp Med*, 73, 249–271, 1941.

BAKER, K.A. **The role of dental professionals and the patient in plaque control.** *Periodontol 2000*, 8, 108–113, 1995.

BARNETT, M. L. **The role of therapeutic antimicrobial mouthrinses in clinical practice. Control of supragingival plaque and gingivitis.** *Journal of the American Dental Association*, 134, 699, 2003.

BARNETT, M. L. **The rationale for the daily use of an antimicrobial mouthrinse.** *Journal of the American Dental Association*, 137(11), 16S–21S, 2006.

BAUROTH, K.; CHARLES, C.; MANKODI, S. et al. **Essential oil mouthrinses vs. flossing: antiplaque/antigingivitis efficacy.** *J Dent Res*, 8, 2867, 2001.

BEIKLER, T.; FLEMMIG, T.F. **Oral biofilm-associated diseases: trends and implications for quality of life, systemic health and expenditures.** *Periodontol 2000*, 55, 87–103, 2011.

BERCHIER, C. E.; SLOT, D. E.; VAN DER WEIJDEN, G. A. **The efficacy of 0.12% chlorhexidine mouthrinse compared with 0.2% on plaque accumulation and periodontal parameters: a systematic review.** *Journal of Clinical Periodontology*, 37, 829–839, 2010.

BIZZARRO, S.; VAN DER VELDEN, U.; LOOS, B.G. **Local disinfection with sodium hypochlorite as adjunct to basic periodontal therapy: a randomized controlled trial.** *J Clin Periodontol*, 2016 doi: [10.1111/jcpe.12578](https://doi.org/10.1111/jcpe.12578).

BLOCK, S.S. **Quaternary ammonium antimicrobial compounds.** In: Block SS, editor. *Disinfection, sterilization and preservation*. Philadelphia: Lea & Febiger; 4 ed, 225-55, 1991.

BOLLEN, C.M.; VANDEKERCKHOVE, B.N.; PAPAIOANNOU, W.; VAN ELDERE, J.; QUIRYNEN, M. **Full- versus partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections. A pilot study: long-term microbiological observations.** *J Clin Periodontol*, 23, 960–970, 1996.

BOLLEN, C. M. L.; MONGARDINI, C.; PAPAIOANNOU, W.; QUIRYNEN, M. **The effect of a full-mouth disinfection on different intra-oral niches. Clinical and microbiological observations.** *Journal of Clinical Periodontology*, 25, 56–66, 1998.

BREX, M. C.; GAUTSCHI, M.; GEHR, P.; LANG, N. P. **Variability of histologic criteria in clinically healthy human gingival.** *Journal of Periodontal Research*, 22, 468–472, 1987.

BREX, M. C.; LEHMANN, B.; SIEGWART, C. M.; GEHR, P.; LANG, N. P. **Observations on the initial stages of healing following human experimental gingivitis.** *Journal of Clinical Periodontology*, 15, 123–129, 1988.

BRUCH, M.K. **A toxicidade e segurança de hipoclorito de sódio a tópica.** *Contrib Nephrol*, 154, 24-38, 2007.

BUERGERS, R.; ROSENTRITT, M.; SCHNEIDER-BRACHERT, W.; BEHR, M.; HANDEL, G.; HAHNEL, S. **Efficacy of denture disinfection methods in controlling *Candida albicans* colonization in vitro.** *Acta Odontol Scand*, 66, 174–180, 2008.

CARRANZA F. A., NEWMAN M. G., TAKEI H. H. **Periodontia Clínica.** 9ª edição. São Paulo. Guanabara Koogan, 2003.

CARVALHO, L. H.; D'A VILA, G. B.; LEÃO, A.; HAFFAJEE, A. D.; SOCRANSKY, S. S.; 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.** *Journal of Clinical Periodontology*, 31, 1070–1076, 2004.

CARVALHO, L. H.; D'A VILA, G. B.; LEÃO, A.; HAFFAJEE, A. D.; SOCRANSKY, S. S.; 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.** *Journal of Clinical Periodontology*, 32, 406–411, 2005.

CHARLES, C.H.; PAN, P.C.; STURDIVANT, L.; VINCENT, J.W. **In vivo antimicrobial activity of an essential oil-containing mouthrinse on interproximal plaque bacteria.** *J Clin Dent*, 11, 94-97, 2000.

CHARLES, C. H.; SHARMA, N. C.; GALUSTIANS, H. J.; QAQISH, J.; MCGUIRE, J. A.; VINCENT, J. W. **Comparative efficacy of an antiseptic mouthrinse and an antiplaque/antigingivitis dentifrice. A six-month clinical trial.** *Journal of the American Dental Association*, 132,670–675, 2001.

CHÁVEZ DE PAZ, L.E.; BERGENHOLTZ, G.; SVENSÅTER, G. **Os efeitos deantimicrobianos em bactérias do biofilme endodônticos.** *J Endod*, 36, 60-77, 2010.

CHO, I., BLASER, M.J. **The human microbiome: at the interface of health and disease.** *Nature Reviews Genetics*, 13, 260-270, 2012.

CIANCIO, S. G.; MATHER, B. S.; BURNELL, H. L. **Clinical evaluation of a quaternary ammonium containing mouthrinse.** *Journal of Periodontology*, 46, 397–400, 1975.

CIANCIO, S.G.; SHIBLY, O.; MATHER, M.L.; BESSINGER, M.A.; SEVERO, N.C.; SLIVKO, J. **Clinical effects of a stannous fluoride mouthrinse on plaque.** *Clin Prev Dent*, 14, 27-30, 1992.

CIONCA, N.; GIANNOPOULOU, C.; UGOLOTTI, G.; MOMBELLI, A. **Amoxicillin and Metronidazole as an Adjunct to Full-Mouth Scaling and Root Planing of Chronic Periodontitis.** *Journal of Periodontology*, 80(3), 364-371, 2009.

CLANAHAN, S.F.; BARTIZEK, R.D. **Effects of triclosan/copolymer dentifrice on dental plaque and gingivitis in a 3-month randomized controlled clinical trial: influence of baseline gingivitis on observed efficacy.** *J Clin Dent.*, 13(4), 167-78, 2002.

CLARKSON, R.M. & MOULE, A.J. **Sodium hypochlorite and its use as an endodontic irrigant.** *Australian Dental Journal*, 43(4), 250–256, 1998.

CLAYDON, N.; SMITH, S.; STILLER, S.; NEWCOMBE, R.G.; ADDY, M. **A comparison of the plaque-inhibitory properties of stannous fluoride and low-concentration chlorhexidine mouthrinses.** *Journal of Clinical Periodontology*, 29, 1072–1077, 2002.

COLOMBO, A. P.; TELES, R. P.; TORRES, M. C.; ROSALEM, W.; MENDES, M. C.; SOUTO, R. M.; UZEDA, M. **Effects of non-surgical mechanical therapy on the subgingival microbiota of Brazilians with untreated chronic periodontitis: 9-month results.** *Journal of Periodontology*, 76, 778–784, 2005.

COLOMBO, A.V.; SILVA, C.M.; HAFAJEE, A.; COLOMBO, A.P. **Identification of oral bacteria associated with crevicular epithelial cells from chronic periodontitis lesions.** *J. Med. Microbiol*, 55(5), 609-615, 2006.

COLOMBO, A. V.; SILVA, C. M.; HAFAJEE, A.; COLOMBO, A. P. V. **Identification of intracellular oral species within human crevicular epithelial cells from subjects with chronic periodontitis by fluorescence in situ hybridization.** *Journal of Periodontal Research*, 42, 236-243, 2007.

COLOMBO, A.P.V.;BOCHES, S.K.; COTTON, S.L.; GOODSON, J.M.; KENT, R.; SOCRANSKY, S.S.; HASTURK, H.; VANDYKE, T.E.; DEWHIRST,F.; PASTER, B.J.

Comparisons of subgingival microbial profiles of refractory periodontitis, severe periodontitis and periodontal health using the human oral microbe identification microarray. *J Periodontol*, 80(9), 1421-1432, 2009.

COLOMBO, A. P. V.; BENNET, S.; COTTON, S.L.; GOODSON, J.M.; KENT, R.; HAFFAJEE, A.D.; SOCRANSKY, S.S.; HASTURK, H.; VAN DYKE, T.E.; DEWHIRST, F.E.; PASTER, B.J. **Impact of Periodontal Therapy on the Subgingival Microbiota of Severe Periodontitis: Comparison between Good Responders and Refractory Subjects by the Human Oral Microbe Identification Microarray (HOMIM).** *Journal of Periodontology*, 83, 1279-1287, 2012.

COLOMBO, A.P.V.; MAGALHÃES, C.B.; HARTENBACH, F.A.; SOUTO, R.M.; SILVA-BOGHOSSIAN, C.M. **Periodontal-disease-associated biofilm: A reservoir for pathogens of medical importance.** *Microb Pathog.*, 94, 27-34, 2016.

COOB, C.M. **Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence-based perspective of scaling and root planing.** *J Clin Periodontol*, 22(2), 6-16, 2002.

CORTELLI, J.R.; THENÓUX, R.E.S. **The effect of mouthrinses against oral microorganisms.** *Braz Oral Res*, 21, 23-8, 2007.

CORTELLI, S.C.; CAVALLINI, F.; ALVES, M.F.R.; BEZERRA JR, A.A.; QUEIROZ, C.C.; CORTELLI, J.R. **Clinical and microbiological effects of an essential-oil-containing mouth rinse applied in the “one-stage full-mouth disinfection” protocol—a randomized doubled-blinded preliminary study.** *Clin Oral Invest*, 13, 189–194, 2009.

COSTERTON, J.W.; COOK, G.; LAMONT, R. **The community architecture of biofilms: dynamic structures and mechanisms.** In: Newman HN, Wilson M, editors. *Dental plaque revisited: Oral Biofilms in Health and Disease.* Cardiff: Bioline, 5-14, 1999.

COSYN, J.; WYN, I.; ROUCK, T.; SABZEVAR, M.M. **Subgingival Chlorhexidine Varnish Administration as an Adjunct to Same-Day Full-Mouth Root Planing. I. Clinical Observations.** *Journal of Periodontology*, 78(3), 430-437, 2007.

COUNCIL ON DENTAL THERAPEUTICS. **Guidelines for acceptance of chemotherapeutic products for the control of supragingival dental plaque and gingivitis.** *Journal of the American Dental Association*, 112, 529–532, 1986.

CUESTA, A.I.; JEWUCHOWICZ, V.; BRUSCA, M.I.; NASTRI, M.L.; ROSA, A.C. **Prevalence of Staphylococcus spp and Candida spp in the oral cavity and periodontal pockets of periodontal disease patients.** *Acta Odontol Latinoam*, 23, 20–26, 2010.

CUGINI, M. A.; HAFFAJEE, A. D.; SMITH, C.; KENT, R. L. JR.; SOCRANSKY, S. S. **The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal disease: 12-month results.** *Journal of Clinical Periodontology*, 27, 30–36, 2000.

CUMMING, B.R.; LOE, H. **Optimal dosage and method for delivering chlorhexidine solutions for the inhibition of dentalplaque.** *J Periodont Res*, 8, 57-62, 1973.

CURSONS, R. T. M.; BROWN, T.J.; KEYS, E.A. **Effect of disinfectants on pathogenic free-living amoebae: in axenic conditions.** *Appl. Environ. Microbiol*, 40, 62–66, 1980.

DAHLEN, G.; MANJI, F.; BAELUM, V.; FEJERSKOV, O. **Putative periodontopathogens in “diseased” and “non-diseased” persons exhibiting poor oral hygiene.** *Journal of Clinical Periodontology*, 19, 35– 42, 1992.

DAJANI, A.; TAUBERT, K.A.; WILSON, W.; BOLGER, A.F.; BAYER, A.; FERRIERI, P.; GEWITZ, M.H.; SHULMAN, S.T.; NOURI, S.; NEWBURGER, J.W.; HUTTO, C.; PALLASCH, T.J.; GAGE, T.W.; LEVISON, M.E.; PETER, G.; ZUCCARO, G. JR. **Prevention of bacterial endocarditis: recommendations by the American Heart Association.** *J Am Dent Assoc*, 128, 1142–1151, 1997.

DANSER, M. M.; VAN WINKELHOFF, A. J.; DE GRAAFF, J.; LOOS, B.G.; VAN DER VELDEN, U. **Short-term effect of full-mouth extraction on periodontal pathogens colonising the oral mucous membranes.** *Journal of Clinical Periodontology*, 21, 484–489, 1994.

DARBY, I.B.; HODGE, P.J.; RIGGIO, M.P.; KINANE, D.F. **Clinical and microbiological effect of scaling and root planing in smoker and non-smoker chronic and aggressive periodontitis patients.** *J Clin Periodontol*, 32, 200–206, 2005.

DE NARDO, R.; CHIAPPE, V.; GOMEZ, M.; ROMANELLI, H.; SLOTS, J. **Effect of 0.05% sodium hypochlorite oral rinse on supragingival biofilm and gingival inflammation.** *Int Dent J*, 62, 208–212, 2012.

DENTON, G.W. **Chlorhexidine. In: Disinfection, sterilization and preservation.** Philadelphia: Lea and Febiger, 4,274-289, 1991.

DE PAOLA, L. G.; OVERHOLSER, C. D.; MEILLER, T. F.; MINAH, G. E.; NIEHAUS, C. **Chemotherapeutic inhibition of supragingival dental plaque and gingivitis development.** *Journal of Clinical Periodontology*, 16, 311–315, 1989.

DEWHIRST, F.E., CHEN, T., IZARD, J., PASTER, B.J., TANNER, A.C.R., YU, W., LAKSHMANAN, A., WADE, W.G. **The human oral microbiome.** *J. Bacteriol*, 192(19), 5002-5017, 2010.

DOUNGUDOMDACHA, S.; RAWLINSON, A.; WALSH ,T.F.; DOUGLAS, C.W. **Effect of non-surgical periodontal treatment on clinical parameters and the numbers of Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia and Actinobacillus actinomycetemcomitans at adult periodontitis sites.** *J Clin Periodontol*, 28,437–445, 2001.

DUSS, C.; LANG, N. P.; COSYN, J.; PERSSON, R.G. **A randomized, controlled clinical trial on the clinical, microbiological, and staining effects of a novel 0.05% chlorhexidine/herbal extract and a 0.1% chlorhexidine mouthrinse adjunct to periodontal surgery.** *Journal of Clinical Periodontology*, 37, 988–997, 2010.

DYE, B.A. **Global periodontal disease epidemiology.** *Periodontol 2000*, 58(1), 10-25, 2012.

EGER, T., MULLER, H.P., HEINECKE, A. **Ultrasonic determination of gingival thickness subject variation and influence of tooth type and clinical features.** *Journal of Clinical Periodontology*, 23(9), 839-845, 1996.

ESTRELA,C.; ESTRELA, C.R.A.; BARBIN, E.L.; SPANÓ, J.C.E.; MARCHESAN, M.A.; PÉCORA, J.D. **Mechanism of action of sodium hypochlorite.** *Braz. Dent. J*, 13(2),113-117, 2002.

FAVERI, M. **Controle mecânico e químico da placa dentária supragengival associado à raspagem e alisamento radicular- estudo clínico e microbiológico.** 2005. 99 f. (Tese Mestrado em Odontologia)- Universidade Guarulhos, São Paulo.

FERRARO, C.T.; GORNIC, C.; BARBOSA, A.S.; PEIXOTO, R.J.; COLOMBO,A.P. **Detection of Dialister pneumosintes in the subgingival biofilm of subjects with periodontal disease.** *Anaerobe*, 13(5-6), 244-248, 2007.

FERES, M.; GURSKY, L.C.; FAVERI, M.; TSUZUKI, C.O.; FIGUEIREDO, L.C. **Clinical and microbiological benefits of strict supragingival plaque control as part of the active phase of periodontal therapy.** *J Clin Periodontol*, 36, 857–867, 2009.

FINE, D.H.; FURGANG, D.; LIEB, R.; KORIK, I.; VINCENT, J.W.; BARNETT, M.L. **Effects of sublethal exposure to an antiseptic mouthrinse on representative plaque bacteria.** *J Clin Periodontol*, 23, 444-451, 1996.

FINE, D.H.; FURGANG, D.; SINATRA, K.; CHARLES, C.; MCGUIRE, A.; KUMAR, L.D. **In vivo antimicrobial effectiveness of an essential oilcontaining mouth rinse 12 h after a single use and 14 days' use.** *J Clin Periodontol*, 32,335–340, 2005.

FINE, D.H.; MARKOWITZ, K.; FURGANG, D.; GOLDSMITH, D.; CHARLES, C.H.; LISANTE, T.A. *et al.* **Effect of an essential oil-containingantimicrobial mouthrinse on specific plaque bacteria *in vivo*.** *J Clin Periodontol*, 34(8), 652-7,2007a.

FINE, D.H.; MARKOWITZ, K.; FURGANG, D.; GOLDSMITH, D.; RICCI-NITTEL, D.; CHARLES, C.H. *et al.* **Effect of rinsing with an essential oilcontaining mouthrinse on subgingival periodontopathogens.** *J Periodontol*, 78(10), 1935-42, 2007b.

FLOTRA, L.; GJERMO, P.; ROLLA, G.; WAERHAUG, J. **Side effects of chlorhexidine mouthwashes.** *Scandinavian Journal of Dental Research*, 79, 119–125, 1971.

FRANCIS, J. R.; HUNTER, B.; ADDY, M. **A comparison of three delivery methods of chlorhexidine in handicapped children(1). Effects on plaque, gingivitis and toothstaining.** *Journal of Periodontology*, 58, 451–455, 1987a.

FRANCIS, J.R.; ADDY, M.; HUNTER, B. **A comparison of three delivery methods of chlorhexidine in handicapped children(2).Parent andhouse preferences.** *J Periodontol*, 58, 456–459,1987b.

FRANDBSEN, A. **Mechanical oral hygiene practices.** In: Loe, H. & Kleinman. D. V.(eds.): *Dental plaque control measures andoral hygiene praetiees.* **IRL** Press. Oxford, 93-116, 1986.

GALVAN, M.; GONZALEZ, S.; COHEN, C.L.; ALONAIZAN, F.A.; CHEN, CT-L.; RICH, S.K.; SLOTS, J. **Periodontal effects of 0.25% sodium hypochlorite twice-weekly oral rinse. A pilot study.** *J Periodont Res*, 49, 696-702, 2014.

GOMI, K.; YASHIMA, A.; NAGANO, T.; KANAZASHI, M.; MAEDA, N.; ARAI, T. **Effects of Full-Mouth Scaling and Root Planing in Conjunction With Systemically Administered Azithromycin.** *Journal of Periodontology*, 78 (3), 422-429, 2007.

GONZALEZ, S.; COHEN, C.L.; GALVAN, M.; ALONAIZAN, F.A.; RICH, S.K.; J. SLOTS, J. **Gingival bleeding on probing: relationship to change in periodontal pocket depth and effect of sodium hypochlorite oral rinse.** *J Periodont Res*, 50, 397-402, 2015.

GORDON, J. M.; LAMSTER, I. B.; SEIGER, M. C. **Efficacy of Listerine antiseptic in inhibiting the development of plaque and gingivitis.** *Journal of Clinical Periodontology*, 12, 697-704, 1985.

GOSAU, M.; HAHNEL, S.; SCHWARZ, F. **Efeito de seis diferentes métodos de Peri implantite desinfecção sobre in vivo biofilme oral humana.** *Clin Oral Implants Res*, 866-872, 2010.

GUNSOLLEY, J. C. **Clinical efficacy of antimicrobial mouthrinses.** *Journal of Dentistry*, 38, 6-10, 2010.

HAFFAJEE, A. D.; CUGINI, M. A.; DIBART, S.; SMITH, C.; KENT, R. L. JR.; SOCRANSKY, S.S. **The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases.** *Journal of Clinical Periodontology*, 24, 324-334, 1997.

HAFFAJEE, A. D.; ARGUELLO, E. I.; XIMENEZ-FYVIE, L. A.; SOCRANSKY, S. S. **Controlling the plaque biofilm.** *International Dental Journal*, 53, 191-199, 2003.

HAFFAJEE, A.D.; ROBERTS, C.; MURRAY, L.; VEIGA, N.; MARTIN, L.; TELES, R.P.; et al. **Effect of herbal, essential oil, and chlorhexidine mouthrinses on the composition of the subgingival microbiota and clinical periodontal parameters.** *J Clin Dent.*, 20(7), 211-217, 2009.

HARRISON, J.E.; SCHULTZ, J. **Estudos sobre a actividade de cloro da mieloperoxidase.** *J Biol Chem*, 251, 1871-1374, 1976.

HASE, J. C.; ATTSTROM, R.; EDWARDSSON, S.; KELTY, E.; KISCH, J. **6-month use of 0.2% delmopinol hydrochloride in comparison with 0.2% chlorhexidine digluconate and placebo. (I). Effect on plaque formation and gingivitis.** *Journal of Clinical Periodontology*, 25, 746-753, 1998.

HELLER, D.; VARELA, V.M.; SILVA-SENE, M.X.; TORRES, M.C.; FERES-FILHO, E.J.; COLOMBO, A.P. **Impact of systemic antimicrobials combined with anti-infective mechanical debridement on the microbiota of generalized aggressive periodontitis: a 6-month RCT.** *J Clin Periodontol*, 38(4), 365-364,2011.

HELLER, D.; SILVA-BOGHOSSIAN, C.M.; SOUTO, R.M.; COLOMBO, A.P. **Subgingival microbial profiles of generalizes aggressive and chronic periodontal diseases.** *Arch Oral Biol*, 57(7), 973-980, 2012.

HENDERSON, B.; WARD, J.M.; READY, D. **Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans: a triple A* periodontopathogen?** *Periodontol 2000*, 54, 78–105, 2010.

HOFFMANN, T.; BRUHN, G.; RICHTER, S.; NETUSCHIL,L.; BRECX, M. **Clinical controlled study on plaque and gingivitis reduction under long term use of low dose chlorhexidine solutions in a population exhibiting good oral hygiene.** *Clinical Oral Investigations*, 5, 89–95, 2001.

HUGO, W. B.; LONGWORTH, A. R. **Cytological aspects of the mode of action of chlorhexidine diacetate.** *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 17, 28–32, 1965.

HUJOEL, P.P.; CUNHA-CRUZ, J.; LOESCHE, W.J.; ROBERTSON, P.B. **Personal oral hygiene and chronic periodontitis: a systematicreview.** *Periodontol 2000*, 37, 29–34, 2005.

IKEDA, T.; TAZUKE, S. **Biocidal polycations.** *Polym Prep*,26, 226–227,1985.

JENKINS, S.; ADDY, M.; WADE, W.; NEWCOMBE, R.G. **The magnitude and duration of the effects of some mouthrinse products on salivary bacterial counts.** *J Clin Periodontol*, 21, 397–401, 1994.

JOYSTON-BECHAL, S.; HERNAMAN, N. **The effect of a mouthrinse containing chlorhexidine and fluoride on plaque and gingival bleeding.** *Journal of Clinical Periodontology*, 20, 49–53, 1993.

KALAGNA, A.; ADDY, M.; HUNTER, B. **Comparison of Chlorhexidine delivery by mouthwash and spray on plaque accumulation.** *J Periodontol*, 60, 127–130, 1989.

KALDAHL, W. B.; KALKWARF, K. L.; & PATIL, K. D. **A review of longitudinal studies that compared periodontal therapies.** *Journal of Periodontology*, 64, 243–253, 1993.

KEIJSER, J. A.; VERKADE, H.; TIMMERMAN, M. F.; VAN DER WEIJDEN, G. A. **Comparison of 2 commercially available chlorhexidine mouthrinses.** *Journal of Periodontology*, 74, 214–218, 2003.

KELLER, A.Z.; TERRIS, M. **The association of alcohol and tobacco with cancer of the mouth and pharynx.** *Am J Public Health*, 55, 1578–1588, 1964.

KILIAN, M.; FRANDBSEN, E.V.; HAUBEK, D.; POULSEN, K. **The etiology of periodontal disease revisited by population genetic analysis.** *Periodontol 2000*, 42, 158–179, 2006.

KIM, Y.J.; VIANA, A.C.; SCAREL-CAMINAGA, R.M. **Influences of genetic factors in the etiopathogenesis of periodontal disease.** *Rev Odontol UNESP*, 36,(2), 175-180, 2007.

KNOFLER, G.U.; YASHIMA, A.; NAGANO, T.; KANAZASHI, M.; MAEDA, N.; ARAL, T. **Effects of full-mouth scaling as root planning in conjunction with systemically administered Azithroycin.** *J Periodontol*, 78(11), 2135-2142, 2007.

KORNMAN, K.S. **The role of supragingival plaque in the prevention and treatment of periodontal diseases. A review of current concepts.** *J Periodontal Res*, 21(16), 5–22, 1986.

KOSHY, G.; CORBET, E.F.; LEUNG, W.K.; JIN, L.J. **Full-mouth disinfection versus one-stage mechanical debridement in the management of adult periodontitis – Clinical results.** *J DentRes*, 80, 1385, 2001.

KOSHY, G.; CORBET, E.F.; ISHIKAWA, I. **A full-mouth disinfection approach to nonsurgical periodontal therapy – prevention of reinfection from bacterial reservoirs.** *Periodontology 2000*, 36, 166–178, 2004.

LAMSTER, I. B.; ALFANO, M. C.; SEIGER, M. C.; GORDON, J. M. **The effect of Listerines Antiseptic on reduction of existing plaque and gingivitis.** *Clinical Preventive Dentistry*, 5, 12–16, 1983.

LANG, N. P.; CUMMING, B. R.; LOE, H. **Toothbrushing frequency as it relates to plaque development and gingival health.** *Journal of Periodontology*, 44, 396–405, 1973.

LANG, N.P.; HOTZ, P.; GRAF, H.; GEERING, A.H.; SAXER, U.P.; STURZENBERGER, O.P. **Effects of supervised chlorhexidine mouthrinses in children. A longitudinal clinical trial.** *J Periodontol Res*, 17(1), 101-11, 1982.

LANG, N. P.; BRECX, M. **Chlorhexidine digluconate – an agent for chemical plaque control and prevention of gingival inflammation.** *Journal of Periodontal Research*, 21, 74–89,2006.

LEONARDO, M.R. **Preparo biomecânico dos canais radiculares In: Endodontia: tratamento de canais radiculares: princípios técnicos e biológicos.** São Paulo: Artes Médicas, I,13, 450-487, 2005.

LEUNG, T.H.; ZHANG, L.F.; WANG, J.; NING, S.; KNOX, S.J.; KIM, S.K. **Topical hypochlorite ameliorates NF- κ B-mediated skin diseases in mice.** *J Clin Invest*, 123,5361–5370, 2013.

LINDHE, J.; NYMAN, S. **The effect of plaque control and surgical pocket elimination on the establishment and maintenance of periodontal health. A longitudinal study of periodontal therapy in cases of advanced disease.** *Journal of Clinical Periodontology*, 2, 67–79.1975.

LINDHE, J.; LILJENBERG, B.; ADIELSSON, B. **Effect of long-term tetracycline therapy on human periodontal disease.** *Journal of Clinical Periodontology*, 10, 590–601, 1983.

LINDHE, J.; LILJENBERG, B. **Treatment of localized juvenile periodontitis. Results after 5 years.** *Journal of Clinical Periodontology*,11, 399–410,1984.

LOBENE, R.R.; SOPARKAR, P.M.; HEIN, J.W. **Um estudo sobre os efeitos dos agentes anti-sépticos e de um dispositivo de irrigação pulsátil à placa e gengivite.** *JPeriodontol*,43, 564-568,1972.

LOE, H.; THEILADE, E.; JENSEN, S.B. **Experimental gingivitis in man.** *Journal of Periodontology*, 36, 177–87, 1965.

LOE, H.; SCHIOTT, C. R.; GLAVIND, L.; KARRING,T. **Two years oral use of chlorhexidine in man.** *Journal of Periodontal Research* , 11, 135–144, 1976.

LOOS, B.; CLAFFEY, N.; CRIGGER, M. **Effects of oral hygiene measures on clinical and microbiological parameters of periodontal disease.** *J Clin Periodontol*, 15, 211–216,1988.

LOOS, B.; CLAFFEY, N.; EGELBERG, J. **Clinical and microbiological effects of root debridement in periodontal furcation pockets.** *J Clin Periodontol*, 15, 453–463, 1988.

MAGER, D. L.; XIMENEZ-FYVIE, L. A.; HAFFAJEE, A. D.; SOCRANSKY, S. S. **Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces.** *J Clin Periodontol*, 30,644-654, 2003.

MAGNUSSON, I.; LINDHE, J.; YONEYAMA, T.; LILJENBERG, B. **Recolonisation of a subgingival microbiota following scaling in deep pockets.** *J Clin Periodontol*, 11, 193–207, 1984.

MAINNEMARE, A.; MÉGARBANE, B.; SOUEIDAN, A.; DANIEL, A.; CHAPPLE, I.L. **Hypochlorous acid and taurine-N-monochloramine in periodontal diseases.** *J Dent Res*, 83(11),823–831, 2004.

MANDEL, I.D. **Antimicrobial mouthrinses: overview and update.** *J Am Dent Assoc*, 125(2),2s-10s,1994.

MARCHESAN, M.A.; SOUZA, R.A.; GUERISOLI, D.M.Z.; SILVA, R.S.; PÉCORÁ, D.J. **Análise de algumas propriedades físico-químicas das águas sanitárias encontradas no mercado brasileiro.** *Rev Bras Odont*, 55(5)301-303,1998.

MARECHAL, M. **Chemical control of plaque: comparative review.** *Rev Belg Med Dent*, 46, 51-58, 1991.

MARINHO, B.V.S.; ARAÚJO, A.C.S. **O uso dos enxaguatórios bucais sobre a gengivite e o biofilme dental.** *International Journal of Dentistry*, 6(4), 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Projeto SBBrasil 2010: Pesquisa Nacional de Saúde Bucal – Resultados Principais.** 2011.

MOHAMMADI, Z. **Sodium hypochlorite in endodontics: an update review.** *Int DentJ*, 58, 329–341, 2008.

MOORE, W. E.; HOLDEMAN, L. V.; SMIBERT, R. M.; HASH, D. E.; BURMEISTER, J. A.; RANNEY, R.R. **Bacteriology of severe periodontitis in young adult humans.** *Infection and Immunity*, 38, 1137–1148, 1982.

MORAN, J.; ADDY, M. **The effects of a cetylpyridinium chloride prebrushing rinse as an adjunct to oral hygiene and gingival health.** *J Periodontol*, 9, 562–564, 1991.

MOREIRA, R.M.; FERES-FILHO, E.J. **Comparison between full-mouth scaling and root planning and quadrant-wise basic therapy of aggressive periodontitis: 6-month clinical results.** *J Periodontol*, 78(9),1683-1688,2007.

MORRISON, E. C.; RAMFJORD, S. P.; HILL, R. W. **Short-term effects of initial, nonsurgical periodontal treatment (hygienic phase).** *Journal of Clinical Periodontology*, 14, 199–211, 1980.

MOUSQUES, T.; LISTGARTEN, M.A.; PHILIPS, R.W. **Effect of scaling and root planing on the composition of the human subgingival microbial flora.** *J Periodontal Res*, 15, 144–151, 1980.

NAKAGAWA, T.; HOSAKA, Y.; ISHIHARA, K.; HIRAISHI, T.; SATO, S.; OGAWA, T.; KAMOI, K. **The efficacy of povidone-iodine products against periodontopathic bacteria.** *Dermatology*, 212(1), 109–111, 2006.

NEWMAN, M.G.T.H.; CARRANZA, F.A. **Carranza Periodontia clínica.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,899, 2004.

NYMAN, S.; ROSLING, B.; LINDHE, J. **Effect of professional tooth cleaning on healing after periodontal surgery.** *Journal of Clinical Periodontology*, 2, 80–86,1975.

NETO, C. A. F.; PAROLO, C. C. F.; ROSING, C. K.; MALTZ, M. **Comparative analysis of the effect of two chlorhexidine mouthrinses on plaque accumulation and gingival bleeding.** *Brazilian Oral Research*, 22, 139–144, 2008.

OOSTERWAAL, P.J.; MIKX, F.H.; VAN DEN BRINK, M.E.; RENGGLI, H.H. **Bactericidal concentrations of chlorhexidine-digluconate, amine fluoride gel and stannous fluoride gel for subgingival bacteria tested in serum at short contact times.** *J Periodontal Res*, 24, 155–160,1989.

OOSTERWAAL, P.J.M.; MIKX, F.H.M.; VAN'T HOF, M.A.; RENGGLI, H.H. **Short-term bactericidal activity of chlorhexidine gel, stannous fluoride gel and amine fluoride gel tested in periodontal pockets.** *J Clin Periodontol*,18, 97–100,1991.

OVERHOLSER, C. D.; MEILLER, T. F.; DEPAOLA, L. G.; MINAH, G. E.; NIEHAUS, C. **Comparative effects of 2 chemotherapeutic mouthrinses on the development of**

supragingival dental plaque and gingivitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 17, 575–579,1990.

PAGE, R. C.; SCHROEDER, H. E. **Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work.** *Laboratory Investigation*, 34, 235–249,1976.

PAGE, R. C.; OFFENBACHER, S.; SCHROEDER, H. E.; SEYMOUR, G. J.; KORNMAN, K. S. **Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions.** *Periodontology 2000*, 14, 216-48, 1997.

PAIVA, J.G.; GUTZ, I.; SAMPAIO, J.M.P.; SIMOES, W. **Determinação do teor de cloro livre nas soluções de hipoclorito de sódio.** *Rev. Bras. Odont*, 56(1), 10-16, 1989.

PAN, P.; BARNETT, M.L.; COELHO, J.; BROGDON, C.; FINNEGAN, M.B. **Determination of the *in situ* bactericidal activity of an essential oil mouthrinse using a vital stain method.** *J Clin Periodontol*,27(4),256-61,2000.

PANAGAKOS, F.S.; VOLPE, A.R.; PETRONE, M.E.; DEVIZIO, W.; DAVIES, R.M.; PROSKIN, H.M. **Advanced oral antibacterial/anti-inflammatory technology: A comprehensive review of the clinical benefits of a triclosan/copolymer/fluoride dentifrice.** *J Clin Dent.*,16,1-19,2005.

PASTER, B. J.; BOCHES, S. K.; GALVIN, J. L.;ERICSON, R.E.; LAU, C.N.; LEVANOS, V.A.; SAHASRABUDHE, A.; DEWHIRST, F.E. **Bacterial diversity in human subgingival plaque.***J Bacteriol*, 183, 3770–3783,2001.

PASTER, B. J.; OLSEN, I.; AAS, J. A.; DEWHIRST, F. **The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites.** *Periodontol 2000*, 42, 80–87, 2006.

PASTER, B.J.; DEWHIRST, F.E. **Molecular microbial diagnosis.** *Periodontol 2000*, 51, 38–44, 2009.

PAYNE, W. A.; PAGE, R. C.; OGILVIE, A. L.; HALL, W. B. **Histopathologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man.***Journal of Periodontal Research*, 10, 51–64,1975.

PÉCORA, J.D. et al. **Estudo sobre o shelf-life do hipoclorito de sódio a 5%.***Braz Endod J*,2(1) 43-45, 1997.

PÉCORÁ, J.D.; SOUZA NETO, M.D.; ESTRELA, C. **Soluções auxiliares do preparo do canal radicular.** In: ESTRELA, C.; FIGUEIREDO, J.P. *Endodontia: princípios biológicos e mecânicos.* São Paulo: Artes Médicas, 1999, cap.16, p. 553-569.

PEDRAZZOLI, V.; KILIAN, M.; KARRING, T.; KIRKEGAARD, E. **Effect of surgical and nonsurgical periodontal treatment on periodontal status and subgingival microbiota.** *Journal of Clinical Periodontology*, 18, 598–604,1991.

PETERSEN, P.E.; OGAWA, H. **Strengthening the prevention of periodontal disease: the WHO approach.** *J Periodontol*,76(12),2187-2193,2005.

PIRES, J.R.; ROSSA, C. Jr.; PIZZOLITTO, A.C.; CANCIAN, D.C.J.; MASSONE, A.C.B. **Eficiência de uma solução para bochecho contendo triclosan/gantrez e bicarbonato de sódio associada à escovação na redução de placa e gengivite.** *J. Bras. Clin. Odontol. Integr*, 7(38), 132-136, 2003.

PIENIHAKKINEN, K.; SODERLING, E.; OSTELA, I.; LESKELA, I.; TENOVUO, J. **Comparison of the efficacy of 40% chlorhexidine varnish and 1% chlorhexidine-fluoride gel in decreasing the level of salivary mutansstreptococci.***Caries Res*, 29, 62–67,1995.

PIHLSTROM, B. L.; MCHUGH, R. B.; OLIPHANT, T. H.; ORTIZ-CAMPOS, C. **Comparison of surgical and nonsurgical treatment of periodontal disease. A review of current studies and additional results after 61/2 years.** *Journal of Clinical Periodontology*, 10, 524–541,1983.

PORRAS, R.; ANDERSON, G.B.; CAFFESSE, R.; NARENDRAN ,S.; TREJO, P.M. **Clinical response to 2 different therapeutic regimens to treat periimplant mucositis.***J Periodontol*, 73, 1118–1125,2002.

QUIRYNEN, M.; BOLLEN, C.M.L.; VANDEKERCKHOVE, B.N.A.; DEKEYSER,C.; PAPAIONNOU W, EYSSSEN H. **Full- versus partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections. Short-term clinical and microbiological observations.** *J Dent Res*, 74, 1459–1467,1995.

QUIRYNEN, M.; MONGARDINI, C.; DE SOETE, M.; PAUWELS, M.; COUCKE, W.; VAN ELDERE, J.; VAN STEENBERGHE, D. **The role of chlorhexidine in the one-stage full-mouth disinfection treatment of patients with advanced adult periodontitis.** *J Clin Periodontol*, 27(8), 578–589, 2000.

QUIRYNEN, M.; DE SOETE, M.; DIERICKX, K.; VAN STEENBERGHE, D. **The intra-oral translocation of periodontopathogens jeopardizes the outcome of periodontal therapy. A review of the literature.** *J Clin Periodontol*, 28, 499–507, 2001.

QUIRYNEN, M.; DE SOETE, M.; BOSCHMAN, G. **Benefit of one-stage full-mouth disinfection is explained by disinfection and root planning within 24 hours: a randomized controlled trial.** *J Clin Periodontol* 2000; 33(9), 639–647, 2006.

QUISNO, R.; FOTER, M.J. **Cetyl pyridinium chloride.** *J Bacteriol*, 52, 111–117, 1946.

RAMFJORD, S. P.; CAFFESSE, R. G.; MORRISON, E. C.; HILL, R. W.; KERRY, G. J.; APPLEBERRY, E.A.; NISSLE, R. R.; STULTS, D. L. **4 modalities of periodontal treatment compared over 5 years.** *Journal of Clinical Periodontology*, 14, 445–452, 1987.

RAMS, T.E.; FEIK, D.; SLOTS, J. **Staphylococci in human periodontal diseases.** *Oral Microbiol Immunol*, 5, 29–32, 1990.

RAMS, T.E.; FEIK, D.; YOUNG, V.; HAMMOND, B.F.; SLOTS, J. **Enterococci in human periodontitis.** *Oral Microbiol Immunol*, 7, 249–352, 1992.

RAMS, T.E.; SLOTS, J. **Local delivery of antimicrobial agents in the periodontal pocket.** *Periodontol* 2000, 10, 139–159, 1996.

RAMS, T.E.; FLYNN, M.J.; SLOTS, J. **Subgingival microbial associations in severe human periodontitis.** *Clin Infect Dis*, 25(2), 224–226, 1997.

REID, G., YOUNES, J.A., VAN DER MEI, H.C., GLOOR, G.B., KNIGHT, R., BUSSCHER, H.J. **Microbiota restoration: natural and supplemented recovery of human microbial communities.** *Nature Reviews Microbiology*, 9, 27–38, 2011.

REIMER, K.; WICHELHAUS, T.A.; SCHAFFER, V.; RUDOLPH, P.; KRAMER, A.; WUTZLER, P.; GANZER, D.; FLEISCHER, W. **Antimicrobial effectiveness of povidone-iodine and consequences for new application areas.** *Dermatology*, 204(1), 114–120, 2002.

RENTON-HARPER, P.; ADDY, M.; MORAN, J.; DOHERTY, F.M.; NEWCOMBE, R.G. **A comparison of chlorhexidine, cetylpyridinium chloride, triclosan, and C31G mouthrinse products for plaque inhibition.** *J Periodontol*, 67, 486–489, 1996.

RIBEIRO EDEL, P.; BITTENCOURT, S.; SALLUM, E.A.; SALLUM, A.W.; NOCITI JÚNIOR, F.H.; CASATI, M.Z. **Non-surgical instrumentation associated with povidone-iodine in the treatment of interproximal furcation involvements.** *J Appl Oral Sci*, 18, 599–606, 2010.

RINDOM-SCHIOTT, C.; BRINER, W.W.; LOE, H. **Two year oral use of chlorhexidine in man (II). The effect on the salivary bacterial flora.** *J Periodontal Res*, 11, 145–152, 1976.

ROBERTS, A.P.; MULLANY, P. **Oral biofilms: a reservoir of transferable, bacterial, antimicrobial resistance.** *Expert Rev Anti Infect Ther*, 8, 1441–1450, 2010.

ROSLING, B.; NYMAN, S.; LINDHE, J. **The effect of systematic plaque control on bone regeneration in infrabony pockets.** *Journal of Clinical Periodontology*, 3, 38–53, 1976.

ROSLING, B.G.; SLOTS, J.; WEBBER, R.L.; CHRISTERSSON, L.A.; GENCO, R.J. **Microbiological and clinical effects of topical subgingival antimicrobial treatment on human periodontal disease.** *J Clin Periodontol*, 10, 487–514, 1983.

ROSLING, B.G.; SLOTS, J.; CHRISTERSSON, L.A.; GRONDAHL, H.G.; GENCO, R.J. **Topical antimicrobial therapy and diagnosis of subgingival bacteria in the management of inflammatory periodontal disease.** *J Clin Periodontol*, 13, 975–981, 1986.

RUTALA, W.; WEBER, D.J. **Use of chemical germicides in the United States: 1994 and beyond**, p. 1–22. In W. A. Rutala (ed.), *Chemical germicides in health care*. Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, Inc., Washington, D.C., and Polyscience Publication, Morin Heights, Canada, 1995.

SANDEEP, K.G. **Intention-to-treat concept: A review.** *Perspect Clin Res*, 2(3), 109–112, 2011.

SHARMA, N.C.; CHARLES, C.H.; QAQISH, J.G.; GALUSTIANS, H.J.; ZHAO, Q.; KUMAR, L.D. **Comparative effectiveness of an essential oil mouthrinse and dental floss in controlling interproximal gingivitis and plaque.** *Am J Dent*, 15(6), 351–5, 2002.

SHARMA, N.; CHARLES, C. H.; LYNCH, M. C.; QAQISH, J.; MCGUIRE, J. A.; GALUSTIANS, J. G.; KUMAR, L. D. **Adjunctive benefit of an essential oil-containing mouthrinse in reducing plaque and gingivitis in patients who brush and floss regularly. A six-month study.** *Journal of the American Dental Association*, 135, 496–504, 2004.

SHIRAIISHI, T.; NAKAGAWA, Y. **Evaluation of the bactericidal activity of povidone-iodine and commercially available gargle preparations.***Dermatology*, 204(1), 37–41, 2002.

SHEIHAM, A.; NETUVELI, G.S. **Periodontal diseases in Europe.** *J Periodontol*, 29,104-21, 2002.

SIEGRIST, B.; KORNMAN, K. S. **The effect of supragingival plaque control on the composition of the subgingival microbial flora in ligature-induced periodontitis in the monkey.** *Journal of Dental Research*, 61,936–941,1982.

SILVA- BOGHOSSIAN, C.M.; SOUTO, R.M.; LUIZ, R.R.; COLOMBO, A.P. **Association of red complex, A. actinomycetemcomitans and non-oral bacteria with periodontal diseases.***Arch Oral Biol*, 56 (9), 899-906,2011.

SILVA- BOGHOSSIAN, C.M.; ORRICO, S.R.; GONÇALVES, D.; CORREIA, F.O.; COLOMBO, A.P. **Microbiological changes after periodontal therapy in diabetic patients with inadequate metabolic control.** *Braz Oral Res*, 28(1),1-9,2014.

SILVA-SENE, M.X.; HELLER, D.; VARELA, V.M.; TORRES,M.C.; FERES-FILHO, E.J.; COLOMBO, A.P. **Clinical and microbiological effects of systemic antimicrobials combined combined to an anti-infective mechanical debridement for the management of aggressive periodontitis: a 12-month randomized controlled trial.** *J Clin Periodontol*, 40(3),242-251,2013.

SIQUEIRA JR, J.F., RÔÇAS, I.N. **Diversity of endodontic microbiota revisited.** *JDR*, 88, 11969-11981, 2009.

SIQUEIRA, E.L.; NICOLETTI, M.A.; BOMBANA, A.C.; SANTOS, M. **Influência do Ph sobre a estabilidade química da solução de hipoclorito de sódio a 0,5%.** *RPG*, 9(3), 207-211, 2002.

SLOT, D.E., LINDEBOOM, R., ROSEMA, N.A., TIMMERMAN, M.F., VAN DER WEIJDEN, G.A. **The effect of 0.12% chlorhexidine dentifrice gel on plaque accumulation: a 3-day non-brushing model.** *Int J Dent Hyg.*, 5(1), 45-52, 2007.

SLOTS, J. **Subgingival microflora and periodontal disease.** *Journal of Clinical Periodontology*, 6, 351–382, 1979.

SLOTS, J.; RAMS, T.E.; SCHONFELD, S.E. **In vitro activity of chlorhexidine against enteric rods, pseudomonads and acinetobacter from human periodontitis.** *Oral Microbiol Immunol*, 6, 62–64, 1991.

SLOTS, J. **Selection of antimicrobial agents in periodontal therapy.** *J Periodontal Res*, 37, 389–398, 2002.

SLOTS, J. **Low-cost periodontal therapy.** *Periodontol* 2000, 60, 110–137, 2012.

SOCRANSKY, S.S. **Microbiology of periodontal disease – present status and future considerations.** *Journal of Periodontology*, 48, 497–504, 1977.

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D.; CUGINI, M. A.; SMITH, C.; KENT JR, R. L. **Microbial complexes in subgingival plaque.** *J Clin Periodontol*, 25, 134-144, 1988.

SOCRANSKY, S.S.; HAFFAJEE, A.D. **The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts.** *J Periodontol*, 63, 322-31, 1992.

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. **Dental biofilms: difficult therapeutic targets.** *Periodontol* 2000, 28, 12-55, 2002.

SOUTO, R.; COLOMBO, A.P. **Prevalence of Enterococcus faecalis in subgingival biofilm and saliva of subjects with chronic periodontal infection.** *Arch Oral Bio*, 53(2), 155-160, 2008a.

SOUTO, R.; COLOMBO, A.P. **Detection of Helicobacter pylori by polymerase chain reaction in the subgingival biofilm and saliva of non-dyspeptic periodontal patients.** *J Periodontol*, 79(1), 97-103, 2008b.

SPRATT, D.A.; PRATTEN, J.; WILSON, M.; GULABIVALA, K. **An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates.** *Int Endod J*, 34, 300–307, 2001.

SULLIVAN, A.; EDLUND, C.; NORD, C.E. **Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora.***The Lancet Infectious Diseases*,1,101–14,2001.

SUN, J.; SONG, X.; KRISTIANSEN, B.E.; KJAERENG, A.; WILLEMS, R.J.;ERIKSEN, H.M.; SUNDSFJORD, A.; SOLLID, J.E. **Occurrence, population structure, and antimicrobial resistance of enterococci in marginal and apical periodontitis.** *J Clin Microbiol*, 47, 2218–2225, 2009.

TELES R.; TELES F.; FRIAS-LOPEZ J.; PASTER B.; HAFFAJEE, A. **Lessons learned and unlearned in periodontal microbiology.***Periodontol 2000*,62(1),95-162,2013.

TONETTI, M. S. & MOMBELLI, A. **Early-onset periodontitis.***Annals of Periodontol*, 4, 39-53, 1999.

TORRES, C.R.G. et al. **Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na odontologia.** *RPG*, 3(2), 43-52, 2000.

UMEDA, M., CHEN, C., BAKKER, I., CONTRERAS, A., MORRISON, J.L., SLOTS, J. **Risk indicators for harboring periodontal pathogens.** *J Periodontol.*, 69(10), 1111-8, 1998.

VANDEKERCKHOVE, B.N.A.; BOLLEN, C.M.L.; DEKEYSER, C.; DARIUS, P.; QUIRYNEN, M. **Full- versus partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections. Long-term clinical observation of a pilot study.***J Periodontol*, 67, 1251– 1259, 1996.

VAN DER WEIJDEN, G.A., TIMMERMAN, M.F. **A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis.** *Journal of Clinical Periodontology*, 29(3), 55-71, 2002.

VAN STRYDONCK, D. A.; TIMMERMAN, M. F.; VAN DER VELDEN, U.; VAN DER WEIJDEN, G. A. **Plaque inhibition of two commercially available chlorhexidine mouthrinses.***Journal of Clinical Periodontology*, 32, 305– 309, 2005.

VOLLAARD, E.J.; CLASENER, H.A. **Colonization resistance.***Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 38,409–14,1994.

WADE,W.G. **The oral microbiome in health and disease.** *Pharmacological Research*, 69,137– 143,2013.

- WATTS, A.; ADDY, M. **Tooth discoloration and staining: a review of the literature.** *British Dental Journal*, 190, 309–316, 2001.
- WERTZ, R.T. **Intention to treat: Once randomized, always analyzed.** *Clin Aphasiol*, 23,57–64, 1995.
- WHITE, R.R.; HAYS, G.L.; JANER, L.R. **Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine.** *J Endod*, 23(4), 229-231, 1997.
- WILSON, T. G. JR. **Compliance – a review of the literature with possible application to periodontics.** *Journal of Perodontology*, 58,706–714, 1987.
- WITT, J.J.; WALTERS, P.; BSOUL, S.; GIBB, R.; DUNAVENT, J.; PUTT, M. **Comparative clinical trial of two antigingivitis mouthrinses.** *Am J Dent*, 18,15A-17A, 2005.
- WOLFF, L.; DAHLE`N, G. .; AEPPLI, D. **Bacteria as risk markers for periodontitis.** *Journal of Periodontology*, 65, 498–510,1994.
- WU, C.D.; SAVITT, E.D. **Evaluation of the safety and efficacy of over-the-counter oral hygiene products for the reduction and control of plaque and gingivitis.***Periodontology* 2000, 28, 91–105, 2002.
- XIMENEZ-FYVIE, L. A.; HAFFAJEE, A. D.; SOM, S.;THOMPSON, M.; TORRESYAP, G.; SOCRANSKY,S. S. **The effect of repeated supragingival plaque removal on the composition of the supra- and subgingival microbiota.** *Journal of Clinical Periodontology*, 27, 637–647,2000.
- YASHIMA, A.; GOMI, K.; MAEDA, N.; ARAI, T. **One-stage full-mouth versus partial-mouth scaling and root planning during the effective half-life of systemically administered azithromycin.***J Periodontol*, 80(9),1406-1413, 2009.
- YUEH, M.F.; TUKEY, R.H. **Triclosan: A Widespread Environmental Toxicant with Many Biological Effects.** *Annu Rev Pharmacol Toxicol.*, 56,251-72, 2016.

ZIMMER, S.; KOLBE, C.; KAISER, G.; KRAGE, T.; OMMERBORN, M.; BARTHEL, C. J.
Clinical efficacy of flossing versus use of antimicrobial rinses. *Journal of Periodontology*,
77, 1380–1385, 2006.

Anexo I- TLCE

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA/
INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

EFEITO DA SOLUÇÃO DE HIPOCLORITO DE SÓDIO À 0,1% SOBRE O BIOFILME SUBGENGIVAL E INFLAMAÇÃO GENGIVAL: ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO, DUPLO-CEDO E CONTROLADO

Prezado Senhor e Senhora,

O estudo do qual você está sendo convidado a participar voluntariamente visa avaliar o efeito do uso do bochecho com solução de água sanitária à 0,1% em indivíduos diagnosticados com gengivite (inflamação da gengiva) e sobre os germes que compõe o microambiente subgengival. Esta doença ocorre pela inflamação da gengiva, com sangramento e vermelhidão gengival, presença de tártaro, massa branca presa ao dente, inchaço da gengiva e presença ou não de dor. Para participar deste estudo você não pode estar grávida nem amamentando, deve estar com boa saúde geral, não ser diabético, não ter realizado nenhum tratamento na gengiva nos últimos 6 meses, não ser fumante ou ex-fumante (últimos 5 anos), não pode encontrar-se sob tratamento ortodôntico, não pode ter tomado antibióticos nos últimos 6 meses, inclusive não fazendo uso de nenhum bochecho nos últimos 6 meses e não anti-inflamatório nos últimos 3 meses. O estudo envolve inicialmente um exame clínico da gengiva e dentes para avaliar inflamação da gengiva e presença de placa dental ou massa dura amarelada presa aos dentes, normalmente realizado nos pacientes que procuram atendimento na Clínica Odontológica da Faculdade de Odontologia da UFRJ. A massa branca presa ao dente será removida com auxílio de um instrumento específico usado para remoção de tártaro dos dentes, bem como a coleta de saliva em recipiente plástico estéril. Os indivíduos selecionados que aceitarem participar desse estudo e que forem identificados com **GENGIVITE** serão tratados gratuitamente na Clínica Odontológica. Todos os exames serão feitos com material estéril e equipamento odontológico adequados na Clínica Odontológica da UFRJ. Os procedimentos deste estudo envolvem exame clínico, coleta de placa dental, uso de bochecho durante 1 mês e tratamento da gengiva que são normalmente feitos no consultório dentário e não causam nenhum risco maior ao paciente. Os desconfortos do exame clínico e da limpeza dos dentes são mínimos e bem suportados. Os participantes terão como benefício um melhor

conhecimento do seu estado de saúde oral, bem como o tratamento especializado das necessidades odontológicas encontradas. Os resultados desta pesquisa poderão ser divulgados em meios científicos, porém seus dados serão confidenciais, não sendo permitido acesso de outros as suas informações, garantindo assim proteção contra qualquer tipo de discriminação. Além disso, seu exame clínico será utilizado apenas para os fins propostos neste estudo e você poderá requisitá-los quando quiser. O material obtido (placa dental, saliva e fezes) será usado no laboratório apenas para este estudo e, em seguida, serão JOGADOS FORA, NÃO SENDO ARMAZENADOS para futura utilização. Não há despesas pessoais para você em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Se existir qualquer despesa adicional, ela será por conta do orçamento da pesquisa. Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo, você tem direito a tratamento odontológico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas. Finalmente, você estará à vontade para desistir de participar desse estudo, a qualquer momento, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição. Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso ao profissional responsável, Laís, que poderá ser encontrado no **Instituto de Microbiologia Paulo de Goes, CCS, Bloco I, sala I2-03, Av. Carlos Chagas Filho, 373**, através dos telefones **21 2560-8344 ramal 137** ou **21 8441-3562**. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o **Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho/HUCFF/UFRJ – R. Prof. Rodolpho Paulo Rocco, 255, Cidade Universitária/Ilha do Fundão – Sala01D-46/1º andar, tel: 21 2562-2480, de segunda a sexta-feira, das 8 às 15 h, ou pelo email: cep@hucff.ufrj.br**.

CONSENTIMENTO

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações sobre o estudo acima citado que li ou que foram lidas para mim. Eu discuti com a dentista Laís Christina Pontes Espíndola sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de sigilo e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia de acesso a tratamento odontológico quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou prejuízos e sem a perda de atendimento nesta Instituição ou de qualquer benefício que eu possa ter adquirido. Eu receberei uma cópia desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e a outra ficará com o pesquisador responsável por essa pesquisa. Além disso, estou ciente de que eu (ou meu representante legal) e o pesquisador responsável deveremos rubricar todas as folhas desse TCLE.

Nome do sujeito participante da pesquisa

Assinatura do sujeito participante da pesquisa

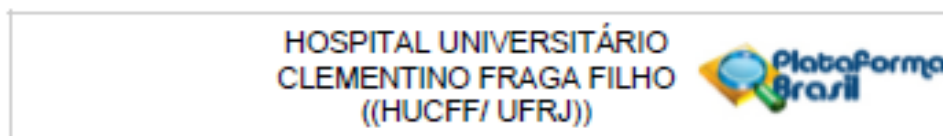
Data: ____/____/____,

Nome do Pesquisador Responsável

Assinatura do Pesquisador Responsável

Data: ____/____/____,

Anexo II – Parecer Consubstanciado do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFEITO DA SOLUÇÃO DA ÁGUA SANITÁRIA À 0,1% SOBRE A GENGIVA: ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO, DUPLO-CEGO E CONTROLADO.

Pesquisador: Lais Christina Pontes Espindola

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 39378114.3.0000.5257

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Patrocinador Principal: FUND COORD DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NIVEL SUP

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 931.051

Data da Relatoria: 10/12/2014

Apresentação do Projeto:

Protocolo 284-14, do grupo III, recebido em 30.11.2014. Foram apresentados os seguintes documentos:

1. Informações básicas do projeto (30.11.2014);
2. Projeto detalhado (27.10.2014);
3. Folha de rosto (27.10.2014);
4. TCLE (30.11.2014);
5. Declaração instituição co-participante (27.10.2014);
6. Declaração diretor da faculdade (27.10.2014);
7. Carta de apresentação (27.10.2014);
8. Currículos (27.10.2014).

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a efetividade do uso da solução de hipoclorito de sódio à 0,1% como antisséptico bucal associado à terapia mecânica na redução dos sinais clínicos da inflamação e destruição periodontal em comparação com a terapia mecânica isoladamente.

Endereço: Rua Prof. Rodolpho Paulo Rocco Nº255 Sala 01D-46			
Bairro: Cidade Universitária		CEP: 21.941-913	
UF: RJ	Município: RIO DE JANEIRO		
Telefone: (21)3938-2480	Fax: (21)3938-2481	E-mail: cep@hucff.ufrj.br	

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
CLEMENTINO FRAGA FILHO
(HUCFF/ UFRJ)



Continuação do Parecer: 931.001

(Socransky et al., 1991). A média do volume de fluido gengival coletado será calculado por indivíduo e, após, dentro do grupo. Diferenças nas mudanças microbiológicas e nos volumes de fluido gengival nos diferentes tempos de coleta dentro dos grupos e entre grupos serão avaliadas pelo teste de General Linear Model (GLM) para medidas repetidas.

Desfecho Primário:

Espera-se que com este estudo, o grupo que fez uso de hipoclorito de sódio a 0,1% apresente uma melhor eficácia frente a inflamação gengival e uma redução maior nos níveis de bactérias periodontopatogênicas em relação ao grupo placebo, que fez uso da solução de água destilada estéril.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- Carta de apresentação: adequada e assinada
- Folha de rosto: adequada e assinada
- Currículos: adequados
- Riscos e benefícios: adequadamente escritos
- Cronograma: vide lista de inadequações
- Orçamento: adequado
- TCLE: adequado
- Há compromisso de publicação de resultados da pesquisa
- Há compromisso de confidencialidade dos dados

Recomendações:

I) Relativamente ao projeto:

1. O título público deve ter linguagem acessível a todas as pessoas. Solicita-se adequação.
2. Cronograma: o cronograma prevê o início da seleção dos pacientes para 4.8.2014, portanto antes da aprovação do projeto pelo CEP. Solicita-se adequação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Nenhuma

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Rua Prof. Rodolpho Paulo Rocco Nº255 Sala 01D-46
Bairro: Cidade Universitária CEP: 21.941-913
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3938-2490 Fax: (21)3938-2491 E-mail: cep@hucff.ufrj.br

Anexo III – Efeitos adversos

Questionário sobre eventuais efeitos adversos do uso do hipoclorito de sódio à 0,1% como antisséptico bucal.

Eventuais efeitos adversos	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
Alterações no paladar				
Mau gosto				
Ardência				
Descamação da mucosa				
Feridas na boca (aftas, úlceras)				
Alteração na cor dos dentes				
Naúseas				
Cefaléia				