

ERNESTO ANDRADE

**Efeito do Triclosan sobre a formação inicial dos biofilmes
supragengival e subgengival**

Dissertação apresentada como requisito para a
obtenção do título de Mestre em Periodontia ao
Programa de Pós-Graduação em Odontologia da
Faculdade de Odontologia da Universidade
Federal do Rio Grande do Sul.

Área de concentração: Periodontia

Orientador: Prof. Dr. Rui Vicente Oppermann

Porto Alegre – RS

2013

CIP - Catalogação na Publicação

ANDRADE, ERNESTO
Efeito do Triclosan sobre a formação inicial dos
biofilmes supragengival e subgengival / ERNESTO
ANDRADE. -- 2013.
54 f.

Orientador: Rui Vicente Oppermann.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia,
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Porto
Alegre, BR-RS, 2013.

1. Triclosan. 2. Biofilme Subgengival. 3.
Biofilme Supragengival. I. Oppermann, Rui Vicente,
orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Efeito do Triclosan sobre a formação inicial dos biofilmes supragengival e subgengival

Defesa em 2013.

Banca de Defesa:

PROF. DR. CASSIANO KUCHENBECKER RÖSING

PROF. DRA. PATRÍCIA WEIDLICH

PROF. DRA. MARILENE ISSA FERNANDES

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Programa de Pós - graduação em Odontologia

Nível: Mestrado

Área de Periodontia

Linha de Pesquisa

Biomateriais e Técnicas Terapêuticas em Odontologia

**Efeito do Triclosan sobre a formação inicial dos
Biofilmes Supragengival e Subgengival**

Ernesto Andrade

Orientador: Prof. Dr. Rui Vicente Oppermann

SUMARIO

DEDICATÓRIA.....	7
AGRADECIMENTOS.....	8
LISTA DE ABREVIATURAS.....	9
RESUMO.....	10
ABSTRACT	11
ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA.....	12
HIPÓTESES E OBJETIVO DE ESTUDO.....	19
OBJETIVOS.....	20
METODOLOGIA.....	20
RESULTADOS.....	27
DISCUSSÃO.....	33
ANEXOS.....	38
BIBLIOGRAFÍA.....	49

Dedicatoria

A mi Madre... para quien solo tengo palabras de agradecimiento y de admiración.

A mis abuelos Lito y Agustina a quienes por distintos motivos la vida solo los alejó materialmente de mí... Su apoyo, sus enseñanzas y cuidado fueron fundamentales para mí a la vez que nunca dejaron de ser padres...

A mi viejo.... Un amigo biológico con quien compartí la vida que por desgracia tampoco está en piel y huesos conmigo...

A mis hermanos... con varios kilómetros de vida juntos, con lluvia y con sol....

A mis sobrinas y sobrinos políticos y a toda mi familia...

A Mis amigos/as...

Muy Especialmente Dedicado a mis amores: Caro y Angus; todo para mi

Agradecimientos

Udelar/F.O y a sus integrantes, especialmente: María del Huerto, Gustavo, Germán, Alfredo, Graciela, Enrique, Hugo, Álvaro... y a la Cátedra de Periodoncia...

Gracias a mis compañeros de maestría, especialmente a la Tana, Licet, Silvana, Mariana, María Inés.

UFRGS/odonto y a sus integrantes, especialmente: Sabrina, Thiago, Marta, Adriana, Paty Weidlich, Paty Angst, Mauricio, Alex, Cassiano, e muitos mais...

También gracias a mis compañeros y compañeras de trabajo en la Española y en SAI-PPL.

Especiales Agradecimientos:

Prof. Dr. Luis Bueno, gracias a él conocí la UFRGS y al grupo de perio.....

Piedra fundamental en esto claramente. Gracias por todas las oportunidades que en varios rubros de la vida me diste..

Con nuestras locuras pero siempre te tengo como referente

Prof. Dr. Rui Oppermann

Bueno que decir... en primera instancia gracias por haber permitido ser su discípulo.... Gracias por su tiempo, por soportarme ya desde 2008.

Gracias por tener en determinados momentos frases o palabras que fueron como un bálsamo para mí...

Fue una suerte para mí que a pocos kilómetros de distancia de mi querido Uruguay encontrar un grupo tan fuerte académicamente de la misma forma que humilde y humano... donde claramente ud. tiene un rol clínica y estadísticamente significativo....

LISTA DE ABREVIATURAS

ZLP – Zona Livre de Placa

PVM/MA - Ácido polyvinylmethyl ether maleico

MIC - Concentração mínima inibitória

IPQH - Índice de placa de Quigley-Hein

IPL - Índice de Placa de Løe e Silness

IGLS - Índice Gengival de Løe e Silness

IGAB - Índice Gengival de Ainamo e Bay

ISG - Índice deSangramento Gengival

IPV - Índice de Placa Visível

UFRGS – Universidade Federal de Rio Grande do Sul

P1 – Período 1

P2 – Período 2

PWO – Período de Wash Out

SPSS – Statistical Package for the Social Science

RESUMO

A maioria das pessoas não consegue desenvolver em forma adequada, a remoção total do biofilme por métodos mecânicos. Em decorrência a complementação com coadjuvantes químicos disponibilizados através de cremes dentais resulta em uma opção válida. O triclosan demonstrou ser efetivo na redução dos depósitos de biofilme supragengival em estudos clínicos com ausência de remoção mecânica por até quatro dias. Contudo, não se sabe o impacto dessa medida na inibição da formação do biofilme subgengival. O objetivo do presente estudo foi comparar o efeito inibitório sobre a formação inicial do biofilme subgengival de uma suspensão de dentifício contendo 0,3% de Triclosan e 2% de Copolímero com uma suspensão control sem triclosan. Para tanto um ensaio clínico controlado cruzado, randomizado, duplo-cego com quatro dias de duração sem medidas de higiene mecânica foi desenvolvido. Vinte e Seis indivíduos completaram os dois períodos previstos com uma fase de “wash-out” de 10 dias entre os dois. Os indivíduos bochecharam por um minuto com as suspensões a cada 12 horas. Ao longo desse período a presença da zona livre de placa foi registrada a cada 24 horas por um examinador calibrado. A formulação teste inibiu de forma significativa a formação do biofilme subgengival por até 72 horas. Pode-se concluir que bochechos diários com uma suspensão de dentifício contendo triclosan inibiu de forma significativa a formação inicial do biofilme subgengival por um período de até 72 h comparado com um controle.

Palavras claves: Triclosan, Biofilme, zona livre de placa

ABSTRACT

Daily systematic removal of dental biofilm in the vast majority of people does not prevent gingivitis and periodontitis. Therefore the complement with chemical products delivered through toothpastes results in promising option. Triclosan has been shown effective in reducing supragingival biofilm on 4-days without tooth brushing, but unknown the impact on inhibition of biofilm subgingival. The aim of this study was to compare the inhibitory effect on the early formation of subgingival biofilm from a slurrie of toothpaste containing 0.3% Triclosan and 2% Copolymer vs. control slurrie without triclosan. A randomized crossover controlled double-blind clinical trial of 4-day period without mechanical hygiene was developed. 26 subjects completed 2 periods with wash-out period between them. People were rinsed with slurries at 12hs. A trained examiner evaluated every 24 hours, the plaque-free zone. In conclusion the triclosan/copolymer retards the early formation of biofilm subgingival up to 72 hours.

Keywords: Triclosan, Biofilm “plaque free zone”

As Doenças Periodontais são um conjunto de patologias que afetam os tecidos de sustentação dentários. Sua forma mais leve, a Doença Gengival induzida por biofilme, prejudica somente a gengiva. Existem por sua vez, quadros destrutivos como as Periodontites, onde o periodonto profundo se encontra danificado e se caracteriza por Bolsas Periodontais, Perda de Inserção Clínica, Mobilidade, Abscessos, Reabsorção Óssea e na ausência de tratamento podem conduzir à perda dental (ARMITAGE, 1999). São de evolução crônica e prevalência elevada; aumentam com a idade e têm maior presença nas classes sociais mais baixas (ALBANDAR; BRUNELLE; KINGMAN, 1999), (SUSIN *et al.*, 2004), (SUSIN *et al.*, 2005), (HAAS AN, GAIO EJ, OPPERMANN RV, RÖSING CK, ALBANDAR JM, 2012). Atualmente representam um dos maiores problemas na saúde pública (TONETTI; CHAPPLE, 2011).

Biofilmes Orais

Do ponto de vista causal, o biofilme dental é um fator suficiente para o estabelecimento da Doença Gengival induzida (LÖE H, THEILADE E, 1965). No entanto, para o caso da Periodontite, além da presença do Biofilme, é necessário que o mesmo atue sobre um hospedeiro suscetível e onde fatores de risco (fumo, diabetes, genética) possam incidir no processo patológico (PAGE *et al.*, 1997). Segundo Donlan e Costerton (DONLAN; COSTERTON, 2002) o biofilme é uma comunidade microbiológica, que se caracteriza por células aderidas a um substrato, a uma interface ou a ambas, embebidas numa matriz extracelular de polímeros que apresenta um fenótipo alterado em termos de taxa de crescimento e transcrição genética. Há também canais onde fluem nutrientes e água. Apresentam como comunidade: resistência antibacteriana, quorum sensing, possibilidade de colonizar áreas afastadas, etc.

Desenvolvimento e estruturação dos biofilmes

A transição do meio supragengival ao subgengival é uma etapa-chave para a instalação da microbiota subgengival e, portanto, para o estabelecimento das condições necessárias para a progressão à periodontite. A formação do biofilme supragengival varia numa mesma pessoa e entre os indivíduos (LÖE H, THEILADE E, 1965), (LANG NP, CUMMING BR, 1973), (BERGSTRÖM, 1981) existindo fatores determinantes: o tempo, o maxilar considerado, o tipo de dente (QUIRYNEN; VAN

STEENBERGHE, 1989), (FURUICHI *et al.*, 1992) a inflamação (RAMBERG; AXELSSON; LINDHE, 1995), a rugosidade da superfície dental e a hora do dia (QUIRYNEN; VAN STEENBERGHE, 1989), bem como diversos fatores locais (TATAKIS; TROMBELLI, 2004). O biofilme se constrói a partir de passos determinados: formação da película adquirida; colonização primária e aderência bacteriana específica a dita película; crescimento das populações microbianas, agregação e coagregação; sucessão e colonização secundária e por último o clímax da comunidade (JAKUBOVICS; KOLENBRANDER, 2010). Enquanto isso, o biofilme subgingival se organiza em três setores característicos: aderida ao dente, ao epitélio e não aderido. No entanto, além de sua consideração individual, as mesmas se encontram estreitamente relacionadas dentro do mesmo ecossistema. Espécies de actinomyces e estreptococos colonizam primeiramente a superfície e com o passar dos dias e a aparição de colonizadores secundários complexificam o biofilme (SBORDONE; BORTOLAIA, 2003), (TAKEYOSHI, 2005), (LAMONT, 2010).

Biofilme Supragengival, Biofilme Subgingival e Zona Livre de Placa

Na atualidade, um estudo avalia a formação do biofilme supragengival na perspectiva de sua relação com a colonização microbiana subgingival nos primeiros estágios. Autores (WEIDLICH; LOPES DE SOUZA; OPPERMANN, 2001) observaram que após 24 horas de desenvolvimento do biofilme supragengival, uma delgada linha da mesma se torna evidente nas superfícies dentais. Anexada a ela, apresenta-se uma Zona Livre de Placa (ZLP) ou biofilme separando o biofilme supragengival da margem gengival. No lapso compreendido entre as 48 e 72 horas posteriores, a comunidade microbiana cresce em maior proporção em direção incisal que gengival, registrando-se ainda a zona livre de biofilme. Depois de 96 horas, a maior parte das superfícies reveladas não apresentam mais zona livre de biofilme, de maneira que clinicamente existe um contato direto entre o biofilme supragengival e a margem gengival, ao mesmo tempo em que concomitantemente permanece um crescimento contínuo do mesmo em direção incisal. Se analisarmos a superfície vestibular por terços, o desaparecimento da ZLP a nível proximal é mais evidente do que no terço médio. No entanto, a quantidade de áreas com ZLP só foi estatisticamente diferente depois de 96 horas, comparado com o resto dos períodos a nível proximal. Por meio do microscópio

eletrônico, é possível exemplificar-se o anterior já que se evidenciam projeções de biofilme em direção gengival depois de 72 horas nos setores proximais. Mais notórias ainda são estas mesmas descobertas depois de 96 horas. Por outro lado, a análise do fluído gengival mostra que houve um aumento evidente desde o início até 96 horas depois ($0.2\text{mm} \pm 0.2$ inicial – $1.2\text{mm} \pm 0.4$ 96hs, $p < 0.01$). Assim mesmo, avaliando o mesmo lapso de tempo, houve um crescimento na altura da papila interdental ($-0.033(0.187)$ – $-0.328(0.181)$, $p < 0.01$). Frente a essa observação, os autores propõem que a formação do biofilme subgengival aconteceria inicialmente pela cobertura de parte do biofilme supragengival pelo edema gengival.

Remoção do Biofilme

De acordo o estudo clássico de “gingivite experimental em humanos” (LÖE H, THEILADE E, 1965), está comprovado que a remoção do biofilme dental de forma diária e regular é suficiente para prevenir e deter a gingivite. Por associação, a prevenção da gingivite, seria a forma mais eficaz de prevenir a Periodontite. Segundo a opinião dos pesquisados, a maior parte das pessoas relata escovar os dentes várias vezes por dia (COLUSSI *et al.*, 2011). Isto, no entanto, não é sinônimo de garantia da remoção do biofilme, o que é demonstrado no estudo de Morris, por exemplo, onde 74% dos consultados declaram realizar duas escovações diárias, mas 70% deles apresentam ao menos um dente com biofilme visível, sendo que isto aumenta conforme a idade (MORRIS; STEELE; WHITE, 2001). Estudos similares na matéria coincidem na dificuldade dos indivíduos em manter padrões adequados de higiene oral valendo-se somente de elementos mecânicos (LANG NP, CUMMING BR, 1973), (VAN DER WEIJDEN; HIOE, 2005), (OPPERMANN *et al.*, 2010), (RODE *et al.*, 2012). Surge então a possibilidade de complementar a remoção do biofilme de forma mecânica com coadjuvantes químicos (JOHNSON, 1993), (RODE *et al.*, 2012), particularmente dentífricos (DAVIES R, 2010).

Agentes Antimicrobianos e Antiplaca

É desejável então que um agente antiplaca seja capaz de demonstrar propriedades antibacterianas, apresentar substantividade a diferentes superfícies, não facilitar o desenvolvimento de germes resistentes, não causar dano aos tecidos orais

nas concentrações previstas, não pigmentar os dentes, não alterar o paladar, reduzir o biofilme dental e a inflamação gengival, não desenvolver efeitos adversos sobre os dentes, ser estável, de fácil uso e de preço acessível (A BASCONES MARTINEZ; PEREZ, 2002).

No mercado, existe uma variedade de produtos que surtem efeito antimicrobiano: Clorexidina, Óleos Essenciais (PARASKEVAS, 2005), (TELES; TELES, 2009), Fluoreto Estanoso (PARASKEVAS, 2005), (TELES; TELES, 2009), Cloreto de Cetil-Piridínio (PARASKEVAS, 2005), (TELES; TELES, 2009), Triclosan (DAVIES; ELLWOOD; DAVIES, 2004), (HIOE; VAN DER WEIJDEN, 2005), (GUNSOLLEY, 2006). Atualmente, a clorexidina na forma de colutórios se mantém como a base de referência dos agentes controladores do biofilme (PARASKEVAS, 2005), (VAN STRYDONCK *et al.*, 2012). Apesar disto, conta com indesejáveis efeitos adversos como a pigmentação dental e de mucosas, a formação de sarro e a alteração do gosto quando é usado por mais de 20 dias (JONES, 1997), (BERCHIER; SLOT; VAN DER WEIJDEN, 2010), (VAN STRYDONCK *et al.*, 2012).

Triclosan como Agente Antiplaca e Antiinflamatório

Um composto mencionado anteriormente, que por suas propriedades químicas pode ser administrado em diversos meios é o Triclosan. A partir da década de 60 foi introduzido no mercado como antisséptico, contando com a possibilidade de ser aplicado em hospitais e clínicas, em banho de pacientes com infecção por meticilinos resistentes, em sabonetes de uso domiciliário e inclusive fazendo parte de brinquedos para crianças (GILBERT, P.; MCBAIN; SREENIVASAN, 2007). Há aproximadamente 15 anos seu uso foi estendido a produtos de higiene bucal na forma de dentifrícios e colutórios. No entanto, este último veículo tem sido descontinuado no mercado.

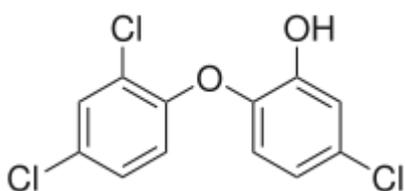


Figura 1 - Fórmula do Triclosan

O triclosan (2, 4, 4' tricloro – 2' - hidroxí fenil éter) é um bisfenol, não iônico o que determina sua versatilidade para ser dispensado em vários produtos dentais. Sua lipofilia, por exemplo, permite a entrada através das células epiteliais da mucosa bucal (RAMBERG P, FURUICHI Y, SHERL D, VOLPE AR, NABI N, GAFFAR A, 1995).

No humano, demonstrou ser inócuo, não favorecendo o desenvolvimento de germes oportunistas nem a sobreinfecção (ZAMBON *et al.*, 1995), (CIANCIO, 2011). Além disso, alguns estudos inclusive demonstraram que possui propriedades antialérgicas (BARKVOLL; RØLLA, 1994), (KJAERHEIM *et al.*, 1995). No entanto, recentemente foram detectados casos de presença de triclosan/copolímero na urina, no leite materno e no plasma. Também se indicam alterações de ecossistemas, co-resistências ou resistências cruzadas entre antibióticos e antissépticos (DRISKO, 2013).

Por sua ação, é antimicrobiano de largo espectro: abrangendo uma vasta gama de gram-negativos, gram-positivos, bem como vírus e fungos (MARSH, 1991), (MARSH; BRADSHAW, 1993). Seu papel como agente antiplaca está estreitamente vinculado à concentração desejada. Como bacteriostático, previne o ingresso de aminoácidos essenciais (PARASKEVAS, 2005); enquanto que como bactericida causa ruptura da parede bacteriana. Isto se atribui à adesão e inibição de uma proteína transportadora (enoil-acil redutase) essencial para a síntese de ácidos graxos que fazem parte da membrana bacteriana. Ao não dispor deles, a formação de dita membrana é incompleta o que conduz à morte celular (HEATH *et al.*, 1999).

Seu ação não só atinge àqueles micro-organismos aderidos ao dente, senão que no resto da boca (saliva, língua e mucosa) determinou-se uma redução notória dos mesmos, o que evita a recolonização rápida do biofilme a partir de áreas afastados (QUIRYNEN *et al.*, 2001), (FINE *et al.*, 2006), (FINE *et al.*, 2012).

Em menor medida, são atribuídos ao triclosan efeitos benéficos vinculados à redução de determinados componentes do processo inflamatório. Sabe-se que é um importante inibidor da síntese de Prostaglandina E2 (pela ação sobre a IL - 1 β e a FNT - α), Prostaciclina GI (MODÉER; BENGTSOON; RÖLLA, 1996), (MUSTAFA *et al.*, 2005) e metaloproteínas da matriz a partir de fibroblastos humanos (ARANCIBIA *et al.*, 2009).

Quando utilizado de forma solitária, o triclosan apresenta algumas carências vinculadas a sua substantividade. A retenção do composto no biofilme e na saliva chega a 8 horas e nas mucosas 3 horas, com uma notável diminuição após a primeira hora de sua aplicação, independentemente do lugar considerado (GILBERT, R. J.; WILLIAMS, 1987). Duas formulações são apresentadas no mercado; uma associada ao

citrato de zinco, a qual entrou em desuso (SAXTON, 1986), (SAXTON; SVATUN; LLOYD, 1988) (JENKINS; ADDY; NEWCOMBE, 1989), (CUMMINS, 1991) e outra associada a um composto agregado que potencializa sua retenção: o ácido polivinil metil éter maleico (PVM/MA) - copolímero, que permite aumentar sua retenção até por 12 horas, sem que suas propriedades antimicrobianas se vejam afetadas (ADDY; JENKINS; NEWCOMBE, 1990), (RAMBERG P, FURUICHI Y, SHERL D, VOLPE AR, NABI N, GAFFAR A, 1995), (BINNEY *et al.*, 1997), (FURUICHI Y, ROSLING B, VOLPE AR, 1999), (ARWEILER *et al.*, 2002). Em nosso mercado existem alguns dentifrícios que o incorporam. Geralmente a formula é 0,3% de triclosan e 2% PVM/MA. Além disso, esta formulação inclui o lauril sulfato de sódio, que permite uma relação benéfica com o triclosan, já que a adição deste surfactante permite uma dissolução completa do triclosan em meios aquosos o que potencializa seu efeito antimicrobiano (RAMBERG P, FURUICHI Y, SHERL D, VOLPE AR, NABI N, GAFFAR A, 1995). É importante mencionar que para estas quantidades de triclosan, excedem-se os valores de MIC (Concentração Mínima Inibitória) para as bactérias presentes no biofilme (DAVIES, 2007). Desta forma, a possibilidade de sua incorporação dentro dos dentifrícios representa uma opção terapêutica válida.

Efetividade do Triclosan 0,3%/Copolímero 2% em dentifrícios

Atualmente, a evidência em relação à efetividade de dentifrícios contendo triclosan a 0,3% + Copolímero a 2% é vasta e consistente, se as considerarmos como meio para o controle do biofilme supragengival e da gengivite. Foram desenvolvidas revisões sistemáticas avaliando o triclosan/copolímero vs. dentifrício fluorado convencional e foram executadas meta-análises quando os dados assim permitiram. Davies inicialmente (DAVIES; ELLWOOD; DAVIES, 2004), conduziu a primeira revisão sistemática disponível a partir de três bases de dados: EMBASE, MEDLINE e CENTRAL. Foram selecionados 250 artigos desde 1986 a 2003, que incluíam ensaios clínicos controlados randomizados, em indivíduos ≥ 18 anos, sem restrição de idiomas, de ≥ 6 meses de duração. Deles, 16 foram escolhidos, 13 dos quais receberam profilaxia inicial, e em 15 deles foram aplicados o Índice de placa de Quigley-Hein (IPQH) e o Índice Gengival de Løe e Silness (IGLS). Um estudo utilizou o Índice de Placa de Løe e Silness (IPLS) e o Índice Gengival de Ainamo e Bay (IGAB). Além disso, 13 trabalhos

apresentaram o Índice de Severidade de Gengivite (ISG) e outros sete o Índice de Severidade de Placa (ISP). Todos os artigos recuperados foram randomizados (embora o processo não seja claro), 15 deles foram duplo cego e os “drop-out” não superaram 13%. Os resultados mostram uma redução do grupo teste sobre o grupo controle WMD -0.48 (-0,64 a 0,32, para IPQH); -0,15 (-0.20 a 0,09 ISP) e -0,04 (-0,10 a -0,02, IPLS). No caso da inflamação, também houve uma redução de valores de -0.26 WMD (-0.34 a -0.18; IGLS); -0,12 (-0,07 a -0.08, ISG) e -0,06 (-0.11 a -0.01 ISAB). Em todos os casos houve heterogeneidade significativa. Segundo os autores, o dentifrício com triclosan/copolímero reduz a proporção das superfícies com altos níveis de placa em 15% e em 12% as áreas com sangrado gengival; em termos relativos houve uma redução de 49% das áreas com biofilme e sangrado. Para o caso de IPQH a redução da placa representa 23%, mesmo valor que para o IGLS. Os autores concluem que a incorporação do triclosan/copolímero a um dentifrício provê uma maior efetividade no controle do biofilme que um dentifrício fluoretado convencional.

Em 2005 Hioe & van der Welden (HIOE; VAN DER WEIJDEN, 2005), publicaram uma nova revisão sistemática. Para este caso foi consultada somente uma base de dados: MEDLINE/PUBMED, unicamente em fala inglesa. Todos os estudos foram realizados até 2005, ≥ 6 meses de duração, com indivíduos ≥ 18 anos. A busca inicial reuniu 105 artigos, dos quais foram escolhidos 18. Todos foram aleatorizados, mas em seis não foi clara. Em 17 estudos os participantes receberam profilaxia profissional no início. A placa foi medida da seguinte forma: IPQH – 12 vezes, IGLS – 12, IPLS – 6. A redução em termos de WMD para a placa (IPQH) e gengivite (IGLS) foi similar ao trabalho anterior. Menciona-se como fortaleza de parte dos autores, que para o grupo teste e para o controle não houve diferenças significativas no início. As meta-análises para a avaliação do biofilme e a inflamação gengival partiram de nove estudos, todos eles inclusos no trabalho previamente comentado de Davies (HIOE; VAN DER WEIJDEN, 2005).

No ano 2006, um terceiro meta-análise foi desenvolvida (GUNSOLLEY, 2006). A partir do MEDLINE, foram recuperados 17 artigos, já mencionados nas outras revisões. Os autores concluírem que há uma diferença altamente significante para o grupo teste ($p < 0.0001$) na redução do biofilme.

Então, os métodos de avaliação do biofilme supragengival estiveram representados somente por índices topográficos:

Índice de Placa de Quigley & Hein (Modificado por Turesky), onde os depósitos são revelados por meio de corante (eritrosina) e são qualificados segundo os seguintes escores: 0= sem placa; 1= manchas de biofilme separadas em nível da margem gengival; 2= uma contínua faixa de biofilme em nível da margem gengival; 3= faixa de biofilme que supera o milímetro mas que não excede 1/3 da superfície dentária; 4= faixa de biofilme que cobre ao menos 1/3 mas menos do que 2/3 da superfície dentária; e 5= biofilme cobrindo mais de 2/3 (TURESKY, S., GILMORE, N. D., GLICKMAN, 1970).

Índice de Placa de Løe e Silness: 0= não se aprecia biofilme na área gengival; 1= uma capa de biofilme aderido à margem gengival e adjacente ao dente. O reconhecimento ocorre ao passar uma sonda pela superfície dental; 2= moderada acumulação de biofilme dentro de uma bolsa, sobre a margem gengival e/ou adjacente ao dente visto simplesmente pelo olho humano; e 3= abundante acumulação de biofilme dentro de uma bolsa, sobre a margem gengival e/ou adjacente ao dente (SILNESS, J. AND LÖE, 1964).

Um sistema de medição mais dinâmico foi desenvolvido posteriormente, com o fim de controlar a formação precoce do biofilme supragengival, a extensão a nível subgengival e a existência de zona livre de placa. O procedimento consiste em revelar o biofilme microbiano a partir da fucsina e classificar segundo os seguintes critérios: 0= superfície dentária livre de biofilme; 1= presença de biofilme e de zona livre de placa; e 2= presença de biofilme e extensão subgengival do mesmo (MALISKA *et al.*, 2006).

HIPÓTESE E OBJETIVO DE ESTUDO

O uso de bochechos com suspensões em solução de creme dental contendo 0,3% de Triclosan reduz a formação inicial de biofilme subgengival se comparado ao uso de suspensão placebo para bochecho.

OBJETIVOS

Comparar o efeito do uso de bochechos em suspensões de creme dental contendo Triclosan sobre o biofilme supragengival na dinâmica da relação com o biofilme subgingival por meio da Zona Livre de Placa (ZLP) com uso de bochecho com placebo.

METODOLOGIA

TIPO DE ESTUDO

É um ensaio clínico cruzado duplo cego, randomizado. O mesmo foi registrado no clinicaltrials.gov (ANEXO N°1 – REGISTRO DO ENSAIO CLINICO).

CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O protocolo de estudo foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética para Pesquisa em Humanos da UFRGS, conforme consta em anexos (ANEXO N°2 - COMITÊ DE ÉTICA PARA PESQUISA EM HUMANOS DA UFRGS). Os sujeitos foram incluídos após a leitura e assinatura do consentimento livre e esclarecido (ANEXO N°3 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO).

CÁLCULO AMOSTRAL

Com base no estudo de Maliska e cols (MALISKA *et al.*, 2006), considerou-se 21.6% (± 22) a frequência média de sítios sem ZLP com uso de placebo e 10% (± 10) a frequência média de sítios sem ZLP com uso de solução para bochecho contendo triclosan. A estimativa de tamanho de amostra foi de 24 pacientes, com uso do software GPower 3.1, e o número de pacientes final foi de 30 sujeitos, considerando-se taxa de atrição de 20%.

PARTICIPANTES

RECRUTAMENTO E SELEÇÃO DA AMOSTRA

Sujeitos de 18 a 40 anos de idade, de ambos os sexos, todos alunos do Curso de Odontologia da Faculdade, foram elegíveis após se voluntariarem, a partir da leitura do cartaz de chamamento (ANEXO N° 4 – CARTAZ DE CHAMAMENTO). Os voluntários

foram submetidos a uma entrevista dialogada e ao exame clínico odontológico (ANEXO N° 5 – FICHA CLÍNICA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UFRGS).

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E PERMANÊNCIA NO ESTUDO

Os voluntários foram incluídos e mantidos no estudo se atendessem aos seguintes critérios: assinatura do termo de Consentimento Livre e Esclarecido; indivíduos do gênero masculino e feminino, com idade entre 18 e 40 anos inclusive; não serem fumantes, disponibilidade para dois períodos de cinco dias de pesquisa mais dez dias de “wash out”; boa saúde geral; ter no mínimo 20 dentes permanentes naturais (excluindo-se terceiros molares) incluindo dentes anteriores superiores e inferiores bem como primeiros pré-molares (dentes experimentais); dentes experimentais sem nenhuma restauração, banda ortodôntica, irregularidades anatômicas, recessão, gengivite (avaliada pelo Índice de Sangramento Gengival de Ainamo & Bay, 1975) e/ou periodontite (perda de inserção clínica e sangramento periodontal); não apresentarem tumor (es) dos tecidos moles ou duros da cavidade bucal; não terem ingerido antibióticos em qualquer momento durante o mês anterior a entrada no estudo; as voluntárias não poderão estar grávidas ou amamentando; voluntários sem história de alergia ao consumo de produtos de higiene bucal ou seus ingredientes.

Um total de 32 voluntários participaram da convocatória, 28 foram incluídos após a seleção (ANEXO N° 6 - FORMULÁRIO DE SELEÇÃO INICIAL). Prévio ao início da pesquisa, um sujeito desistiu de participar da pesquisa. Assim, 27 indivíduos iniciaram o período 1 (P1). Ao começar o segundo período (P2), outro participante abandonou a pesquisa por questões pessoais. Um total de 26 pessoas concluíram os dois períodos previstos.

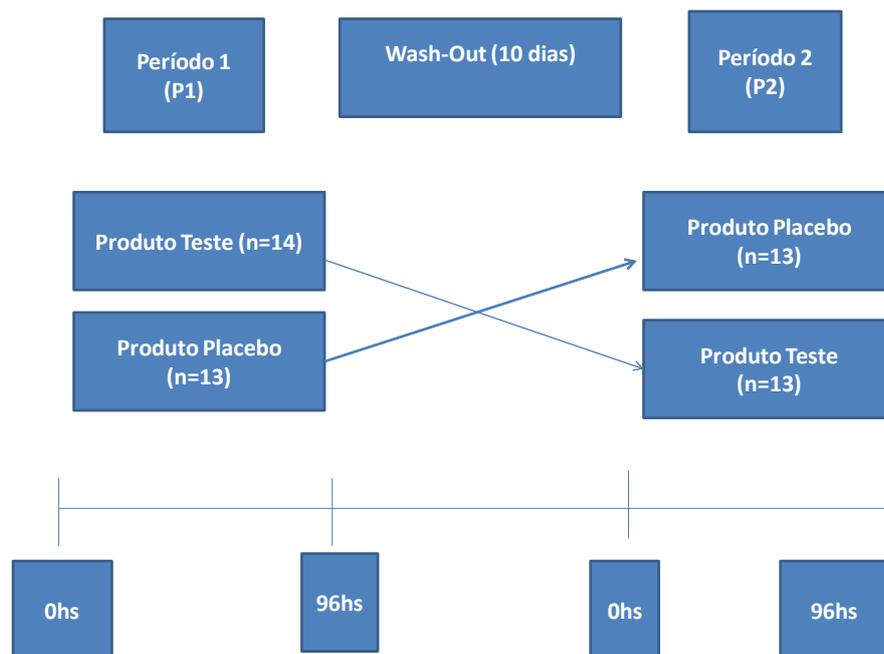


Figura 2 - Fluxograma do Estudo

PREPARAÇÃO E UTILIZAÇÃO DAS FORMULAÇÕES EXPERIMENTAIS

O produto teste em acordo com o fabricante apresentou:

Ingredientes ativos: NaF 0,3% (1450ppm de flúor), Triclosan 0,3%.

Outros Ingredientes: Silica hidratada/ Água/ Glicerina/ Sorbitol/ Copolímero/ Lauryl sulfato de sódio/ Aroma/ Hidróxido de sódio/ Propilene Glycol/ Goma de celulosa/ Sacarina sódica/ Carragenina/ Dióxido de Titânio.

O produto controle tinha como ingrediente ativo NaF 1450 ppm e os demais ingredientes de forma semelhante ao produto teste. Os cremes dentais que foram utilizados para as suspensões foram adquiridas pela equipe de pesquisa.

As duas soluções foram preparadas por uma participante (SG) do projeto que não participou do exame clínico. A preparação consistiu na diluição de 1 g de pasta de dentes em 10 ml de água destilada. As soluções foram disponibilizadas em frascos plásticos fechados, cuja única identificação foi um código mantido secreto para os participantes e examinadores. Previamente à utilização das suspensões, os participantes foram orientados em agitar os frascos até a formação de uma suspensão sem sedimentos. Todos os participantes receberam frascos plásticos contendo 10 ml da

suspensão, distribuídos pelo equipe de pesquisa, retornando os frascos utilizados diariamente. Foram instruídos em bochechar com a suspensão fornecida durante um minuto, de 12 horas em 12 horas, durante 5 dias dos períodos P1 e P2. Eles também foram orientados a não comer ou beber 30 minutos após o bochecho.

TÉCNICA DE AMOSTRAGEM

27 participantes responderam à chamada, cumpriram os critérios de inclusão e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Uma vez que os participantes cumpriram os passos prévios, foi dado um número para ingressar ao projeto. A partir desse momento foi realizado um procedimento de randomização simples, formando dois blocos de tratamento, procedimento feito por um integrante da equipe de pesquisa, utilizando um para tal fim o sítio web: www.randomization.com.

PROCEDIMENTO DE TREINAMENTO E CALIBRAGEM

Para conduzir o estudo, o examinador principal (EA) foi previamente treinado e calibrado para medição de biofilme supragengival e subgengival inicial, avaliando zona placa livre a partir de um sistema de medida anteriormente aplicado (MALISKA *et al.*, 2006). O treinamento foi feito a partir de fotografias clínicas. Então, em conjunto com o examinador considerado "padrão ouro" (PW) foi realizado o procedimento de calibração inter-examinador, com 3 participantes (10% da amostra) que foram convidados para fazer parte desta fase, onde o coeficiente Kappa obtido foi 0.70. Ao início do segundo período, uma fase de calibração intra-examinador foi desenvolvida com o mesmo número de participantes, com um kappa de 0,723.

CEGAMENTO DO EXAMINADOR PRINCIPAL

Foi desenvolvido um estudo duplo-cego para garantir a confiabilidade dos resultados. Os participantes não sabiam qual foi o produto utilizado (teste ou controle) para o bochecho por conta de uma codificação especial. Além disso, ambos os produtos tinham a mesma cor, sabor semelhante e foi apresentado nos mesmos recipientes. O outro aspecto central do mascaramento foi que o examinador principal (EA) não participou na realização do processo de aleatorização, e a elaboração dos

produtos e obviamente, também desconhecia se o participante pertencia grupo teste ou controle.

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Depois que os voluntários decidiram participar do estudo foi realizado um procedimento de randomização que permitiu incluir aleatoriamente os sujeitos na pesquisa bochechando com uma suspensão bucal contendo triclosan (grupo teste) ou sem triclosan (grupo controle). O estudo foi dividido em três períodos:

Antes do início do período experimental, todos os participantes receberam as seguintes instruções escritas: suspender o controle mecânico do biofilme (escova dental, fio dental) no conjunto de dentes de 15 a 25; para a higiene dos demais dentes só usar itens de higiene mecânicos sem creme dental e enxaguatório bucal, não utilizar gomas de mascar. Os participantes receberam consulta odontológica onde os dentes experimentais foram lavados, secados e isolados com roletes de algodão. O biofilme foi evidenciado com fucsina básica (Replanic T, Iodontec, Brasil) aplicada utilizando-se uma seringa e agulha descartável (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ). Após 30 segundos os dentes foram lavados e os depósitos revelados foram removidos com o auxílio de taça de borracha, pedra pomes e curetas quando necessário. Uma nova revelação foi utilizada para se certificar que todos os depósitos corados foram removidos. Na sequência os participantes faziam os bochechos com os produtos indicados na presença do examinador principal.

Período (P1): das 24hs até às 96hs, os dentes experimentais (14 até 24) de cada participante foram, lavados, secados, isolados com roletes de algodão e o biofilme foi evidenciado. Utilizou-se uma caneta marcadora identificada (UNI PIN 02-200 black fine line, Mitsubishi pencil Co. Ltd. Japan) com o código do participante no estudo para seu uso em exclusividade com o objetivo de marcar duas referências na gengiva vestibular, 1 – 2mm apicalmente ao margem gengival, dividendo a superfície vestibular em forma longitudinal em três terços iguais: mesio-vestibular, vestibular e disto-vestibular. Além disso, foram realizados os registros fotográficos intraorais dos participantes. O examinador principal avaliou as três áreas dos dentes teste usando um sistema de

classificação que descreve o processo de formação do biofilme até a extinção da ZLP (MALISKA *et al.*, 2006):

Critério 0: superfície dental livre de placa e de ZLP;

Critério 1: presença de placa evidenciada e presença de ZLP;

Critério 2: presença de placa evidenciada e ausência de ZLP (formação inicial do biofilme subgingival)

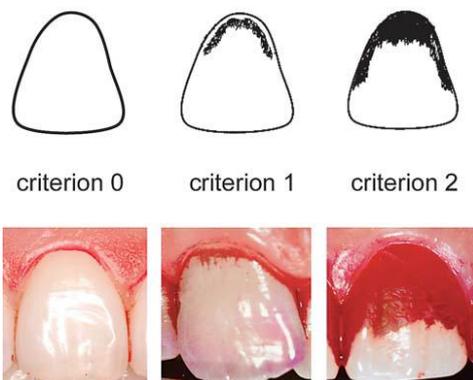


Figura 3 – Distribuição esquemática e situação clínica dos escores do índice proposto por Maliska y Col.

Período de Interstício (Wash-out PWO): Ao final do P1 os participantes receberam polimento coronário e retornaram a sua rotina de higiene bucal por 10 dias. O polimento coronário também foi realizado após o P2 antes de liberar os participantes do estudo.

Período 2 (P2): os mesmos procedimentos experimentais desenvolvidos em P1 foram reproduzidos nessa fase com a correspondente troca de produtos utilizados pelos participantes. Durante os dois períodos foram avaliados os tecidos moles e duros bucais por meio do relato do próprio paciente e complementado pelo exame visual do examinador durante as sucessivas consultas. (ANEXO N° 8 - FORMULÁRIO PARA O REGISTRO DE EVENTOS ADVERSOS). Os achados clínicos foram registrados em um formulário específico (ANEXO N° 7 - FORMULÁRIO DE AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO INICIAL DO BIOFILME SUBGENGIVAL (ZONA LIVRE DE PLACA)).

ANÁLISE DE DADOS

Os dados foram digitados de forma codificada em um banco de dados e analisados em software estatístico (SPSS/Windows, versão 18). Foram calculadas as frequências individuais e médias dos grupos para cada um dos critérios em cada momento do experimento. Além disso foi realizado o Teste de Friedman e Wilcoxon, com um nível de significância estabelecido de 5%. Calcularam-se também as médias percentuais dos respectivos escores em cada um dos tempos experimentais no total das superfícies examinadas (tanto para vestibulares como para as proximais). Para complementar também foram avaliadas as conversões de escores 0 e 1 para escore 2 entre os períodos experimentais. Para o cálculo final, foram considerados só aqueles que completaram os dois períodos, o seja o n foi de 26 sujeitos. Para todas as análises o indivíduo foi considerado como unidade amostral.

RESULTADOS

O estudo foi desenvolvido no período de maio a junho de 2013. Um total de 32 voluntários se apresentou ao chamado realizado e 28 foram incluídos depois de participar do screening. Prévio ao começo do trabalho, um voluntário recusou-se a participar, pelo que um total de 27 indivíduos começou o estudo. Ao começar o segundo período foi excluído outro participante por problemas alheios à investigação, pelo que 26 participantes completaram os dois períodos previstos.

Da mostra total, 18 foram do sexo feminino (69,23%) e 8 masculino (30,76%), com uma idade média de 22,96 \pm 3.51 anos. Todos os participantes eram estudantes, com boa condição de saúde geral, possuíam um mínimo de 20 dentes presentes e não foi relatado nenhum evento adverso vinculado à investigação durante os dois períodos.

Ao examinar a totalidade das superfícies testadas, observou-se que após 24 horas para produto teste 67,6% das superfícies apresentaram escore 0; 31,2% escore 1; e 1,1% escore 2. Para o produto controle, 63,3% apresentaram escore 0; 35,4% escore 1; e 1,3% escore 2, sendo estas diferenças estatisticamente significativas ($p = 0.001$). Nos restantes períodos examinados as diferenças não demonstraram relevância estatística. Foi possível observar uma mudança gradual nas percentagens médias dos escores em direção ao escore 2, que equivale à presença do biofilme e à ausência de ZLP (percentagens de escores para todas as superfícies, Figuras 4, 5, 6 e 7).

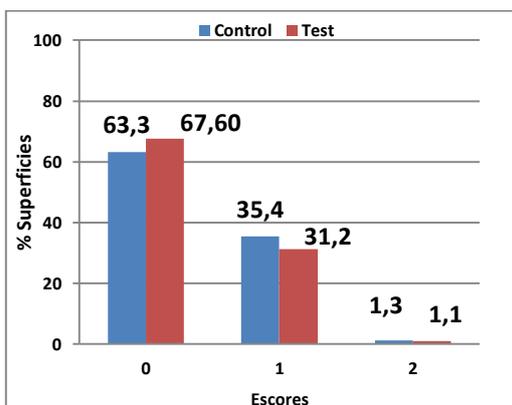


Figura 4 - Percentagem de escores para todas as superfícies às 24hs ($p=0.001$)

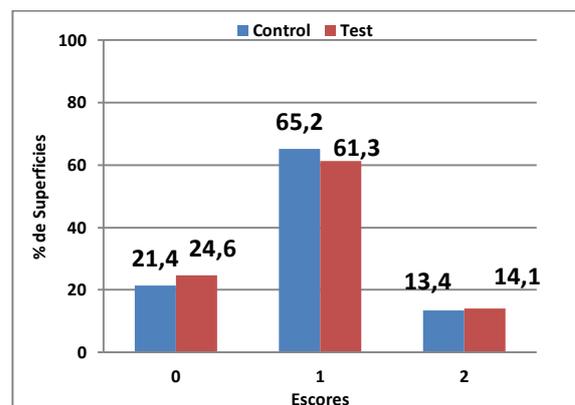


Figura 5 - Percentagem de escores para todas as superfícies às 48hs ($p=0.082$)

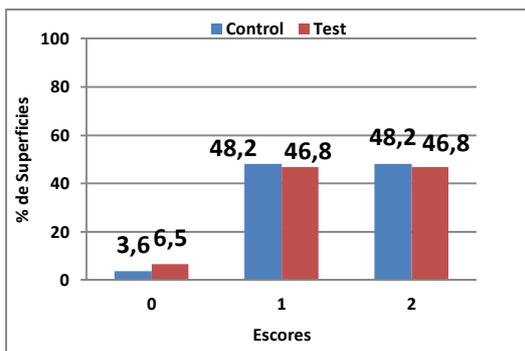


Figura 6 - Percentagem de escores para todas as superfícies às 72hs (p=0.209)

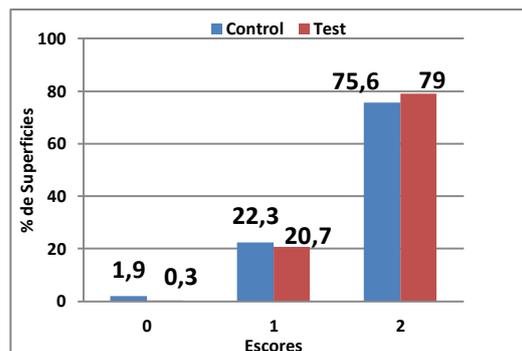


Figura 7 - Percentagem de escores para todas as superfícies às 96hs (p=0.143)

Os resultados também foram analisados de acordo com o tipo de superfície examinada (tabelas de percentagens por superfície examinada). Dessa forma, pôde-se apreciar que para as superfícies livres após 24 horas existiam diferenças significativas entre o grupo teste vs. o controle. No grupo teste, 82% apresentaram escore 0; 18% escore 1; e 0% escore 2. No grupo controle 83% apresentaram escore 0; 16,5% escore 1; e 0,5% escore 2 (Figura 8, percentagem de escores de superfícies livres, p=0.001).

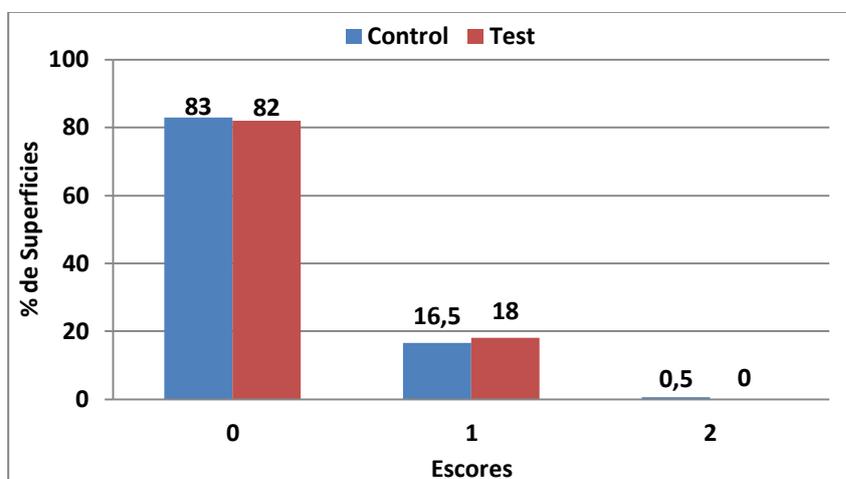


Figura 8 - Percentagem de escores das superfícies livres às 24hs (p=0.001)

Nas demais medições (48 horas, 72 horas) não houve diferenças estatísticas entre os produtos testados. De qualquer forma, evidenciou-se uma transformação paulatina em direção aos escores 2 embora não tão pronunciada (Figuras 9 e 10, percentagens de escores em superfícies livres, p=0.915 e p=0.088).

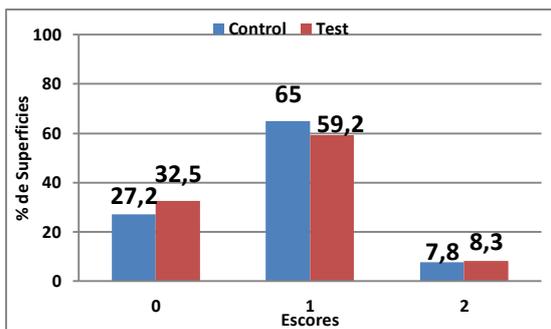


Figura 9 - Percentagem de escores em superfícies livres às 48hs (p=0.915)

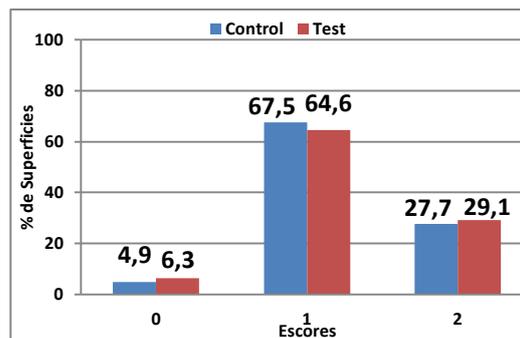


Figura 10 - Percentagem de escores em superfícies livres às 72hs (p=0.088)

Após 96 horas, mais escores 1 foram encontrados no grupo teste que no grupo controle (39,3% vs 35%) e menos escores 2 registrados em quem utilizou o produto teste vs. o controle (60,2% vs. 61,7%), (Figura 11, percentagem em superfícies livres, p=0.012).

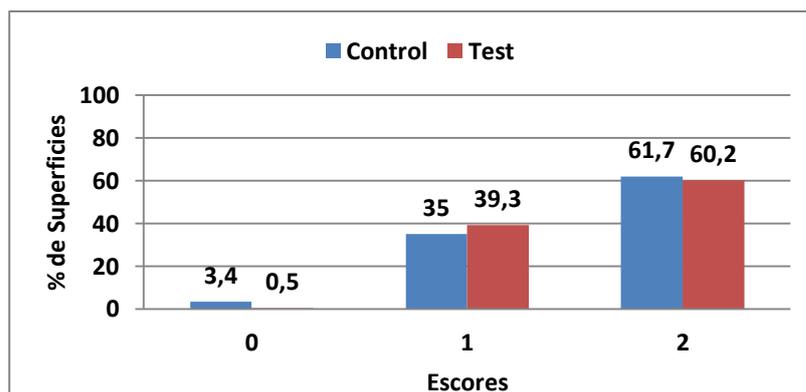


Figura 11 - Percentagem de escores em superfícies livres às 96hs (p=0.012)

Nas áreas proximais, descrevem-se as descobertas mais notáveis. Depois de 24 horas, 60,4% dos indivíduos que utilizaram o produto teste apresentaram escore 0; 37,9% escore 1; e 1,7% escore 2. Nos indivíduos que se enxaguaram com o controle, 53,4% tiveram escore 0; 44,9% escore 1; e 1,7% escore 2 (Figura 12, percentagem de escores em superfícies proximais, p=0.001). Após 48 horas, 20,6% dos participantes que utilizaram o produto teste apresentaram escore 0; 62,4% escore 1; e 17% escore 2. Para o caso dos indivíduos do grupo controle, 18,4% apresentaram escore 0; 65,3% escore 1; e 16,3% escore 2 (Figura 13, percentagens de escores de superfícies proximais, p=0.043).

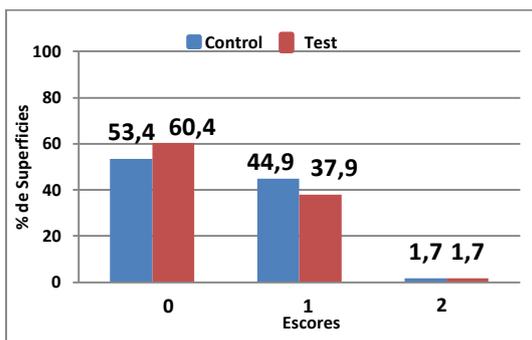


Figura 12 - Percentagem de escores em superfícies proximais às 24hs ($p=0,001$)

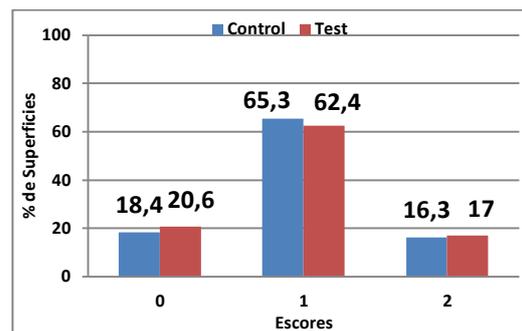


Figura 13 - Percentagem de escores em superfícies proximais às 48hs ($p=0,043$)

Após 72 horas, no grupo teste 6,6% apresentaram escore 0; 37,9% escore 1; e 55,6% escore 2. Quanto ao grupo controle, 2,9% apresentaram escore 0; 38,6% escore 1; e 58,5% de escore 2 (Figura 14, percentagem de escores em superfícies proximais $p=0,010$).

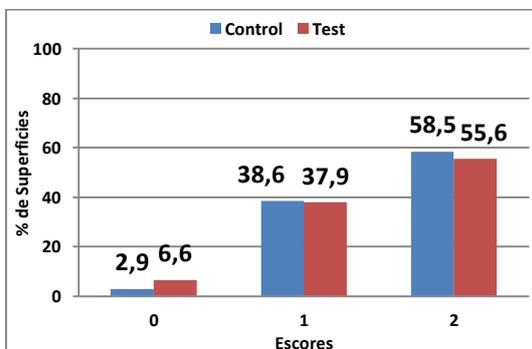


Figura 14 - Percentagem de escores em superfícies proximais às 72hs ($p=0,010$)

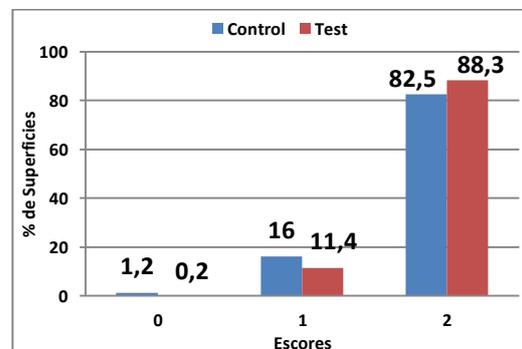


Figura 15 - Percentagem de escores em superfícies proximais às 96hs ($p=0,678$)

Depois de 96 horas, 0,2% dos indivíduos que receberam o produto teste apresentaram escore 0; 11,4% escore 1; e 88,3% escore 2. Quanto àqueles que utilizaram a solução de controle, 1,2% apresentaram escore 0; 16% escore 1; e 82,5% escore 2 (Figura 15, percentagem de escores em superfícies proximais, $p=0,678$).

Tabela de escores para superfícies Proximais e Livres

Superfícies Proximais	Controle (% médio sítios)	Teste (% médio sítios)	p	Superfícies Livres	Controle (% médio sítios)	Teste (% médio de sítios)	p
24 horas				24 horas			
0	53,4	60,4		0	83	82	
1	44,9	37,9		1	16,5	18	
2	1,7	1,7	0,001	2	0,5	0	0,001
48 horas				48 horas			
0	18,4	20,6		0	27,2	32,5	
1	65,3	62,4		1	65	59,2	
2	16,3	17	0,043	2	7,8	8,3	0,915
72 horas				72 horas			
0	2,9	6,6		0	4,9	6,3	
1	38,6	37,9		1	67,5	64,6	
2	58,5	55,6	0,010	2	27,7	29,1	0,088
96 horas				96 horas			
0	1,2	0,3		0	3,4	0,5	
1	16	11,4		1	35	39,3	
2	82,5	88,3	0,678	2	61,7	60,2	0,012

Por último, foram analisadas as conversões de escores 0 e 1 a escores 2. No que se refere às superfícies proximais, se observou que nos indivíduos que utilizaram o produto teste, menos áreas se transformaram em escores 2 (biofilme subgingival) ao compará-lo com o controle: 9,7% vs. 11,9% (24 horas – 48 horas, $p=0,04$); 38,1% vs. 40,5% (48 horas – 72 horas, $p=0,015$). No lapso decorrido entre 72 e 96 horas, a relação foi inversa, mais áreas desenvolveram escores 2 para o caso do produto teste em relação ao controle, 30,1% vs. 32,3% ($p=0,002$) (Figura 16, transformações de escores 2 a nível proximal).

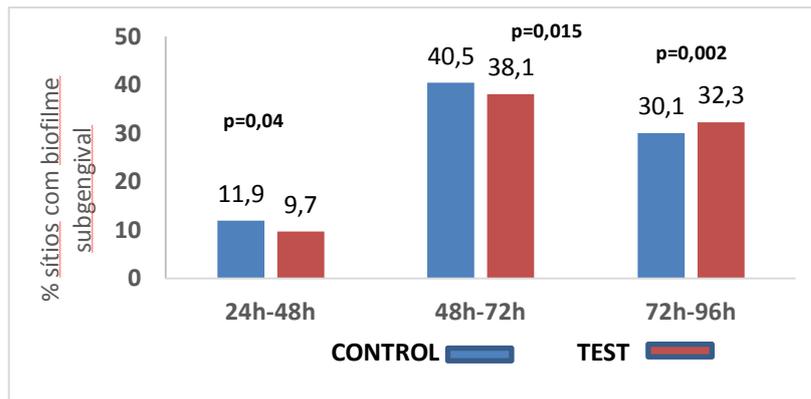


Figura 16 – Transformações de escores 2 ao nível proximal

A mesma análise, mas para as superfícies livres, demonstra que não houve diferenças estatisticamente significativas referentes à conversão de áreas 0 e 1 (sem biofilme subgingival) a 2 (biofilme subgingival independente do lapso de tempo), ao comparar os resultados o produto teste com o do controle (Figura 17, transformações de escores 2 em nível de superfícies livres).

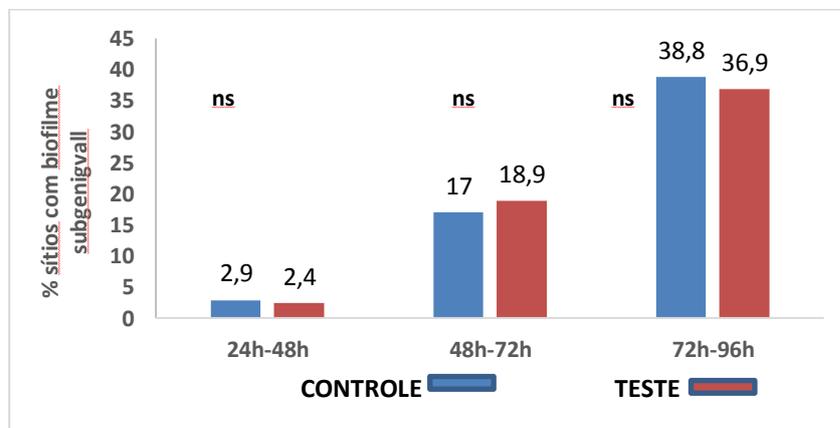


Figura 17 – Transformações de escore 2 ao nível de superfícies livres

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo permitiram demonstrar que enxaguatórios bucais com uma suspensão de dentifrício contendo triclosan e copolímero na formulação descrita, preservaram de forma significativa a presença de uma zona livre de biofilme entre o biofilme supragengival e a margem gengival, o que permitiu um retardamento na formação inicial do biofilme subgengival.

Ao analisar todas as superfícies em conjunto, o efeito antiplaca do triclosan se manteve significativo já nas primeiras 24 horas de uso do enxaguatório. No presente modelo experimental o efeito do controle mecânico foi eliminado exatamente para revelar somente o efeito do triclosan como antimicrobiano e anti-inflamatório. Esses resultados, evidentemente, não podem ser comparados com os estudos de longa duração, que relatam reduções na presença do biofilme supragengival associadas ao emprego de dentifrício com triclosan na escovação diária (KANCHANAKAMOL *et al.*, 1995), (RENVERT; BIRKHED, 1995), (MANKODI S, CHAKNIS P, PANAGAKOS FS, DEVIZIO W, 2011). Depois de 96 horas, não houve nenhuma diferença significativa para nenhum escore entre os grupos. Desenhos metodológicos similares ao apresentado, de quatro dias de duração, com restrição de toda forma de remoção mecânica do biofilme supragengival, foram desenvolvidos para avaliar a ação dos agentes antiplaca (M. ADDY, 1983), entre eles o triclosan (SAXTON, 1986), (ADDY; JENKINS; NEWCOMBE, 1990). Os mesmos permitiram apreciar diferenças em relação à redução de biofilme supragengival por meio da utilização de suspensões em enxaguatórios com triclosan (ADDY; JENKINS; NEWCOMBE, 1990), (ARWEILER *et al.*, 2002). No entanto, há diferenças entre esses estudos e o presente no sentido de que não foi realizada uma avaliação quantitativa da presença do biofilme como a que deriva do uso de sistemas como o Índice de Placa Quigley & Hein. Nosso interesse particular foi comparar uma fórmula composta por triclosan/copolímero com o placebo no processo de transição entre o biofilme supragengival e subgengival, medido pela presença da zona livre de biofilme. O método empregado foi validado por Maliska e col (MALISKA *et al.*, 2006). Nesse estudo se observou que enxaguatórios com clorexidina a 0,12% provocam uma redução significativa de escores 2 (ausência de Zona Livre de Biofilme) depois de 72 e

96 horas de uso, em comparação com os enxagatórios com placebo. É sabido que o uso da clorexidina na forma de colutórios é capaz de reduzir a formação do biofilme supragengival de forma significativa por períodos ainda maiores aos quatro dias (JONES, 1997), (VAN STRYDONCK *et al.*, 2012). Por essa razão esse antisséptico ainda é considerado a base de referência quando se trata do efeito preventivo sobre a formação do biofilme e no caso também sobre a inibição da formação do biofilme subgengival. No presente estudo, o método proposto por Maliska e col (MALISKA *et al.*, 2006) foi empregado com a devida calibração do examinador em relação a uma das criadoras do método (P.W.). O grau de concordância interexaminador obtido é considerado “Bom” (0,70) (LANDIS; KOCH, 1977), e similar à reprodutibilidade que se obteve no estudo anterior (MALISKA *et al.*, 2006). Do mesmo modo, durante o segundo período, após 72hs de acúmulo do biofilme, foi realizada a calibração intra-examinador, obtendo-se um Kappa= 0.723 (LANDIS; KOCH, 1977).

Motivados pela observação clínica e considerando a informação prévia sobre a maior velocidade de formação do biofilme em setores proximais (BERGSTRÖM, 1981), (LINDHE *et al.*, 1993), (RAMBERG; AXELSSON; LINDHE, 1995), (WEIDLICH; LOPES DE SOUZA; OPPERMANN, 2001), (SÖDER B, JOHANNSEN A, 2003) foi realizada uma análise individual dos setores proximais e livres. No presente estudo, ficou claro que esse fator é relevante para ensaios de curta duração. Neste caso, o uso de enxagatórios com suspensões de dentifrícios contendo triclosan mostraram de forma mais consistente uma redução significativa da presença do biofilme subgengival formado a partir da presença de biofilme supragengival, maior nas fases proximais que nas livres. Quando se analisam por separado, após 72 horas nas fases proximais registrou-se o maior impacto do triclosan como antimicrobiano ao apresentar menos escores 2 do que o placebo ($p=0,01$). Estudos sobre a avaliação do biofilme supragengival, mostram que quanto maiores forem os depósitos de biofilme, o efeito do triclosan também será maior (MANKODI S, CHAKNIS P, PANAGAKOS FS, DEVIZIO W, 2011). É interessante observar que a percentagem de escores 2 no grupo controle foi sempre maior a nível proximal do que nas fases livres. Entretanto, nas fases livres, foram observadas diferenças significativas depois de 24 e 96 horas. No primeiro tempo considerado, a ação própria antiplaca do triclosan fica demonstrada. O efeito do triclosan, que mostra

importância estatística na menor quantidade de escores 2 comparado com o controle após 96 horas, pode estar vinculado ao fator tempo que envolve a formação e estabelecimento do biofilme subgengival. Ou seja, após 72 horas nas faces proximais houve diferença significativa para frequências de escore 2 de 55,6%, como foi mencionado; valores aproximados a este chegaram a ser evidentes apenas nas fases livres após 96 horas.

Uma apreciação importante a considerar é que no transcurso das 24 - 72 horas, percebe-se que no grupo teste menos áreas se transformaram em escore 2 que no controle (9,7% vs. 11,9; $p=0.04$ e 38,1 vs. 40,5; $p=0,015$) respectivamente. Nas superfícies proximais, após 96 horas, observa-se que a conversão foi maior associada ao triclosan em relação ao placebo. Uma explicação plausível seria que a possibilidade de transformação seria maior para o teste, já que com o placebo essa conversão estaria bastante limitada pela quantidade de escores que já haviam passado a 2 nos períodos anteriores. De forma semelhante, é possível observar que em nenhum momento a transição de escores 0 e 1 para escores 2 foi significativa quando são consideradas as fâcies livres. Para o caso das fâcies proximais, há uma redução na conversão mencionada a favor do uso do triclosan até as 72hs. Também deve ser considerada a possibilidade de que os efeitos inibidores do triclosan se limitem a um período de tempo considerado, correspondente a uma determinada quantidade de biofilme.

As pessoas apresentam grande dificuldade de levar a cabo de medidas de higiene adequada nas áreas proximais, seja por não utilizar recursos para a remoção do biofilme ou por não serem efetivas em seu uso (LANG NP, CUMMING BR, 1973), (JOHNSON, 1993), (WILSON, 1998). Esta situação pode então conduzir a uma maior prevalência da gengivite (RAMBERG; AXELSSON; LINDHE, 1995) e periodontite nestes setores e, portanto, os esforços das medidas preventivas devem enfatizar o cuidado em ditos setores (DRISKO, 2013).

Os resultados do presente estudo devem ser considerados dentro dos limites da metodologia proposta. O objetivo foi testar uma suspensão aquosa de um

dentifrício contendo uma fórmula de triclosan, um copolímero e outros ingredientes. Neste caso, foram utilizados estudantes de odontologia, que considerado como grupo, apresenta respostas e características próprias, possivelmente condicionadas a seu grau de conhecimento e motivação profissional (ARAÚJO *et al.*, 2009), (ESPINOZA SANTANDER I, MUÑOZ POBLETE C, LARA MOLINA M, 2010). Portanto, os resultados não podem ser extrapolados de forma automática à população geral.

O projeto metodológico utilizado é de curta duração. Hoje em dia, existem restrições éticas que praticamente impedem projetos de duração mais longa, onde é necessária a cessação de medidas de controle mecânico. No entanto, é suficiente para avaliar o efeito inibidor do triclosan, de acordo com estudos semelhantes (M. ADDY, 1983), (JENKINS; ADDY; NEWCOMBE, 1989), (ADDY; JENKINS; NEWCOMBE, 1990), (WEIDLICH; LOPES DE SOUZA; OPPERMANN, 2001), (CAIFANG CAO, YUEQUIN SHA, 2001), (ARWEILER *et al.*, 2002). Estes projetos são importantes porque a partir de seus resultados é possível apreciar o efeito isolado próprio de uma formulação determinada sem considerar a presença do controle mecânico. Dessa forma, é possível justificar seu uso como agente antisséptico, seja como substituto do controle mecânico ou como coadjuvante do mesmo. Neste caso, os resultados do presente estudo mostram que a formulação testada pode ser considerada como coadjuvante.

O estudo também utilizou um exame parcial que envolve somente incisivos, caninos e pré-molares. Sabe-se que a velocidade de formação do biofilme varia nas diferentes regiões da boca (QUIRYNEN; VAN STEENBERGHE, 1989), (FURUICHI *et al.*, 1992), (RAMBERG; AXELSSON; LINDHE, 1995). No presente estudo outras áreas não foram envolvidas dentro do exame por conveniência e porque ainda não foi validado o índice em regiões molares. É possível que nesses segmentos o efeito do triclosan seja semelhante ao atingido nas fases proximais onde foi evidente a maior quantidade de depósitos microbianos. Desta forma, os resultados deste estudo dão sustentação para desenvolver no futuro um estudo de maior duração e com outro desenho experimental, onde seja possível avaliar de forma controlada o efeito dos regimes de higiene bucal incorporando o triclosan presente em dentifrícios como coadjuvante na escovação bucal diária.

No presente estudo, não foram avaliadas as alterações da margem gengival descritas previamente (WEIDLICH; LOPES DE SOUZA; OPPERMANN, 2001) que mostraram o processo de transição entre o biofilme supragengival e subgengival. Para esse caso, estudos de maior duração permitiriam apreciar a resposta inflamatória e sua correlação com a presença/ausência da zona livre de biofilme. Essa informação é relevante já que são conhecidas as propriedades anti-inflamatórias do triclosan complementando seu papel como antiplaca (SAXTON; HUNTINGTON; CUMMINS, 1993), (MODÉER; BENGTTSSON; RÖLLA, 1996), (MUSTAFA *et al.*, 2005), (ARANCIBIA *et al.*, 2009). É possível que dita propriedade seja importante para a redução da presença do biofilme subgengival, uma vez que, de acordo com Weidlich e col (WEIDLICH; LOPES DE SOUZA; OPPERMANN, 2001) a transição de biofilme supragengival a biofilme subgengival envolve edema gengival associado à resposta inicial da gengiva ao biofilme supragengival. Alguns estudos demonstraram inclusive que o uso diário de dentifrícios com triclosan resulta no retardamento da progressão da periodontite (ROSLING *et al.*, 1997) e a prevenção da instalação da periodontite em populações jovens (ELLWOOD *et al.*, 1998). A prevenção da formação subgengival do biofilme subgengival poderia ser uma explicação para essas observações.

Portanto, o presente estudo é o primeiro a avaliar o impacto de triclosan com copolímero sobre a formação inicial do biofilme subgengival. No mesmo se conclui que a formulação de triclosan 0,3%/Copolímero 2%/Naf 0,3% retarda a formação de biofilme subgengival, por um lapso de até 72 horas nas superfícies proximais.

ANEXOS

ANEXO Nº1 – REGISTRO DO ENSAIO CLINICO

Protocol Registration Receipt
11/13/2013

Efficacy of a Triclosan Formulation to Control the Initial Subgingival Biofilm Formation

This study has been completed.

Sponsor:	Federal University of Rio Grande do Sul
Collaborators:	
Information provided by (Responsible Party):	Rui Vicente Oppermann, Federal University of Rio Grande do Sul
ClinicalTrials.gov Identifier:	

► Purpose

The aim of the study is to compare the effect of a suspension containing Triclosan in dynamic of the subgingival biofilm formation versus a Placebo suspension. The initial subgingival biofilm formation will be evaluated by means of Plaque Free Zone (PFZ).

Condition	Intervention	Phase
Chemical Plaque Control Biofilm Formation Supragingival Biofilms Subgingival Biofilms	Triclosan suspension using Placebo suspension using	N/A

Study Type: Interventional

Study Design: Prevention, Crossover Assignment, Double Blind (Subject, Investigator), Randomized, N/A

Official Title: Efficacy of a Triclosan Formulation to Control the Initial Subgingival Biofilm Formation

Further study details as provided by Rui Vicente Oppermann, Federal University of Rio Grande do Sul:

Primary Outcome Measure:

- Page 1 of 3 -

- Plaque Free Zone [Time Frame: 24 hours] [Designated as safety issue: No]

Enrollment: 28

Study Start Date: May 2013

Study Completion Date: June 2013

Primary Completion Date: June 2013

Arms	Assigned Interventions
Experimental: Test Suspension containing Triclosan	Triclosan suspension using The participants should have used only the suspension containing Triclosan during 5 days and have stopped with their biofilm control homemade procedures.
Placebo Comparator: Control Suspension without Triclosan or other active ingredient	Placebo suspension using The participants should have used only the Placebo suspension during 5 days and have stopped with their biofilm control homemade procedures.

► Eligibility

Ages Eligible for Study: 18 Years and older

Genders Eligible for Study: Both

Accepts healthy volunteers.

Inclusion Criteria:

- age from 18 years;
- non-smokers;
- have good general health;
- present at least 20 natural teeth in the mouth, including the incisors, canines and premolars without restorations, crowns, gingival recession, anatomic defects, gingivitis e/or periodontitis.

Exclusion Criteria:

- positive history of using antibiotic e/or anti-inflammatory drugs in the month previous to the initial consultation;
- positive history of allergies at using Triclosan;
- pregnant or lactating patients;
- patients in use of fixed orthodontic appliance.

► Contacts and Locations

- Page 2 of 3 -

Locations:

Brazil

Dentistry Faculty, Federal University of Rio Grande do Sul
Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil, 90035-003

Investigators

Principal Investigator:	Rui V. Oppermann, DDS, PhD	Federal University of Rio Grande do Sul
-------------------------	----------------------------	---

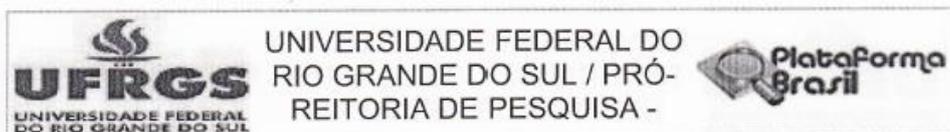
► More Information

Responsible Party: Rui Vicente Oppermann, DDS, PhD, Federal University of Rio Grande do Sul

Study ID Numbers: RVOppermann01

Health Authority: Brazil: National Committee of Ethics in Research

ANEXO Nº2 - COMITÊ DE ÉTICA PARA PESQUISA EM HUMANOS DA UFRGS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Eficácia de uma fórmula de triclosan para controle da formação inicial do biofilme subgengival

Pesquisador: Rui Vicente Oppermann

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 11657613.3.0000.5347

Instituição Proponente: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 214.539

Data da Relatoria: 07/03/2013

Apresentação do Projeto:

Vide parecer anterior.

Objetivo da Pesquisa:

Vide parecer anterior.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Vide parecer anterior.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Vide parecer anterior.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os cronogramas foram adequados e agora conferem.

Recomendações:

Considerando que a recomendação foi atendida, indico aprovação do projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Indico aprovação do projeto.

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - 2º andar do Prédio da Reitoria - Campus Centro
Bairro: Farroupilha **CEP:** 90.040-060
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3308-3738 **Fax:** (51)3308-4085 **E-mail:** etica@propeq.ufrgs.br

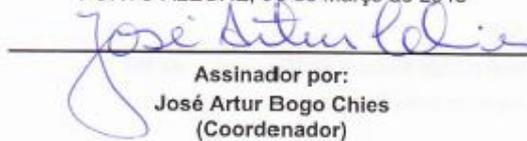
Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Encaminha-se.

PORTO ALEGRE, 08 de Março de 2013



Assinador por:
José Artur Bogo Chies
(Coordenador)

CAAE: 11657613.3.0000.5347

ANEXO Nº3 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da pesquisa

Eficácia de uma fórmula de triclosan para controle da formação precoce de biofilme bucal.

Objetivo da pesquisa

Você está sendo convidado para participar de uma pesquisa clínica de 20 (vinte) dias de duração. Esta pesquisa quer investigar se uma limpeza adequada dos dentes pode reduzir a infecção da área abaixo da gengiva, entre o dente e a gengiva. O objetivo deste documento é permitir que você entenda do que se trata esta pesquisa. Você poderá, se decidir participar, deixar a pesquisa. Nenhuma destas situações vai prejudicá-lo no que se refere ao seu tratamento dentro da Faculdade de Odontologia da UFRGS.

Por favor, leia o termo de consentimento com atenção. Você pode fazer perguntas sobre o objetivo da pesquisa, o que nós iremos lhe pedir para fazer, os possíveis riscos e benefícios, seus direitos como um voluntário, e qualquer outra coisa sobre a pesquisa ou sobre este documento que não esteja clara. Quando tivermos respondido todas as suas perguntas, você pode decidir se você quer participar do estudo ou não. Este processo é chamado "consentimento informado." Vamos dar-lhe uma cópia do formulário para seus registros.

Benefícios

Os potenciais benefícios de sua participação no estudo são saber como está sua saúde bucal (depois do exame que faremos) e ser encaminhado para tratamento se este for o seu caso. Para outras pessoas, esta pesquisa poderá trazer informações sobre substâncias que podem ser colocadas nos cremes dentais, que ajudam a ter menos placa (micróbios que grudam nos dentes) e com isso ajudar no tratamento das doenças das gengivas.

Procedimentos do estudo

Ao início do estudo, você irá à dependências da clínica sem ter escovado os dentes e sem ter usado qualquer outro procedimento de higiene oral por pelo menos doze (12) horas antes de sua visita agendada. Além disso, você não deve comer, beber ou fumar por quatro (4) horas antes de sua visita agendada. Seus dentes e gengivas serão examinados por um dentista, que usará um corante vermelho, usado como rotina para avaliar a presença de placa (micróbios que grudam nos dentes). Antes de você terminar a consulta, o dentista irá limpar e retirar todo o corante que permanecer nos seus dentes, bochechas e lábios. Você será instruído a utilizar apenas os produtos para escovar os dentes que serão fornecidos durante o estudo. Você poderá alimentar-se normalmente durante os 20 dias do estudo.

Potenciais Riscos da participação no estudo

De um modo geral, os riscos da participação do estudo são os mesmos que os pacientes têm quando realizam tratamento odontológico de rotina. Você pode sentir sensibilidade nos dentes com uso de água fria ou alimento doce, e pode sentir seus dentes ásperos em algumas etapas do estudo. Pode haver alguma irritação da sua boca com o uso das pastas de dentes em questão, o que é raro porque estas pastas de dentes são vendidas nos supermercados nos dias de hoje. Os dentes sensíveis podem ser tratados com substâncias que o dentista aplica nos seus dentes, os dentes ásperos serão limpos e polidos ao final do estudo e se você tiver irritação da sua boca, o uso dos produtos será suspenso. Sempre que você achar que há alguma coisa de diferente com sua boca durante o estudo, você deve ligar para o telefone 3308

5318 para receber agendamento imediato de consulta com a equipe de pesquisa. Se você tiver algum problema ou qualquer dano relacionado a pesquisa, você deverá entrar em contato com a equipe de pesquisa pelo fone 3308 5318 ou você poderá, também, entrar em contato direto com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (3308 3738).

Direito de deixar o estudo

Sua assinatura abaixo significa que você entende e concorda com o acima, e afirma que você se voluntariou a participar de sua própria vontade. Além disso, você afirma que você é maior de dezoito (18) anos de idade, mas não mais do que quarenta (40) anos de idade e não está amamentando ou grávida, e que lhe foi dada a oportunidade de fazer perguntas sobre o estudo. Você pode se retirar deste estudo a qualquer momento, sem que isso represente ao seu atendimento dentro da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. .

Confidencialidade dos registros

Os registros de sua participação neste estudo são confidenciais. Seu nome não será publicado em nenhum momento, sendo que suas fichas estarão disponíveis apenas para a equipe de pesquisa.

Autorização

Eu li e compreendi a natureza, duração e finalidade deste estudo e, se selecionado, venho voluntariamente consentir em participar. Eu entendi que uma cópia deste Termo de Consentimento Informado será dada a mim. Eu tive a oportunidade de fazer perguntas sobre todos os aspectos do estudo. Eu entendi que eu posso me retirar do estudo a qualquer momento, por qualquer motivo, sem prejuízos.

Prezado participante,

Frente a qualquer dúvida, problema, reclamações referente ao estudo, não deixe de nos comunicar (3308 5318). Você pode, também, entrar em contato direto com o Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (3308 3738).

Por esse instrumento particular, declaro, para fins de Ética e Legislação em Pesquisa, que eu _____, nascido (a) em

_____/_____/_____, portador do RG _____ (Órgão Expedidor _____), residente à _____

_____ no. _____, Bairro

_____, cidade _____, Estado _____, que eu li e entendi as

informações acima citadas e concordo em Participar da Pesquisa **"Eficácia de uma fórmula**

de triclosan para controle da formação inicial de biofilme subgingival".

_____, ____ de ____ de 20____

Assinatura do voluntário _____

Assinatura do pesquisador _____

ANEXO N° 4 – CARTAZ DE CHAMAMENTO

**Participação em pesquisa com uso de soluções para bochecho
(Faculdade de Odontologia da UFRGS)**

Convidamos pacientes entre 18 e 40 anos para participar de estudo para testar
diferentes soluções para bochecho.

Se você gostaria de participar deste estudo, por favor, faça contato:

Local: sala 106 (ambulatório A - porta verde - com Sra. Adriana)

Horário: 2ª a 6ª feira – 8:30- 12:00 e 14:00 – 17:30

Telefone: 3308 5318

ANEXO Nº 5 - FICHA CLÍNICA DA FACULDADE DE ODONTOLÓGIA DA UFRGS

UFRGS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLÓGIA
DISCIPLINA DE CLÍNICA ODONTOLÓGICA

Paciente: _____ Data de nascimento: ____/____/____
 Endereço: _____
 Telefone de contato: ____/____/____

ENTREVISTA DIALOGADA
 Queixa principal: _____

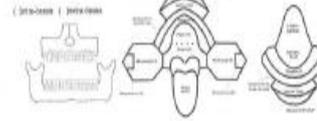
Histórico Médico Anterior: _____

História Sôcio-Odontológica: _____

Hábitos relacionados à saúde bucal: _____

EXAME FÍSICO
 Lesão(ões) intradentária(is) de tecido(s) mole(s) () / endurecido(s) () / próspero(s)

Descrição das lesões



Lesão	L1	L2	L3
Tamano (cm)			
Lesão			
Fundamental			
Cor			
Consistência			
Síntese			
Duração			
Tratamento prévio			
Diagnóstico clínico			
Controle			
Episódios anteriores	sim	não	sem
	sim	não	sem

Observações: _____

Avaliação Inicial do Controle de Placa Supragingival

Índice de Placa ____/____ ISL = ____ IPV = ____

8	7	6	5	4	3	2	1	2	3	4	5	6	7	8

Índice de Sangramento Gingival ____/____ ISG = ____

8	7	6	5	4	3	2	1	2	3	4	5	6	7	8

Avaliação Intermediária do Controle de Placa Supragingival

Índice de Placa ____/____ ISL = ____ IPV = ____

8	7	6	5	4	3	2	1	2	3	4	5	6	7	8

Índice de Sangramento Gingival ____/____ ISG = ____

8	7	6	5	4	3	2	1	2	3	4	5	6	7	8

Avaliação Periodontal Inicial

Investigação periodontal Data: ____/____/____

Site	PI1	PI2	PI3	PI4	PI5	PI6	PI7	PI8	PI9	PI10	PI11	PI12	PI13	PI14	PI15	PI16	PI17	PI18	PI19	PI20	
PI1																					
PI2																					
PI3																					
PI4																					
PI5																					
PI6																					
PI7																					
PI8																					
PI9																					
PI10																					
PI11																					
PI12																					
PI13																					
PI14																					
PI15																					
PI16																					
PI17																					
PI18																					
PI19																					
PI20																					

Avaliação Periodontal Intermediária

Investigação periodontal Data: ____/____/____

Site	PI1	PI2	PI3	PI4	PI5	PI6	PI7	PI8	PI9	PI10	PI11	PI12	PI13	PI14	PI15	PI16	PI17	PI18	PI19	PI20	
PI1																					
PI2																					
PI3																					
PI4																					
PI5																					
PI6																					
PI7																					
PI8																					
PI9																					
PI10																					
PI11																					
PI12																					
PI13																					
PI14																					
PI15																					
PI16																					
PI17																					
PI18																					
PI19																					
PI20																					

ANEXO Nº 6 - FORMULÁRIO DE SELEÇÃO INICIAL

Número do paciente _____ Iniciais do paciente: _____ Sexo: _____ Idade: _____

1. O indivíduo tem entre 18 e 40 anos? SIM ___ NÃO ___
2. O indivíduo está disponível durante 20 dias? SIM ___ NÃO ___
3. O indivíduo está com boa saúde geral ? SIM ___ NÃO ___
4. O indivíduo possui 20 dentes presentes em boca? SIM ___ NÃO ___
5. O indivíduo assinou o termo de consentimento? SIM ___ NÃO ___

Se a resposta a qualquer das questões 1-5 for NÃO, o indivíduo é inelegível para a pesquisa clínica. O indivíduo não deve ser incluído e somente a questão 16 deve ser respondida. Se o indivíduo é elegível, continuar as questões 8-18.

6. O indivíduo utiliza prótese parcial removível? SIM ___ NÃO ___
7. O indivíduo possui tumor de tecido mole ou duro na cavidade bucal? SIM ___ NÃO ___
8. O indivíduo tem periodontite? SIM ___ NÃO ___
9. O indivíduo fez uso de antibiótico no último mês? SIM ___ NÃO ___
10. O indivíduo está grávida ou amamentando? SIM ___ NÃO ___
11. O indivíduo está participando no momento de algum outro estudo clínico ou participou de algum nos últimos meses? SIM ___ NÃO ___
12. O indivíduo recebeu profilaxia dental nas últimas duas semanas? SIM ___ NÃO ___
13. O indivíduo usa aparelho ortodôntico? SIM ___ NÃO ___
14. O indivíduo tem história de alergias a produtos de higiene pessoal ou bucal, ou a seus ingredientes, incluindo zinco? SIM ___ NÃO ___
15. O indivíduo possui alguma condição médica que o impeça de ficar sem comer ou beber por períodos de até 4 horas? SIM ___ NÃO ___

Se a resposta a quaisquer das questões 6-15 for SIM, o indivíduo é inelegível para o estudo. O sujeito não deve ser incluído e a questão 19 preenchida adequadamente.

16. O INDIVÍDUO É ELEGÍVEL PARA PARTICIPAR DO ESTUDO? SIM ___ NÃO ___

ASSINATURA DO DENTISTA EXAMINADOR _____ DATA: _____

**ANEXO Nº 7 - FORMULÁRIO DE AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO INICIAL DO BIOFILME
SUBGENGIVAL (ZONA LIVRE DE PLACA)**

Paciente: _____ Data: _____ () P1 () P2

AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO INICIAL DO BIOFILME SUBGENGIVAL

Dente	24 horas			48 horas			72 horas			96 horas			120 horas		
	DV	V	MV	DV	V	MV									
14															
13															
12															
11															
21															
22															
23															
24															

ANEXO N° 8 - FORMULÁRIO PARA O REGISTRO DE EVENTOS ADVERSOS

Indivíduo (número no estudo e iniciais):	
Descrição do EA	
Data de início	
Medidas adotadas	
Data de resolução	
Resultado	
Gravidade	
Severidade	
Relacionamento com a medicação em estudo	
Cuidados fornecidos ao participante	

BIBLIOGRAFÍA

A BASCONES MARTINEZ, M. M. S.; PEREZ, E. Y P. Antisépticos en el tratamiento de la enfermedad periodontal. *Av Periodon Implantol.*, v. 14, n. 3, p. 101 – 114, 2002.

ADDY, M.; JENKINS, S.; NEWCOMBE, R. *The effect of triclosan, stannous fluoride and chlorhexidine products on: (I) Plaque regrowth over a 4-day period. Journal of Clinical Periodontology.* [S.l: s.n.], 1990.

ALBANDAR, J. M.; BRUNELLE, J. A.; KINGMAN, A. Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. *The Journal of periodontology*, v. 70, p. 13–29, 1999.

ARANCIBIA, R. *et al.* Triclosan inhibits tumor necrosis factor-alpha-stimulated urokinase production in human gingival fibroblasts. *Journal of Periodontal Research*, v. 44, n. 6, p. 726–735, 2009.

ARAÚJO, C. S. DE *et al.* Use of dental services and associated factors: a population-based study in southern Brazil. *Cadernos de saude publica Ministerio da Saude Fundacao Oswaldo Cruz Escola Nacional de Saude Publica*, v. 25, p. 1063–1072, 2009.

ARMITAGE, G. C. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of periodontology the American Academy of Periodontology*, v. 79, p. 1–6, 1999.

ARWEILER, N. B. *et al.* *Substantivity of toothpaste slurries and their effect on reestablishment of the dental biofilm. Journal of Clinical Periodontology.* [S.l: s.n.], 2002.

BARKVOLL, P.; RØLLA, G. Triclosan protects the skin against dermatitis caused by sodium lauryl sulphate exposure. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 21, p. 717–719, 1994.

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*, v. 37, n. 9, p. 829–839, 2010.

BERGSTRÖM, J. Photogrammetric registration of dental plaque accumulation in vivo. *Acta Odontologica Scandinavica*, v. 39, n. 5, p. 275–284, 1981.

BINNEY, A. *et al.* *A comparison of triclosan and stannous fluoride toothpastes for inhibition of plaque regrowth. A crossover study designed to assess carry over. Journal of Clinical Periodontology.* [S.l: s.n.], 1997.

- CAIFANG CAO, YUEQUIN SHA, H. M. AND J. K. a four-day study to evaluate the anti-plaque efficacy of an experimental triclosan-containing dentifrice. *J Clin Dent*. 2001;12(4):87-91, v. 12, n. 4, p. 87 – 91, 2001.
- CIANCIO, S. G. Controlling biofilm with evidence-based dentifrices. *Compendium of continuing education in dentistry Jamesburg NJ 1995*, v. 32, p. 70–76, 2011.
- COLUSSI, P. R. G. *et al.* Consumption of toothpaste and associated factors in a Brazilian population group. *Cadernos de saude publica Ministerio da Saude Fundacao Oswaldo Cruz Escola Nacional de Saude Publica*, v. 27, n. 3, p. 546–554, 2011.
- CUMMINS, D. Zinc citrate/Triclosan: a new anti-plaque system for the control of plaque and the prevention of gingivitis: short-term clinical and mode of action studies. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 18, n. 6, p. 455–461, 1991.
- DAVIES R, S. C. & P. A. Dentifrices - an Update. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, v. 15, n. 6, p. e976 – 82, 2010.
- DAVIES, R. M. The clinical efficacy of triclosan/copolymer and other common therapeutic approaches to periodontal health. *Clinical microbiology and infection the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, v. 13 Suppl 4, p. 25–29, 2007.
- DAVIES, R. M.; ELLWOOD, R. P.; DAVIES, G. M. The effectiveness of a toothpaste containing triclosan and polyvinyl-methyl ether maleic acid copolymer in improving plaque control and gingival health: a systematic review. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 31, p. 1029–1033, 2004.
- DONLAN, R. M.; COSTERTON, J. W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 15, n. 2, p. 167–193, 2002.
- DRISKO, C. L. Periodontal self-care: evidence-based support. *Periodontology 2000*, v. 62, p. 243–55, 2013.
- ELLWOOD, R. P. *et al.* Effect of a triclosan/copolymer dentifrice on the incidence of periodontal attachment loss in adolescents. *Journal of Clinical Periodontology*. [S.l: s.n.], 1998.
- ESPINOZA SANTANDER I, MUÑOZ POBLETE C, LARA MOLINA M, U. C. J. Hábitos de Higiene Oral en Estudiantes de Odontología de la Universidad de Chile. *Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabíl. Oral .*, v. 3, n. 1, p. 11 – 18, 2010.
- FINE, D. H. *et al.* The antimicrobial effect of a triclosan/copolymer dentifrice on oral microorganisms in vivo. *Journal of the American Dental Association 1939*, v. 137, n. 10, p. 1406–1413, 2006.

FINE, D. H. *et al.* Whole mouth antimicrobial effects after oral hygiene: comparison of three dentifrice formulations. *Journal of clinical periodontology*, v. 39, p. 1056–64, 2012.

FURUICHI Y, ROSLING B, VOLPE AR, L. J. The effect of a triclosan/copolymer dentifrice on healing after non-surgical treatment of recurrent periodontitis. *J Clin Periodontol*, v. 26, p. 63–66, 1999.

FURUICHI, Y. *et al.* Patterns of de novo plaque formation in the human dentition. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 19, p. 423–433, 1992.

GILBERT, P.; MCBAIN, A.; SREENIVASAN, P. Common therapeutic approaches for the control of oral biofilms: microbiological safety and efficacy. *Clinical microbiology and infection the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, v. 13 Suppl 4, p. 17–24, 2007.

GILBERT, R. J.; WILLIAMS, P. E. The oral retention and antiplaque efficacy of triclosan in human volunteers. *British Journal of Clinical Pharmacology*, v. 23, p. 579–583, 1987.

GUNSOLLEY, J. C. A meta-analysis of six-month studies of antiplaque and antigingivitis agents. *Journal of the American Dental Association* 1939, v. 137, n. 12, p. 1649–1657, 2006.

HAAS AN, GAIO EJ, OPPERMAN RV, RÖSING CK, ALBANDAR JM, S. C. Pattern and rate of progression of periodontal attachment loss in an urban population of South Brazil: a 5-years population-based prospective study. *J Clin Periodontol*, v. 39, n. 1, p. 1–9, 2012.

HEATH, R. J. *et al.* Mechanism of triclosan inhibition of bacterial fatty acid synthesis. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 274, p. 11110–4, 1999.

HIOE, K. P. K. J.; VAN DER WEIJDEN, G. A. The effectiveness of self-performed mechanical plaque control with triclosan containing dentifrices. *International Journal of Dental Hygiene*, v. 3, p. 192–204, 2005.

JAKUBOVICS, N. S.; KOLENBRANDER, P. E. The road to ruin: the formation of disease-associated oral biofilms. *Oral Diseases*, v. 16, n. 8, p. 729–739, 2010.

JENKINS, S.; ADDY, M.; NEWCOMBE, R. Studies on the effect of toothpaste rinses on plaque regrowth. (II). Triclosan with and without zinc citrate formulations. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 16, p. 385–387, 1989.

JOHNSON, N. W. Hygiene and health: the value of antiplaque agents in promoting oral health. *International Dental Journal*, v. 43, p. 375–386, 1993.

JONES, C. G. Chlorhexidine: is it still the gold standard? *Periodontology 2000*, v. 15, p. 55–62, 1997.

KANCHANAKAMOL, U. *et al.* Reduction of plaque formation and gingivitis by a dentifrice containing triclosan and copolymer. *The Journal of periodontology*. [S.l: s.n.], 1995.

KJAERHEIM, V. *et al.* Triclosan inhibits histamine-induced inflammation in human skin. *Journal of Clinical Periodontology*. [S.l: s.n.], 1995.

LAMONT, M. K. & R. J. Subgingival biofilm formation. *Periodontology 2000*, v. 52, p. 38–52, 2010.

LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*, v. 33, p. 159–174, 1977.

LANG NP, CUMMING BR, L. H. Toothbrushing frequency as it relates to plaque development and gingival health. *J Periodontol*, v. 44, n. 7, p. 396 – 405, 1973.

LINDHE, J. *et al.* The effect of a triclosan-containing dentifrice on established plaque and gingivitis. *Journal of Clinical Periodontology*. [S.l.]: Blackwell Publishing Ltd, 1993.

LÖE H, THEILADE E, J. B. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol*, 1965.

M. ADDY, L. WI. AND J. M. effect of toothpaste rinses compared with chlorhexidine on plaque formation during 4-day period. *J Clin Periodontol*, v. 10, p. 89 – 99, 1983.

MALISKA, A. N. *et al.* Measuring early plaque formation clinically. *Oral health preventive dentistry*, v. 4, p. 273–278, 2006.

MANKODI S, CHAKNIS P, PANAGAKOS FS, DEVIZIO W, P. H. Comparative investigation of a dentifrice containing triclosan/copolymer/sodium fluoride and specially-designed silica and a dentifrice containing 0.243% sodium fluoride in a silica base for the control of established supra-gingival plaque and gingivitis: *Am J Dent.*, v. 24, p. 21–27, 2011.

MARSH, P. D. Dentifrices containing new agents for the control of plaque and gingivitis: microbiological aspects. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 18, p. 462–467, 1991.

MARSH, P. D.; BRADSHAW, D. J. Microbiological effects of new agents in dentifrices for plaque control. *International Dental Journal*, v. 43, p. 399–406, 1993.

MODÉER, T.; BENGTSSON, A.; RÖLLA, G. Triclosan reduces prostaglandin biosynthesis in human gingival fibroblasts challenged with interleukin-1 in vitro. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 23, n. 10, p. 927–933, 1996.

MORRIS, A. J.; STEELE, J.; WHITE, D. A. The oral cleanliness and periodontal health of UK adults in 1998. *British Dental Journal*, v. 191, p. 186–192, 2001.

MUSTAFA, M. *et al.* Triclosan reduces microsomal prostaglandin E synthase-1 expression in human gingival fibroblasts. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 32, p. 6–11, 2005.

- OPPERMANN, R. V. *et al.* Proposal for the teaching of the chemical control of supragingival biofilm. *Brazilian oral research*, v. 24 Suppl 1, p. 33–36, 2010.
- PAGE, R. C. *et al.* Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontology 2000*, v. 14, p. 216–248, 1997.
- PARASKEVAS, S. Randomized controlled clinical trials on agents used for chemical plaque control. *International Journal of Dental Hygiene*, v. 3, p. 162–178, 2005.
- QUIRYNEN, M. *et al.* The intra-oral translocation of periodontopathogens jeopardises the outcome of periodontal therapy. A review of the literature. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 28, p. 499–507, 2001.
- QUIRYNEN, M.; VAN STEENBERGHE, D. Is early plaque growth rate constant with time? *Journal of Clinical Periodontology*, v. 16, p. 278–283, 1989.
- RAMBERG P, FURUICHI Y, SHERL D, VOLPE AR, NABI N, GAFFAR A, L. J. The effect of triclosan on developing gingivitis. *J Clin Periodontol.*, v. 22, p. 442–448, 1995.
- RAMBERG, P.; AXELSSON, P.; LINDHE, J. *Plaque formation at healthy and inflamed gingival sites in young individuals. Journal of Clinical Periodontology.* [S.l: s.n.], 1995.
- RENVERT, S.; BIRKHED, D. *Comparison between 3 triclosan dentifrices on plaque, gingivitis and salivary microflora. Journal of Clinical Periodontology.* [S.l: s.n.], 1995.
- RODE, S. D. M. *et al.* Daily biofilm control and oral health: consensus on the epidemiological challenge - Latin American Advisory Panel. *Brazilian oral research*, v. 26 Suppl 1, p. 133–43, 2012.
- ROSLING, B. *et al.* *The use of a triclosan/copolymer dentifrice may retard the progression of periodontitis. Journal of Clinical Periodontology.* [S.l: s.n.], 1997.
- SAXTON, C. A. *The effects of a dentifrice containing zinc citrate and 2,4,4' trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether. The Journal of periodontology.* [S.l: s.n.], 1986.
- SAXTON, C. A.; HUNTINGTON, E.; CUMMINS, D. *The effect of dentifrices containing Triclosan on the development of gingivitis in a 21-day experimental gingivitis study. International Dental Journal.* [S.l: s.n.], 1993.
- SAXTON, C. A.; SVATUN, B.; LLOYD, A. M. Antiplaque effects and mode of action of a combination of zinc citrate and a nonionic antimicrobial agent. *Scandinavian Journal Of Dental Research*, v. 96, n. 3, p. 212–217, 1988.
- SBORDONE, L.; BORTOLAIA, C. Oral microbial biofilms and plaque-related diseases: microbial communities and their role in the shift from oral health to disease. *Clinical Oral Investigations*, v. 7, p. 181–188, 2003.

SILNESS, J. AND LÖE, H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta. Odont. Scan.*, v. 22, p. 112 – 135, 1964.

SÖDER B, JOHANNSEN A, L. F. Percent of plaque on individual tooth surfaces and differences in plaque area between adjacent teeth in healthy adults. *Int J Dent Hygiene*, v. 1, p. 23 – 28, 2003.

SUSIN, C. *et al.* Periodontal attachment loss in an urban population of Brazilian adults: effect of demographic, behavioral, and environmental risk indicators. *The Journal of periodontology*, v. 75, n. 7, p. 1033–1041, 2004.

SUSIN, C. *et al.* Tooth loss and associated risk indicators in an adult urban population from south Brazil. *Acta Odontologica Scandinavica*, v. 63, n. 2, p. 85–93, 2005.

TAKEYOSHI, N. T. Y K. Origen microbiano de la periodontitis. *Periodontology 2000 (Ed. Esp)*, v. 11, p. 14–26, 2005.

TATAKIS, D. N.; TROMBELLI, L. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. I. Background review and rationale. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 31, n. 4, p. 229–238, 2004.

TELES, R. P.; TELES, F. R. F. Antimicrobial agents used in the control of periodontal biofilms: effective adjuncts to mechanical plaque control? *Brazilian oral research*, v. 23 Suppl 1, p. 39–48, 2009.

TONETTI, M. S.; CHAPPLE, I. L. C. Biological approaches to the development of novel periodontal therapies--consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. 2011, [S.l: s.n.], 2011. p. 114–118.

TURESKY, S., GILMORE, N. D., GLICKMAN, I. reduced plaque formation by the chloromethyl analogue of vitamin c. *J Periodontol*, v. 41, p. 41–43, 1970.

VAN DER WEIJDEN, G. A.; HIOE, K. P. K. A systematic review of the effectiveness of self-performed mechanical plaque removal in adults with gingivitis using a manual toothbrush. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 32 Suppl 6, p. 214–228, 2005.

VAN STRYDONCK, D. A. C. *et al.* Effect of a chlorhexidine mouthrinse on plaque, gingival inflammation and staining in gingivitis patients: a systematic review. *Journal of clinical periodontology*, v. 39, n. 11, p. 1042–1055, 2012.

WEIDLICH, P.; LOPES DE SOUZA, M. A.; OPPERMAN, R. V. Evaluation of the dentogingival area during early plaque formation. *Journal Of Periodontology*, v. 72, p. 901–910, 2001.

WILSON, T. G. How patient compliance to suggested oral hygiene and maintenance affect periodontal therapy. *Dental Clinics Of North America*, v. 42, p. 389–403, 1998.

ZAMBON, J. J. *et al.* *Microbial alterations in supragingival dental plaque in response to a triclosan-containing dentifrice.* *Oral Microbiology and Immunology.* [S.l: s.n.], 1995.