

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA  
ÊNFASE EM PERIODONTIA

**PATRICIA DANIELA MELCHORS ANGST**

**EFEITO DO CONTROLE SUPRAGENGIVAL EM COMPARAÇÃO AO  
CONTROLE COMBINADO SUPRA E SUBGENGIVAL DURANTE A FASE DE  
MANUTENÇÃO PERIÓDICA PREVENTIVA: RESULTADOS  
MICROBIOLÓGICOS**

PORTO ALEGRE, RS

2015

PATRICIA DANIELA MELCHORS ANGST

**EFEITO DO CONTROLE SUPRAGENGIVAL EM COMPARAÇÃO AO  
CONTROLE COMBINADO SUPRA E SUBGENGIVAL DURANTE A FASE DE  
MANUTENÇÃO PERIÓDICA PREVENTIVA: RESULTADOS  
MICROBIOLÓGICOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como pré-requisito final para a obtenção do título de Doutor em Clínica Odontológica, ênfase em Periodontia.

Linha de Pesquisa: Biomateriais e técnicas terapêuticas em Odontologia.

Orientador (a): Profa. Dra. Sabrina Carvalho Gomes

PORTO ALEGRE, RS

2015

### CIP - Catalogação na Publicação

Angst, Patrícia Daniela Melchiors

Efeito do controle supragengival em comparação ao controle combinado supra e subgengival durante a fase de manutenção periódica preventiva: resultados microbiológicos / Patrícia Daniela Melchiors Angst. -- 2015.

76 f.

Orientadora: Sabrina Carvalho Gomes.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. Periodontia. 2. Manutenção Periodontal. 3. Microbiologia. 4. Ensaio clínico randomizado. I. Gomes, Sabrina Carvalho, orient. II. Título.

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

PATRICIA DANIELA MELCHIORS ANGST

PATRICIA DANIELA MELCHORS ANGST

**EFEITO DO CONTROLE SUPRAGENGIVAL EM COMPARAÇÃO AO  
CONTROLE COMBINADO SUPRA E SUBGENGIVAL DURANTE A FASE DE  
MANUTENÇÃO PERIÓDICA PREVENTIVA: RESULTADOS  
MICROBIOLÓGICOS**

Tese aprovada como pré-requisito final para a obtenção do título de Doutor em Clínica Odontológica, ênfase em Periodontia, no Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela banca examinadora formada por:

Profª. Dra. Sabrina Carvalho Gomes (orientadora)

Profª. Dra. Karla Zanini Kantorski, UFSM, RS

Prof. Dr. Rui Vicente Oppermann, UFRGS, RS

Profª. Dra. Marilene Issa Fernandes, UFRGS, RS

Prof. Dr. Carlos Heitor Cunha Moreira, UFSM, RS (suplente)

Porto Alegre, 16 de Julho de 2015.

## DEDICATÓRIA

... Dedico este trabalho aos meus pais,  
Ceci e Carmo, por serem meus melhores  
exemplos e maiores incentivadores.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por sempre ter conduzido minha vida pelos e aos melhores caminhos.

*“Peça a Deus que abençoe os seus planos, e eles darão certo.”*

Provérbios 16: 3

Aos meus pais, Carmo e Ceci, por serem tudo para mim. Obrigada por estarem incondicionalmente ao meu lado, pelo incentivo, pelos melhores exemplos, pela nossa família. A vocês, meu amor maior e gratidão, para sempre.

Às minhas irmãs, Débora e Valéria, minhas metades. Obrigada por me trazerem o riso e por serem ouvido e coração sempre que precisei. Amo muito vocês.

À minha sobrinha, e afilhada, Manuela. Por renovar a cada sorriso a nossa alegria e esperança. A dinda te ama.

Aos meus avós, em especial, à vovó Valéria, que teve grande importância em minha, e que hoje são meus anjos lá no céu. E ao tio Luís, por mostrar-me a simplicidade da vida.

*“Carrego seu coração comigo*

*Eu o carrego no meu coração*

*Nunca estou sem ele*

*Onde eu for, você vai (...).”*

E. E. Cummings

À minha orientadora, profa. Sabrina, por incontáveis motivos. Pelo aprendizado, pela paciência, pelas oportunidades, pelo exemplo, pelo incentivo, pela confiança, pelo bem-querer, pela amizade. Durante todo este período, agradeço especialmente por acreditar em mim e pelos vários momentos compartilhados de alegria. De coração, muito obrigada!

Às minhas parceiras e amigas de pesquisa: Amanda, Marina, Juliane, Viviane, e Keity. Gurias, conseguimos! O caminho foi longo, e nem sempre fácil, mas o nosso apoio mútuo

com certeza foi a base de tudo. Muito obrigada! Mais do que os resultados deste estudo, levo para a vida a amizade e o carinho de vocês. Contem sempre comigo.

Às alunas, que durante a graduação, fizeram sua iniciação científica nesta pesquisa. Agradeço pela ajuda e parceria. E, em lembrança especial, à Lauane, que nos deixou tão cedo, mas que até hoje é lembrada com muito carinho e saudade.

A todos meus amados amigos, que me são tão preciosos. Àqueles da infância, de longa data. Àqueles que a Odontologia me deu. A amizade de vocês faz parte do que sou hoje, e de vocês não abro mão.

À Ane, Aline, Carol, Gabi, Nathi, Luísa, Dai e Tá. Minhas melhores amigas. Desde 2004. Amadas, sei que posso contar com vocês para tudo. Apesar da distância, nossa amizade só se fortalece. A cada encontro tenho mais certeza de que as terei sempre em minha vida. Em especial, agradeço às minhas loiras Ane e Tá, que tão bem me entendem nos sonhos aspirados. E, à Gabi, minha Xami, pela parceria e incentivo na periodontia desde o início. Amo amo amo todas! Obrigada obrigada obrigada!

À minha prima Janaine, e agora à sua família, por tantas vezes me acolher e me fazer sair um pouco do mundo odontológico.

Aos meus colegas de doutorado. Àqueles que compartilharam a Periodontia comigo. À Adriana, a “Adri da Perio”, excelente profissional. E, em especial, às minhas colegas-amigas Amanda, Bruna, Cristiane, Dai B, e Dai C. Faltam palavras para descrever a importância de vocês durante esses 4 anos... saibam que todo carinho é verdadeiro. E espero que venham ainda muitos almoços de domingo, encontros, altos papos, desabafos, e cada vez menos despedidas. Obrigada!

*“Mas é delicioso que eu saiba e sinta que os adoro, embora não declare e não os procure sempre. E às vezes, quando os procuro, noto que eles não têm noção de como me são necessários, de como são indispensáveis ao meu equilíbrio vital, porque eles fazem parte do mundo que eu, tremulamente, construí e se tornaram alicerces do meu encanto pela vida.”*

Paulo Sant’Ana

Aos professores deste PPG, pelo ensino. Agradeço, principalmente, a todos os professores da Periodontia. Vocês, meus mestres, serão sempre exemplos de profissionais dedicados e competentes. Obrigada por cada momento de aprendizado e também de descontração.

Ao professor Cristiano Susin, pela oportunidade do período sanduíche nos EUA. Esta experiência foi incrível e inesquecível, e abriu um mundo de boas perspectivas e ansiedades. Obrigada também pela orientação e ajuda na análise estatística desta tese.

Aos meus professores de periodontia durante a graduação, na UFSM, por terem feito nascer em mim a paixão pela pesquisa e ensino em Periodontia.

Aos professores Clarissa Parolo e Francisco Montagner, e à técnica de laboratório Luiza Mercado pelos ensinamentos e auxílio na área de microbiologia, e pela disponibilidade e acolhimento.

Aos laboratórios de Microbiologia Molecular e Patologia Bucal desta instituição, por disponibilizar suas dependências para a execução da análise microbiológica.

À Faculdade de Odontologia da UFRGS e ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia pela oportunidade de realizar o sonho do doutorado.

Aos órgãos de fomento Capes, PROPESq – UFRGS, e CNPq pelo auxílio financeiro na forma de concessão das bolsas de doutorado e PDSE, bem como em recursos para a condução deste estudo.

A todos os pacientes que aceitaram participar da pesquisa. Obrigada pela confiança depositada e pela colaboração.

A todos os demais que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

*“Se você pode sonhar,  
...você pode fazer.”*  
Walt Disney

## RESUMO

### **Efeito do controle supragengival em comparação ao controle combinado supra e subgengival durante a fase de manutenção periódica preventiva: resultados microbiológicos**

**Objetivos:** Comparar o efeito do controle estrito do biofilme supragengival (SUPRA), em comparação ao controle combinado dos biofilmes supra e subgengival (SUPRA+SUB), na microbiota subgengival de pacientes durante a fase de manutenção periódica preventiva (MPP), ao longo de 1 ano. **Materiais e métodos:** Sessenta e dois pacientes com periodontite moderada ou avançada (idade média  $50.97 \pm 9.26$  anos, 40 mulheres, 24 fumantes) foram tratados de acordo com um protocolo não-cirúrgico. Finalizada a fase terapêutica, os pacientes iniciaram a fase de MPP e foram randomicamente alocados para receber a intervenção SUPRA ou SUPRA+SUB. Exames periodontais, instruções de higiene bucal, e as respectivas intervenções (SUPRA ou SUPRA+SUB) foram realizados em consultas trimestrais. Biofilme subgengival foi coletado ao *baseline*, 3, 6 e 12 meses. Técnica de PCR em Tempo Real foi utilizada para quantificar as espécies bacterianas *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), *Treponema denticola* (*Td*), *Tannerella forsythia* (*Tf*), e o domínio Eubacteria (*Bactérias totais*). Equações de estimação generalizadas foram usadas para se estimar os efeitos dos tratamentos considerando-se a avaliação longitudinal. **Resultados:** Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos para as contagens de *Pg*, *Td*, *Tf*, e *Bactérias totais* ao longo de 1 ano. Contudo, a partir dos 3 meses, as contagens de *Pg* e *Tf* aumentaram significativamente em ambos os grupos. As contagens de *Bactérias totais* e *Td* foram mantidas longitudinalmente. Por outro lado, as contagens médias das espécies bacterianas alvo permaneceram em baixos níveis ( $\leq 10^3$ ) durante todo o estudo. Paralelamente, os parâmetros clínicos foram mantidos sem alterações significativas. **Conclusões:** As intervenções de manutenção investigadas produziram resultados microbiológicos semelhantes ao longo do tempo, o que demonstra o grande e importante impacto do controle do biofilme supragengival durante a fase de MPP.

**Palavras-chave:** Ensaio clínico randomizado. Manutenção periódica. Microbiologia. Periodontite.

## ABSTRACT

### **Effect of supragingival intervention in comparison with combined supra and subgingival intervention during periodontal maintenance phase: microbiological results**

**Aim:** Compare the effects of supragingival scaling alone (SPG) against the combined supra and subgingival scaling (SPG+SBG), on subgingival microbiota from patients during periodontal maintenance period (PMP), along 1 year. **Material and Methods:** Sixty-two patients with moderate or severe periodontitis (mean age  $50.97 \pm 9.26$ , 40 females, 24 smokers) were treated according to a non-surgical protocol. Ended the therapy phase, they entered a PMP and were randomly allocated to receive SPG or SPG+SBG interventions. Periodontal exams, oral hygiene instructions, and the respective intervention (SPG or SPG+SBG) were performed at quarterly appointments. Subgingival biofilm was sampled at baseline, 3, 6 and 12 months. Real-time PCR technique was used to quantify the bacteria species *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), *Treponema denticola* (*Td*), *Tannerella forsythia* (*Tf*), and Eubacteria domain (*Total bacteria*). Generalized estimating equations were used to estimate treatment effects while accounting for longitudinal evaluation. **Results:** No significant inter-groups differences were observed to *Pg*, *Td*, *Tf*, and *Total bacteria* counts over 1 year. However, from 3 months onward, *Pg* and *Tf* counts increased significantly in both groups. *Total bacteria* and *Td* counts were maintained overtime. Still, the mean counts of target bacteria species remained at low levels ( $\leq 10^3$ ) throughout the study. In parallel, the clinical parameters were maintained without significant changes. **Conclusions:** The PMP interventions yielded similar microbiological results along time, demonstrating the great impact and importance of supragingival biofilm control during PMP.

**Key words:** Long-term care. Microbiology. Periodontitis. Randomized controlled trial.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	11
2 REVISÃO DA LITERATURA .....	13
3 OBJETIVOS .....	36
3.1 Objetivo Geral.....	36
3.2 Objetivos Específicos .....	36
4 ARTIGO CIENTÍFICO .....	37
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	67
REFERÊNCIAS.....	71
ANEXOS .....	75

## 1 INTRODUÇÃO

Contemporaneamente, a intervenção periodontal não-cirúrgica, baseada no controle do biofilme supragengival associado à raspagem e alisamento radicular, tem sido considerada como o tratamento de escolha para as periodontites (ADRIAENS; ADRIAENS, 2004). Por outro lado, a literatura tem demonstrado que o insucesso de qualquer terapia subgengival bem realizada pode estar associado à ausência de um adequado controle do biofilme supragengival pelo binômio paciente-profissional (NYMAN; LINDHE; ROSLING, 1977; RAMFJORD et al., 1982; BECKER; BECKER; BERG, 1984; LINDHE; NYMAN, 1984; AXELSSON; NYSTRÖM; LINDHE, 2004). Portanto, os pacientes periodontais tratados devem ser encaminhados e motivados a participar de um protocolo de Manutenção Periódica Preventiva (MPP) (SANZ et al., 2015; TONETTI et al., 2015a; 2015b).

A MPP pode ser definida como “procedimentos realizados em intervalos selecionados para ajudar o indivíduo a manter sua saúde bucal. Fazendo parte da terapia periodontal, um intervalo estabelecido para cuidados periodontais periódicos...”. Neste sentido, a fase e os procedimentos realizados durante a MPP tem com principais objetivos: 1) prevenir a recorrência e progressão da doença periodontal em pacientes previamente tratados; 2) prevenir ou reduzir a incidência de perda dentária nesses pacientes; e 3) auxiliar no diagnóstico precoce e tratamento, em tempo adequado, de outras doenças e condições encontradas na cavidade oral (COHEN et al., 2003; RENVERT; PERSSON, 2004).

Entretanto, o impacto que as intervenções comumente realizadas durante a fase de MPP exercem sobre os tecidos periodontais, longitudinalmente, ainda não está totalmente esclarecido. Consequentemente, até o momento, não existe um consenso a respeito de qual intervenção deve ser realizada a cada consulta de MPP para que se mantenha a saúde periodontal ao longo do tempo (SANZ; ADDY, 2002; SANZ et al., 2015). Por outro lado, os estudos disponíveis sobre esta temática têm sugerido uma ausência de diferença nos desfechos clínicos periodontais quando se compara o controle estrito do biofilme supragengival ao controle combinado dos biofilmes supra e subgengival (JENKINS et al., 2000; HEASMAN; MCCRACKEN; STEEN, 2002). A compreensão desta ausência de diferença entre as referidas terapias na fase de MPP passa pelo entendimento do papel do biofilme supragengival como modulador do ambiente subgengival. A plausibilidade desta influência é destacada por alguns autores (MARSH, 2003; 2012; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005; MARSH; MOTER; DEVINE, 2011).

De interesse, sugere-se que esta influência possa ser medida tanto por meio de exames físicos periodontais, quanto por outros exames de cunho clínico, como a análise de marcadores imuno-inflamatórios e microbiológicos. Estes últimos têm sido avaliados, com certa frequência, como um indicador importante de resposta terapêutica periodontal ou, eventualmente, até como meio de seleção da terapia a ser empregada (VAN WINKELHOFF, 2003). Neste contexto, a análise microbiológica durante a MPP, muito embora realizada, raramente foi direcionada para auxiliar na identificação de intervenções elegíveis ou preferíveis a serem realizadas nesta fase (SANZ et al., 2011). Curiosamente, existe um posicionamento recente na literatura de que investigações visando ao objeto de estudo protocolos terapêuticos na MPP devam, além de ser conduzidas de forma mais adequada, englobar indicadores outros, tais como microbiológicos, na intenção de obter uma leitura mais completa dos benefícios destas terapias (SANZ; ADDY, 2002; SANZ et al., 2011; 2015).

Assim, pelo exposto, considerou-se válida a condução de um ensaio clínico randomizado com pacientes periodontais previamente tratados, a fim de se comparar, longitudinalmente, o efeito da realização do controle estrito do biofilme supragengival em relação ao controle combinado dos biofilmes supra e subgengival, durante a fase de MPP. Por conseguinte, aqui serão apresentados os resultados referentes aos desfechos microbiológicos subgengivais dos pacientes deste ensaio clínico randomizado, durante um período 12 meses de acompanhamento.

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

A revisão da literatura será apresentada sob a forma de um artigo de revisão crítica da literatura, estando este aceito para publicação na Revista da Associação Paulista de Cirurgiões-Dentistas (Revista da APCD).

**Do controle de placa ao controle do biofilme supragengival: o que aprendemos ao longo dos anos?**

Angst PDM, Gomes SC, Oppermann RV

Revisão da literatura/Periodontia

**Do controle de placa ao controle do biofilme supragengival: o que aprendemos ao longo dos anos?**

Patrícia Daniela Melchiors Angst

Doutora em Clínica Odontológica, ênfase em Periodontia, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

Sabrina Carvalho Gomes

Doutora, Professora Adjunto do Departamento de Odontologia Conservadora da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

Rui Vicente Oppermann

Doutor, Professor Titular do Departamento de Odontologia Conservadora da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

Autor correspondente:

Prof. Dr. Rui Vicente Oppermann

Rua Ramiro Barcelos, 2492. Bairro Santana. Porto Alegre, RS, Brasil. CEP: 90035-003

Telefone/fax: +55 (51) 3308 5318

E-mail: ruioppermann@gmail.com

**Resumo**

As doenças periodontais de maior prevalência são aquelas relacionadas à presença da placa bacteriana, hoje entendida como um biofilme dental. A compreensão da dinâmica deste reacendeu antigas discussões que, desde então, buscavam determinar quais as formas elegíveis e preferíveis para o tratamento daquelas doenças. Sob o conceito de “placa dentária”, o tratamento da gengivite, mas principalmente o da periodontite, ora levaram ao extremo da tentativa de eliminação de toda e qualquer “placa”, ora conduziram ao uso, até hoje indiscriminado, de antibióticos. Atualmente, o conceito de biofilme dental, entendido como comunidades microbianas com mecanismos interdependentes de auto-regulação, nutrição e comunicação, a ponto de manterem um sinergismo que vai ao encontro da sua subsistência, alterou a forma não só de entender a etiologia das doenças periodontais, mas de como tratá-las. Neste conceito, o papel dos microrganismos não necessariamente aponta para tipos bacterianos específicos como causadores da doença, mas para as doenças periodontais como uma infecção oportunista. Paralelamente, o biofilme supragengival passou a significar mais do que o fator etiológico das gengivites, passando a ser compreendido, também, como fundamental modulador do ambiente subgengival. Neste cenário, a terapia periodontal passa por desafios inerentes a uma mudança conceitual, tais como compreender o significado do controle supragengival para a prevenção, tratamento e manutenção dos resultados terapêuticos. Portanto, esta revisão teve por objetivo apresentar a plausibilidade biológica do controle do biofilme supragengival como fundamental para a terapia periodontal e, além disto, discutir resultados de estudos sob o conceito de doença periodontal como uma infecção oportunista.

**Descritores:** placa dentária, higiene bucal, periodontite, raspagem dentária.

**Relevância clínica:** A compreensão do modelo etiopatogênico baseado no conceito da doença periodontal como uma infecção oportunista sugere o controle do biofilme supragengival como uma intervenção essencial para a prevenção, terapia e manutenção dos resultados terapêuticos, e, assim, justifica um cuidado especial para com a condição supragengival dos indivíduos ao longo do tempo.

**Title:** From plaque control to supragingival biofilm control: what have we learnt over time?

**Abstract**

The most prevalent periodontal diseases are those associated with the presence of dental plaque, nowadays understood as a dental biofilm. The comprehension of the biofilm dynamics rekindled old discussions that, since then, sought to determine the eligible and preferred therapies for periodontal diseases. Under the concept of “dental plaque”, the gingivitis treatment, and also the periodontitis one were based on the elimination of every and any plaque or of some bacteria species. The later determining the indiscriminate use of antibiotics. Currently, the biofilm concept, understood as microbial communities with interdependent mechanisms of self-regulation, nutrition and communication and involved in a synergism to render its subsistence, changed the way not only to understand the periodontal diseases etiology but, in special, the way to treat them. Under this concept, the role of microorganisms not necessarily points to specific bacteria infecting the sites and causing diseases, but to periodontal diseases as an opportunist infection linked to a retro feeding process between the dental biofilm and the host. Alongside, the supragingival biofilm has meant more than the etiologic factor of gingivitis, but also as an important modulator of subgingival environment. In this sense, the periodontal therapy is challenged by conceptual trends, such as the comprehension of the meaning of supragingival control for the prevention, treatment and maintenance of therapeutic results. Therefore, the present review aimed to revise the role of the supragingival biofilm control to periodontal condition, and, also, to discuss results of studies under the concept of periodontal diseases as opportunists infections.

**Descriptors:** biofilms, periodontal diseases, oral hygiene, dental scaling.

## Introdução

As discussões que tangem o tema controle do biofilme dental que se estabelece no ambiente supragengival não são recentes. Do ponto de vista periodontal, diversos estudos têm investigado e demonstrado o efeito positivo das intervenções de controle supragengival quando realizadas durante a fase de tratamento periodontal.<sup>1-5</sup> Ainda que de forma mais discreta, pois os estudos disponíveis não tiveram o objetivo específico de investigar o efeito do controle supragengival, este controle também tem sido implicado na manutenção dos resultados terapêuticos, durante a fase de Manutenção Periódica Preventiva (MPP).<sup>6-8</sup> No entanto, após um período de quase estagnação nas publicações relacionadas ao tema, o controle supragengival, em seus diferentes aspectos e implicações, tem recebido atenção renovada, e passa, mais uma vez, por um olhar atento, criterioso e de destaque.

Esta retomada de atenção sobre o controle supragengival pode ser observada frente às declarações oriundas do 11º Workshop Europeu em Periodontia, as quais foram publicadas por meio de uma série de artigos no *Journal of Clinical Periodontology*.<sup>9</sup> Tais publicações abordam o tema “controle supragengival” como uma intervenção ímpar e essencial durante a terapia periodontal ao declarar que “a raspagem profissional, tão profunda quanto o necessário para a remoção de todos os depósitos moles e duros, é importante para permitir o adequado controle mecânico do biofilme pelo paciente”, e que “orientações de higiene bucal, repetida e individualmente entregues aos pacientes, são o elemento chave para se alcançar a saúde gengival”.<sup>9</sup> Além disso, estes artigos alinham o controle do biofilme supragengival ao sucesso terapêutico longitudinal ao apontar que “a remoção mecânica profissional do biofilme é ineficaz, em longo prazo, quando não acompanhada por um adequado padrão de higiene bucal pelos pacientes”, e que, desta forma, “medidas educativas voltadas para a saúde bucal, baseadas em orientação, motivação e mudança de hábito, devem ser estabelecidas”.<sup>9</sup> Não obstante, existe também um posicionamento da Federação Europeia de Periodontia, após este workshop, sinalizando para a necessidade de se reascenderem as discussões sobre o controle do biofilme supragengival, principalmente durante a fase de MPP, onde o efeito deste controle permanece a ser mais bem esclarecido.<sup>10</sup>

Ainda que se reconheça a relevância e a necessidade de se incorporar o paciente periodontal tratado em um programa de manutenção periódica,<sup>6,8,11</sup> dúvidas permanecem quanto à frequência das consultas de MPP, e, especialmente, sobre quais intervenções clínicas devem ser realizadas nestas consultas a fim de se manter a saúde periodontal longitudinalmente. Questiona-se, por exemplo, a necessidade de se realizar instrumentações

subgengivais a cada consulta de MPP.<sup>7,10,12</sup> Existem, neste cenário, evidências que apontam para o controle supragengival como uma intervenção tão efetiva quanto a intervenção subgengival durante a fase de MPP, sendo este entendimento baseado e suportado pelo papel do biofilme supragengival como modulatório do ambiente subgengival.<sup>13</sup>

Frente a estas observações, a presente revisão teve, como objetivo, apresentar perspectivas contemporâneas que suportam a validade do controle do biofilme supragengival durante a terapia periodontal e na manutenção longitudinal dos resultados obtidos.

## **Revisão da Literatura**

### ***Relação entre os biofilmes supra e subgengival, e o ambiente subgengival***

A relação do biofilme supragengival com o ambiente e composição microbiológica subgengivais pode ser inicialmente verificada por estudos relacionados à formação inicial do biofilme supragengival. Este tema foi abordado por Weidlich *et al.*, em 2001, em um estudo experimental com o objetivo de analisar o padrão de formação do biofilme supragengival, durante um período de 4 dias, e clinicamente avaliar a resposta inflamatória gengival neste período.<sup>14</sup> Para tanto, seis participantes com saúde gengival foram incluídos, e avaliações do volume de Fluido Crevicular Gengival (FCG) e da Zona Livre de Placa (ZLP) foram realizadas ao *baseline* (hora 0), e em 24, 48, 72 e 96 horas após o livre acúmulo do biofilme supragengival. Os autores reportaram que 24 horas após o acúmulo de biofilme supragengival foi possível observar uma fina camada deste biofilme sobre a superfície dentária, mas que esta camada estava separada da margem gengival por uma zona livre de placa. Como o passar do tempo, porém, esta camada de biofilme passou a apresentar um crescimento em direção incisal, ao mesmo tempo que a ZLP tendeu a desaparecer. Por fim, após 96 horas, esta ZLP não pôde mais ser observada, o que, conseqüentemente, culminou com o contato do biofilme com a margem gengival. Além disso, paralelamente, pode-se verificar um aumento no volume de FCG. Frente a estes achados, os autores sugeriram que o desaparecimento da ZLP, que possibilitou o primeiro contato do biofilme supragengival com o ambiente subgengival, parece estar relacionado a dois mecanismos: 1) ao crescimento apical do biofilme através da área intra-sulcular; e/ou, mais importante e provável, 2) às alterações em direção cervical da margem gengival como parte da resposta inflamatória, ou seja, do edema. Por conseguinte, este segundo mecanismo estaria também relacionado com englobamento daquele biofilme

supragengival para um ambiente subgengival. Estas observações remetem à informação de que com o aparecimento da resposta inflamatória gengival (edema e aumento do volume de FCG), criam-se condições nutricionais e ambientais adequadas ao estabelecimento e perpetuação de uma microbiota subgengival.<sup>13</sup>

Esta interação entre os biofilmes e a resposta inflamatória do hospedeiro pode ser ilustrada, também, a partir de um caminho inverso, considerando-se pacientes doentes. Kawada *et al.*, em 2004, por exemplo, avaliaram a relação entre o número de bactérias *Porphyromonas gingivalis* em amostras subgengivais e o quadro clínico periodontal dos pacientes.<sup>15</sup> Neste estudo, amostras subgengivais foram coletadas de 9 pacientes com periodontite, em 4 sítios com profundidade de sondagem (PS) igual ou superior a 4 mm, e analisadas por reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real. Os autores reportaram uma correlação significativa entre o número de bactérias e os valores de PS ( $r^2 = 0.37$ ,  $p < 0.001$ ), onde cada 1 milímetro de aumento da PS correspondeu a um aumento de 10 vezes no número destas bactérias. Na mesma direção, um estudo mais recente com o objetivo de entender a ecologia das comunidades bacterianas subgengivais, e, principalmente, elucidar a relação entre inflamação e o microbioma subgengival, foi realizado por Abusleme e colaboradores.<sup>16</sup> Vinte e dois pacientes com periodontite crônica e 10 pacientes com saúde periodontal foram incluídos no estudo. Amostras subgengivais foram coletadas em 2 sítios com semelhante condição de destruição periodontal (PS = 5 mm), porém diferindo quanto à presença ou ausência de sangramento à sondagem (SS), nos pacientes do grupo “doença periodontal”, e em um sítio sem sangramento nos pacientes do grupo “saúde periodontal”. As amostras foram analisadas por meio da técnica de piro-sequenciamento. Como resultados, pode-se observar maior carga bacteriana em sítios apresentando SS, em comparação a sítios com perda de inserção e sem sangramento, e em comparação a sítios saudáveis. Além disso, os autores observaram que as comunidades bacterianas eram qualitativamente semelhantes em saúde e doença, muito embora numericamente diferentes, e inferiram que estas diferenças poderiam ser reflexo da extensão da PS. Coletivamente, mais uma vez, estes resultados apontam que a relação entre resposta inflamatória e os microrganismos é dinâmica, recíproca e interdependente, visto que maior carga bacteriana pode representar um maior desafio ao hospedeiro, o qual responde com um aumento na inflamação (e.g., maior PS, FCG, SS), o que, retroalimentando o processo, por sua vez, propicia um aumento na carga bacteriana via maior aporte de nutrientes.

Não surpreendentemente, as observações relacionadas a estes estudos nos remetem ao conceito da doença periodontal como uma infecção oportunista.<sup>13</sup> Tal conceito é entendido

pelo seguinte raciocínio: ao início do acúmulo do biofilme supragengival há uma predominância de microrganismos associados à saúde. Com o passar do tempo, no entanto, sem a disrupção deste biofilme, há o estabelecimento da primeira resposta inflamatória que clinicamente diagnostica-se como gengivite. Algumas das características desta condição, devido à maior vascularização tecidual, são o aumento do volume de FCG e o aparecimento do sangramento marginal, os quais passam a proporcionar um ambiente mais abundante em nutrientes, tais como hemina, glicoproteínas, e proteínas do hospedeiro, que servirão como substratos ao metabolismo bacteriano e fornecerão importantes fatores de crescimento para espécies bacterianas anaeróbicas e proteolíticas. Paralelamente, devido ao edema, há um aumento da PS, constituindo-se um local ideal para que bactérias anaeróbicas facultativas (localizadas na entrada da bolsa, i.e. unidade sangrante) empobrecem o oxigênio disponível e produzam dióxidos de carbono e hidrogênio, o que, por sua vez, favorece e cria um ambiente anaeróbico dentro da bolsa. Além disso, o metabolismo bacteriano contínuo determina pequenas elevações na temperatura e pH local, que são fatores essenciais para o crescimento, competitividade e agressividade de algumas espécies de bactérias. Conseqüentemente, é possível um aumento numérico expressivo destas bactérias com maior potencial patogênico, e que antes estavam em menor número nos biofilmes supra e subgengival, resultando em um expressivo aumento também no número total de bactérias no biofilme. Se este quadro de acúmulo destes biofilmes é mantido, há a retroalimentação contínua do processo, via maior desafio bacteriano ao hospedeiro, o qual responde aumentando a resposta inflamatória, refletindo em piora nos indicadores clínicos periodontais.<sup>13</sup> Este quadro, naqueles indivíduos susceptíveis, poderá evoluir para a periodontite. Deste modo, o termo infecção oportunista é vinculado à necessidade de retroalimentação constante entre bactérias e resposta inflamatória. Portanto, a partir deste mecanismo de retroalimentação, pode-se entender o papel primordial do ambiente supragengival como fonte primária dos microrganismos subgengivais. Não obstante, este processo pode fundamentar o controle do biofilme supragengival como uma intervenção capaz de modular o ambiente subgengival.<sup>13</sup>

Inseridos neste contexto, existem estudos de intervenção que mostraram esta relação de modulação sob o ponto de vista clínico. Estes estudos partem do princípio de que por meio do controle da gengivite, tem-se a redução dos indicadores clínicos, como PS e SS, que podem, então, influenciar os demais indicadores. Um destes estudos foi conduzido por Gomes e colaboradores, em 2007, tendo como objetivo avaliar o efeito do controle supragengival nos indicadores clínicos de pacientes com periodontite.<sup>3</sup> Para tanto, 50 pacientes (25 fumantes e 25 nunca-fumantes) com diagnóstico de periodontite moderada à avançada foram

acompanhados por 180 dias com consultas semanais para o controle do biofilme unicamente supragengival. Pode-se verificar que o controle supragengival estrito foi capaz de reduzir significativamente os níveis de placa, gengivite, e SS, bem como os valores médios de PS e perda de inserção (PI), independentemente da categoria de PS, e sem diferenças entre os grupos. Estas alterações, além disso, foram mantidas durante todo o período do estudo.

Outros estudos de intervenção, por sua vez, demonstraram esta relação de modulação valendo-se da investigação de outros indicadores, como marcadores imunológicos ou microbiológicos. Exemplificando, o estudo realizado por Dahlén *et al.*, em 1992, buscou verificar o efeito nos indicadores clínicos e microbiológicos de um programa de controle do biofilme supragengival que incluía instruções meticolosas de higiene bucal e monitoramento profissional, durante um período de 2 anos.<sup>2</sup> Sessenta e dois pacientes foram incluídos e distribuídos nos seguintes grupos: Grupo AB, composto por 23 pacientes que apresentavam perda de inserção e PS maiores (“sítios profundos”) e menores (“sítios rasos”) que 4 mm; e Grupo C, com 39 pacientes com gengivite e apenas sítios “rasos”. Controle supragengival, orientações de higiene bucal e motivação foram entregues em 4-8 consultas, durante os 3 primeiros meses. Novos exames foram realizados 24 meses após o início do estudo. Pôde-se verificar que os indicadores clínicos de placa, gengivite e PS foram reduzidos significativamente em todos os grupos, tanto em sítios “rasos” quanto “profundos, e que os níveis de inserção foram mantidos. Além disso, entre as categorias de PS, houve um aumento no número de sítios rasos e diminuição dos profundos. Na mesma direção, os marcadores microbiológicos foram significativamente alterados, tanto em sítios rasos como profundos, como observado pela redução da média do total de bactérias viáveis e pelo número e percentual de sítios positivos para determinadas espécies bacterianas. Baseados nestes resultados, os autores concluíram que a microbiota subgengival foi influenciada não somente por fatores locais dentro da bolsa, mas, também, pelo ambiente supragengival e que as alterações observadas nos sítios profundos estavam associadas à redução da PS, ocasionada pelo controle do biofilme supragengival. Este processo, por sua vez, levou à redução da carga microbiológica e às alterações qualitativas da microbiota subgengival. Estes resultados são corroborados pelo estudo de Gomes *et al.*, em 2008,<sup>17</sup> que publicaram os resultados microbiológicos do estudo de 2007.<sup>5</sup> Nesta investigação, pôde-se observar que o controle do biofilme supragengival marcadamente reduziu as contagens subgengivais das espécies bacterianas estudadas (*Porphyromonas gingivalis*, *Parvimonas micra*, *Dialister pneumosintes*, e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*), bem como do domínio Eubactéria, em ambos os grupos, e longitudinalmente. Apesar do conjunto destas observações, neste processo

interdependente entre os biofilmes supra e subgingival ainda não se tem esclarecida, por exemplo, a ordem dos fatores, ou seja, se as melhoras clínicas são consequência da redução da microbiota, ou se as alterações microbiológicas são em decorrência da diminuição dos indicadores clínicos de inflamação?

O modelo de infecção oportunista fundamenta, também, o controle do biofilme supragingival como etapa e ferramenta essenciais para o sucesso do tratamento das periodontites. Embora inexista um ensaio clínico randomizado (ECR) no qual o controle supragingival tenha sido abordado como uma modalidade de intervenção única, em comparação à sua realização como uma etapa prévia ao tratamento da periodontite ou à sua realização concomitante ao controle do biofilme subgingival, estas abordagens foram comparadas em 2014, em um ECR sob modelo de boca-dividida.<sup>5</sup> Vinte e cinco pacientes com periodontite crônica receberam, por quadrantes, os seguintes regimes terapêuticos: I) controle supragingival estrito, em 1 quadrante, no dia 0, e sendo controle este mantido ao longo de todo o período experimental; II) controle supra e subgingival simultâneos, em 2 quadrantes, no dia 0; e III) controle supragingival no dia 0 e o controle subgingival após 30 dias, em 1 quadrante. Este estudo desenvolveu-se em 450 dias, durante os quais os pacientes foram reavaliados e orientados em relação ao controle do biofilme supragingival (em média a cada  $2.2 \pm 1.64$  meses). Pôde-se observar que os 3 regimes propostos levaram a alterações significativas nos níveis de placa e gengivite, bem como reduções nos indicadores de PS, SS e PI, sendo que as maiores reduções nestes indicadores subgingivais ocorreram nos quadrantes que receberam a intervenção subgingival. Por outro lado, o controle supragingival como etapa prévia reduziu as necessidades de intervenção subgingival em quase 50%. Esta redução pode ser entendida da seguinte forma: 72% dos sítios com SS+ ao *baseline* no grupo II receberam a intervenção subgingival; em contrapartida, no grupo III somente 37% permaneceram necessitando receber a intervenção subgingival (neste grupo entregue no dia 30), como avaliado pelo percentual de sítios que permaneceram com sangramento subgingival, após terem recebido o controle supragingival. Além disso, observou-se que as maiores reduções em todos os indicadores clínicos foram observadas já aos 60 dias, quando, então, estes valores foram mantidos longitudinalmente. Pôde-se inferir, portanto, que um controle adequado do biofilme dental, atestado pelos baixos índices de placa e sangramento marginal ao longo do tempo, permitiu a estabilidade dos indicadores subgingivais.

Semelhante avaliação foi realizada já em 1983.<sup>1</sup> Muito embora empregando um delineamento mais simples, e voltado unicamente para a análise dos marcadores microbiológicos, Smulow *et al.* conduziram um estudo com a inclusão de 14 pacientes

apresentando pelo menos 4 bolsas com  $PS \geq 5$  mm, onde cada sítio/bolsa (de um total de 56) foi alocado à uma das seguintes intervenções: 1) controle supra e subgengival no dia 0, seguido de controle supragengival por 20 dias; 2) controle supragengival estrito no dia 0, seguido de controle supragengival por 20 dias; 3) controle supra e subgengival no dia 0, porém sem qualquer controle posterior; e 4) nenhuma intervenção e sem qualquer controle posterior. Amostras de biofilme subgengival foram coletadas destes sítios e avaliadas por meio da técnica de cultura e microscopia. Pôde-se verificar que aqueles grupos que receberam atenção supragengival continuada experimentaram reduções significativas nas contagens bacterianas totais e de morfotipos bacterianos (espiroquetas e espécies anaeróbias facultativas e obrigatórias). Por outro lado, os grupos sem controle supragengival apresentaram comportamento oposto, com aumento destas contagens. Já à época, estes autores, em conclusão, sugeriram que a microbiota subgengival era fortemente afetada pelo controle do biofilme supragengival uma vez que o este biofilme seria a fonte primária da microbiota subgengival.

No mesmo contexto, avaliando desfechos clínicos e microbiológicos, Feres *et al.*, em 2009, compararam os efeitos da intervenção subgengival isolada em relação à sua realização combinada ao controle mecânico do biofilme supragengival, ou ainda complementada pelo controle químico deste biofilme.<sup>4</sup> Para tanto, 60 pacientes com periodontite crônica, generalizada, foram alocados a receber uma das seguintes intervenções: 1) raspagem e alisamento radicular (RAR) realizada de forma estrita; 2) RAR combinada ao controle mecânico do biofilme supragengival; e 3) RAR combinada ao controle químico supragengival com digluconato de clorexidina. O controle supragengival foi realizado durante 63 dias, iniciando-se juntamente com a RAR, e reexames foram conduzidos após 2 e 6 meses. Clinicamente, observou-se maiores reduções de PS, SS e PI, tanto ao 2º. como ao 6º. mês pós terapia subgengival, nos grupos que receberam também o controle do biofilme supragengival. Além disso, embora o grupo com controle químico tenha apresentado uma tendência à maior redução nos indicadores avaliados, esta mudança não foi estatisticamente diferente daquela observada no grupo com controle mecânico. Mesmo comportamento foi observado em relação aos marcadores microbiológicos: as maiores reduções foram relacionadas aos grupos com controle supragengival, e com especial impacto sobre as espécies bacterianas dos complexos vermelho e laranja. Por fim, ambos os achados clínicos e microbiológicos, suportaram as conclusões dos autores de que o controle supragengival realizado durante e após a intervenção subgengival promoveu uma melhora dos desfechos do tratamento.

A partir das evidências oriundas destes estudos, é possível identificar questões fundamentais relativas ao controle do biofilme supragengival. Este controle, se realizado pelo paciente diariamente, e de forma adequada, é fundamental em qualquer etapa da atenção periodontal. Por outro lado, a educação do paciente é de responsabilidade profissional e deve, portanto, ser trabalhada em todas as fases da terapia periodontal, por meio da identificação das necessidades individuais em relação ao controle mecânico supragengival e, quando necessário, da adequação ou modificação dos hábitos do paciente. Além disto, muito embora a atuação deste binômio paciente-profissional, objetivando o controle supragengival, não se constitua como uma intervenção terapêutica única para a periodontite, sua realização, como etapa prévia e separada da intervenção de raspagem e alisamento radicular, pode proporcionar reduções relevantes nos indicadores inflamatórios, o que, por sua vez, pode auxiliar no posterior controle subgengival e em sua efetividade. Não obstante, na falta de um controle supragengival adequado, o efeito terapêutico da intervenção subgengival será limitado, provisório ou mesmo nulo. Neste ponto, não surpreendentemente, destaca-se a posição de alguns autores em seus artigos vinculados ao 11º. Workshop Europeu em Periodontia.<sup>9</sup>

### ***Controle supragengival durante a fase de manutenção periódica preventiva***

Pelo glossário da Sociedade Brasileira de Periodontologia,<sup>18</sup> a Manutenção Periódica Preventiva é definida como: “(...) procedimentos realizados em intervalos selecionados para ajudar o indivíduo a manter sua saúde bucal. Fazendo parte da terapia periodontal, um intervalo estabelecido para cuidados periodontais periódicos...”. Neste sentido, a MPP tem com principais objetivos: 1) prevenir a recorrência e progressão da doença periodontal em pacientes previamente tratados; 2) prevenir ou reduzir a incidência de perda dentária nesses pacientes; e 3) auxiliar no diagnóstico precoce e tratamento, em tempo adequado, de outras doenças e condições encontradas na cavidade oral.

A motivação para a MPP surgiu, inicialmente, do reconhecimento da importância do biofilme no estabelecimento e progressão da gengivite. Adicionalmente, a reconhecida dificuldade de manterem-se níveis adequados de higiene bucal por parte da população colocava um desafio para o tratamento das doenças periodontais. A proposta de realização de consultas periódicas, nas quais o profissional interviria buscando atenuar as consequências da má higiene bucal, e ao mesmo tempo motivando o paciente para um melhor controle diário do biofilme, surgiu a partir dos trabalhos de avaliação longitudinal da terapia periodontal

realizados principalmente pelos grupos liderados por Ramfjord, e por Lindhe & Nyman.<sup>6,11</sup> Estes autores observaram que diferentes técnicas cirúrgicas ou diferentes procedimentos terapêuticos apresentavam resultados semelhantes desde que os pacientes, na sequência, participassem de uma sessão de controle profissional dos biofilmes supra e subgingival a intervalos de a cada 2-3 meses. Entretanto, pelos resultados observados por Ramfjord *et al.*, o sucesso terapêutico, durante a manutenção, era independente dos padrões de controle do biofilme realizado pelos pacientes.<sup>6</sup> Por outro lado, o grupo de Lindhe & Nyman demonstrava que um adequado controle do biofilme pelo paciente, e por consequência a ausência de gengivite, era, sim, fator determinante, juntamente com a MPP, do sucesso das terapias.<sup>11</sup> Apesar destas divergências, o conjunto desses estudos, bem como a constatação de que as terapias periodontais passaram a apresentar melhores resultados quando acompanhados pela manutenção periódica, coloca a MPP como parte integral da atenção periodontal. Da mesma forma, origina-se, destes estudos, a periodicidade que até hoje se divulga para as consultas de MPP. Em geral, o intervalo estabelecido é de consultas a cada 3-4 meses. Entretanto, cabe ressaltar, esta rotina não se baseia em estudos que se destinaram a comparar a eficácia e segurança de diferentes intervalos de tempo entre as consultas.

Além disto, contemporaneamente, a periodicidade das consultas de MPP tem sido sugerida, também, pela “necessidade” de se realizar instrumentação subgingival em sítios com PS  $\geq$  3 mm, acompanhados ou não pela presença de SS, visando-se desorganizar/reduzir as contagens de bactérias patogênicas em contato com os tecidos periodontais, tomando por base a “velocidade” de recolonização dos sítios periodontais. Estudos sugerem que a quantidade de bactérias após a instrumentação profissional, devido à recolonização da área subgingival, pode alcançar valores similares aos iniciais em um período de dias, meses ou até mesmo um ano.<sup>19</sup> Todavia, devido a diferenças metodológicas entre os estudos, com avaliações por diferentes indicadores periodontais, amostras oriundas de diferentes populações, com critérios de inclusão distintos, extrapolações são problemáticas. Não obstante, uma vez que haja a recolonização esta não implicará necessariamente em recorrência da doença. Por outro lado, alguns autores propuseram basear a periodicidade das consultas de MPP no perfil de risco periodontal individual dos pacientes, sendo este dado pela história de progressão da doença, adesão e motivação do paciente para o autocuidado com a higiene bucal e em parâmetros clínicos.<sup>20</sup> Essas informações tão pouco fornecem orientações precisas para um intervalo definido no tempo e o que se observa ainda é a permanência daqueles intervalos pré-sugeridos.

Dadas essas observações, contudo, primariamente mais importante do que se identificar a periodicidade ideal das consultas de MPP, deve ser a investigação da efetividade, impacto e magnitude das medidas de controle do biofilme supragengival em se manter os resultados alcançados durante o tratamento, evitando assim a recolonização dos sítios, e consequente recorrência da doença.

Com base na relação dinâmica e interdependente entre os biofilmes supra e subgengival, e esta relação sendo capaz modular o ambiente subgengival, pode-se igualmente entender e assumir o controle supragengival como uma intervenção eficaz também durante a fase de MPP. Neste sentido, em outras palavras, pode-se questionar qual é a necessidade de se realizar repetidas intervenções subgengivais a cada consulta de MPP, uma vez que o paciente periodontal foi tratado com sucesso, e agora apresenta um quadro periodontal associado à saúde.

Ao olharmos para a literatura disponível sobre esta temática, existem somente 3 artigos que tentaram responder a este questionamento objetivamente: um ECR, uma revisão sistemática da literatura, e um posicionamento da Federação Europeia de Periodontia. O ECR, conduzido por Jenkins *et al.*, em 2000, buscou investigar o efeito da combinação das intervenções supra e subgengival nos indicadores clínicos de pacientes previamente tratados para periodontite crônica, em comparação à intervenção unicamente supragengival.<sup>7</sup> Trinta e um pacientes previamente tratados por terapia cirúrgica ou não-cirúrgica, em um Hospital-Escola de Odontologia, porém apresentando pelo menos 4 bolsas residuais com PS  $\geq$  4 mm e SS+, e com inconsistência nos níveis de biofilme supragengival ao longo do tempo, constituíram a amostra. Este indivíduos foram alocados em um dos 2 regimes MPP, e receberam as respectivas intervenções e reexames a cada 3 meses, durante 1 ano. Pôde-se verificar ausência de diferença significativa entre os dois regimes propostos em relação aos indicadores clínicos de PS, PI e SS, bem como ausência de diferença entre os exames, ao longo de todo o período do estudo. Frente a estes achados, os autores concluíram que não houve benefício adicional da realização da intervenção subgengival, e, portanto, colocaram a realização desta intervenção em questão.

Na sequência, em 2002, Heasman *et al.* conduziram uma busca sistemática na literatura a fim de revisar e analisar as evidências disponíveis em relação à efetividade clínica do controle supragengival em comparação à intervenção subgengival, durante a fase de MPP.<sup>12</sup> No total, 28 estudos foram identificados pela busca manual e eletrônica, mas apenas 11 artigos, com pelo menos 12 meses de acompanhamento, foram incluídos. Somente um estudo comparou diretamente as intervenções de interesse,<sup>7</sup> e entre os demais observou-se

grande heterogeneidade. A fim de compensar esta heterogeneidade, alguns ajustes estatísticos foram conduzidos. Por fim, os autores reportaram resultados semelhantes, em relação à PS e a PI, entre os estudos incluídos relacionados às intervenções de interesse, ao longo do tempo. Estes achados suportaram a conclusão dos autores de que, frente às melhores evidências disponíveis, ambos os regimes foram comparáveis clinicamente. Além disso, estes autores também sugeriram a condução de novos e adequados estudos sobre esta temática.

Com base naquela revisão de literatura, este tema foi discutido durante o 4º Workshop Europeu em Periodontia, em 2002. Neste momento houve um posicionamento da Federação Europeia de Periodontia, também chamando a atenção para a necessidade de estudos adicionais nesta temática, inclusive propondo diretrizes para estes futuros estudos.<sup>10</sup> Algumas destas diretrizes, por exemplo, sugeriam que os novos estudos: 1) claramente definissem quando se iniciaria o *baseline* da fase de MPP e os critérios de inclusão dos participantes; 2) avaliassem outros desfechos além dos clínicos, como marcadores microbiológicos e imunológicos, e de percepção/adesão dos pacientes; e, 3) detalhadamente descrevessem as intervenções realizadas. Por outro lado, houve, ainda, um consenso dessa Federação de que ambas as terapias levavam a um resultado clínico semelhante.

Desde então, mesmo frente ao chamamento por novos estudos, e ao melhor do conhecimento, nenhum estudo foi publicado no qual a comparação direta entre essas intervenções tenha sido realizado. A constatação da ausência de novos estudos pode ser observada frente aos novos artigos referentes ao mais recente encontro daquela Federação,<sup>9</sup> bem como após a condução de uma busca sistemática na literatura sobre estudos reportando aspectos microbiológicos durante a fase de MPP. A realização desta busca foi determinada pelo importante papel dos microrganismos no processo dinâmico do modelo de infecção oportunista que aponta para o controle supragengival como terapia eficaz durante a manutenção periodontal. Caso disponíveis, os resultados microbiológicos durante esta fase poderiam complementar e estender a compreensão dos resultados clínicos reportados.<sup>10</sup>

## **Materiais e métodos**

Brevemente, uma busca sistemática foi realizada na base de dados MEDLINE, via PUBMED, bem como na lista de referência de outras revisões de literatura previamente publicadas, sem restrições de linguagem e data de publicação, e utilizando diferentes arranjos dos seguintes descritores: *randomized clinical trial*, *randomized controlled trial*, *clinical trial*, *longitudinal*

*study, prospective study, supportive periodontal care, periodontal maintenance, e microbiology.* Buscou-se, especificamente, por estudos realizados em humanos, apresentando delineamento de ensaio clínico randomizado ou ensaio clínico de braço único, com um mínimo de 6 meses de duração, e reportando resultados microbiológicos subgengivais decorrentes de pelo menos uma das intervenções de interesse (controle supragengival estrito, ou controle combinado dos biofilmes supra e subgengival).

Dentre os 1.828 títulos identificados pelos mecanismos de busca, apenas 18 estudos apresentavam tais características metodológicas. Não foram encontrados estudos comparando diretamente ambas as intervenções quanto aos desfechos microbiológicos, estando disponíveis somente estudos reportando uma das intervenções de interesse: 5 estudos relacionados ao controle supragengival,<sup>21-25</sup> e 13 relacionados ao controle combinado supra e subgengival.<sup>26-38</sup> De interesse, os estudos disponíveis foram, em sua maioria, investigações reportando desfechos microbiológicos de diferentes terapias periodontais, longitudinalmente. Nestes estudos, devido ao longo período de acompanhamento, uma das intervenções de interesse foi realizada como procedimento de MPP, e, em geral, iniciando-se passados 3 meses após a terapia inicial. Assim, se considerados somente os dados relacionados ao período após o início da fase de MPP, haveria a possibilidade de ser avaliar nestes estudos os resultados referentes a esta fase. No entanto, em semelhança à revisão quanto aos desfechos clínicos conduzida por Heasman *et al.*,<sup>12</sup> observou-se grande heterogeneidade entre os estudos. Tais diferenças foram principalmente devido aos diferentes métodos microbiológicos empregados. Além disso, a maior parte dos estudos somente reportou os dados por meio de gráficos, o que impossibilitou a coleta e uma análise estatística dos dados.

Apesar destas limitações, descritivamente, pela leitura dos resultados e levando-se em consideração as conclusões dos autores de cada estudo, ambas as intervenções investigadas parecem estar associadas à uma tendência de estabilidade, ou até mesmo de redução, nos marcadores microbiológicos subgengivais ao longo do tempo. No entanto, nenhuma conclusão pode ser estabelecida.

Portanto, frente aos aspectos e estudos até aqui discutidos, claramente se verifica a escassez de evidências, tanto no que se refere aos indicadores clínicos como microbiológicos subgengivais, sobre qual deve ser a atenção periodontal a ser entregue aos pacientes durante a MPP na ordem de se manter os resultados positivos alcançados com o tratamento periodontal, e se evitar um futuro restabelecimento e/ou progressão de doença. Por outro lado, a princípio, a literatura disponível parece apontar para uma ausência de benefício adicional da realização

de intervenções subgingivais, e credita a manutenção dos resultados durante a fase de MPP, majoritariamente, ao controle do biofilme supragengival.

## **Discussão**

A presente revisão de literatura sugere que o controle do biofilme supragengival difira do controle de placa não somente em termos semânticos. Pelo contrário, a partir da compreensão da placa bacteriana como um biofilme dental, pode-se elencar uma série de mudanças no “olhar” sobre o que se considera processo saúde-doença periodontal que, por sua vez, conduz a uma proposição de uma atenção profissional diferenciada.

De acordo com algumas publicações,<sup>1,2,13</sup> existe uma estreita relação entre a formação do biofilme supragengival e a dinâmica de estabelecimento do biofilme subgingival, bem como a alteração quantitativa e qualitativa deste biofilme. Estas últimas, diretamente associadas à presença de inflamação marginal inicialmente, e da perpetuação de um ambiente subgingival favorável ao desenvolvimento de um biofilme subgingival, com características cada vez mais propícias para o desenvolvimento e progressão das periodontites.<sup>13</sup> No entanto, como este nem sempre foi o olhar sobre os biofilmes dentais, iniciou-se uma etapa, na Periodontia, muito voltada para a instrumentação subgingival de qualidade como o objetivo principal a ser alcançado, e a “eliminação” de bactérias por meio do uso de antibióticos como uma forma de garantir sucesso terapêutico longitudinalmente. Ao longo do tempo, porém, questionou-se estes modelos de atenção, tendo em vista que eles se mostraram insuficientes para garantir sucesso imediato ou mediato de terapias periodontais, fossem elas cirúrgicas ou não cirúrgicas.<sup>9</sup> Por outro lado, os limites apresentados por estas formas terapêuticas foram interpretados de tal forma a buscar a excelência terapêutica por meio do conceito de “placa zero”, fato que também contribuiu para uma série de equívocos ao longo dos anos. Não é possível deixar dentes livres de biofilme dental. Só é possível manter um nível de biofilme dental compatível com a saúde.

Recentemente, retomaram-se, em encontro e publicações de grande impacto estas discussões.<sup>9,10</sup> Em linhas gerais, se destacou o papel fundamental do controle do biofilme supragengival em todas as fases de atenção ao paciente: prevenção, tratamento e manutenção. A plausibilidade para esta importância, recai sobre o conceito de doença periodontal como infecção oportunista,<sup>13</sup> capaz de determinar inflamação gengival/periodontal, ao mesmo tempo em que apresenta crescimento qualitativo e quantitativo de alguns tipos bacterianos

permitido, exatamente, pela expressão inflamatória gerada. Estabelece-se assim, um mecanismo de retroalimentação, de alguma forma já ilustrado em publicações como a de Kawada *et al.*,<sup>15</sup> Abusleme *et al.*,<sup>16</sup> e Gomes *et al.*<sup>17</sup>

Por meio dos resultados aqui apresentados, depreende-se que o controle supragengival é o que inicialmente irá modular o estabelecimento e a qualidade da microbiota subgengival, e manter uma situação de equilíbrio entre agressão e defesa.<sup>13-17</sup> Por outro lado, na ausência deste controle, os resultados terapêuticos são perdidos, situação para a qual não existe remediação, como por exemplo, o uso de antibióticos locais/sistêmicos. Aliás, este conceito é fragilizado por questões de método de avaliação. Como os estudos que apontam vantagens destes fármacos têm sua avaliação microbiológica baseada em testes que tem um limite de detecção muito alto, ou seja, só conseguem identificar as bactérias quando elas estão em nível elevado, ao sugerirem “erradicação de periodontopatógenos”, só estão sugerindo que aquele método não detecta presença de microrganismos que estejam abaixo do limite de detecção, o que é muito diferente de dizer que eles foram eliminados.

Ao assumir esta dinâmica relação entre o biofilme supragengival e aquele subgengival o profissional se impõe grandes desafios. Seria muito mais fácil poder garantir o sucesso do tratamento se este dependesse tão somente da intervenção terapêutica, ou só do uso de um fármaco, por exemplo. Porém, não é esta a realidade que se apresenta. Cada vez mais a literatura tem mostrado quão importante é o trabalho do binômio paciente-profissional na busca e manutenção do sucesso terapêutico.<sup>8,9</sup> É por esta razão que os estudos começam a identificar que: 1) o controle supragengival bem estabelecido influencia o ambiente subgengival em pacientes com periodontite, independente de esta ser moderada ou severa; 2) que o controle do biofilme supragengival prévio ao do biofilme subgengival permite reduzir a necessidade de intervenção subgengival; e 3) que na fase de manutenção periódica preventiva parece não existir benefícios adicionais da deplacagem subgengival quando comparada à deplacagem unicamente supragengival. Como o controle do biofilme supragengival é uma função diária, há necessidade de se estabelecer rotinas de controle deste biofilme junto ao paciente, e uma constante interação com o mesmo, objetivando atingir níveis adequados de controle supragengival advindo de constante atividade de educação para a saúde.

## **Conclusão**

A evolução do conceito de biofilme possibilitou entender-se as doenças periodontais como uma infecção oportunista. Sob este modelo etiopatogênico, visualiza-se inicialmente a dependência do biofilme subgingival em relação ao pré-estabelecimento do biofilme supragingival. Consequentemente, tem-se o controle do biofilme supragingival como capaz de exercer importante ação modulatória no ambiente subgingival por diversos mecanismos biológicos, alguns destes, inclusive, ainda não totalmente esclarecidos. Baseado neste processo dinâmico e interdependente entre os biofilmes, as evidências disponíveis na literatura têm cada vez mais suportado o cuidado, pelo binômio paciente-profissional, para com o controle do biofilme supragingival como uma intervenção efetiva e necessária em todos os aspectos e etapas do manejo dos pacientes periodontais.

## **Aplicação clínica**

A partir das questões aqui abordadas, cunhando o conceito do biofilme supragingival como fundamental na Periodontia, espera-se que não somente o periodontista, mas, também, o clínico-geral possam atuar compreendendo a extensão dos benefícios que sua atenção à educação para a saúde bucal, em especial ao controle supragingival, trará para o paciente periodontal.

## Referências

1. Smulow JB, Turesky SS, Hill RG. The effect of supragingival plaque removal on anaerobic bacteria deep periodontal pockets. *J Am Dent Assoc* 1983;107(5):737-42.
2. Dahlén G, Lindhe J, Sato K, Hanamura H, Okamoto H. The effect of supragingival plaque control on the subgingival microbiota in subjects with periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1992;19(10):802-9.
3. Gomes SC, Piccinin FB, Susin C, Oppermann RV, Marcantonio RA. Effect of supragingival plaque control in smokers and never-smokers: 6-month evaluation of patients with periodontitis. *J Periodontol* 2007;78(8):1515-21.
4. Feres M, Gursky LC, Faveri M, Tsuzuki CO, Figueiredo LC. Clinical and microbiological benefits of strict supragingival plaque control as part of the active phase of periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 2009;36(10):857-67.
5. Gomes SC, Romagna R, Rossi V, Corvello PC, Angst PD. Supragingival treatment as an aid to reduce subgingival needs: a 450-day investigation. *Braz Oral Res* 2014;28(1).
6. Ramfjord SP, Morrison EC, Burgett FG, Nissle RR, Shick RA, Zann GJ, *et al.* Oral hygiene and maintenance of periodontal support. *J Periodontol* 1982;53(1):26-30.
7. Jenkins WM, Said SH, Radvar M, Kinane DF. Effect of subgingival scaling during supportive therapy. *J Clin Periodontol* 2000;27(8):590-6.
8. Axelsson P, Nyström B, Lindhe J. The long-term effect of a plaque control program on tooth mortality, caries and periodontal disease in adults. Results after 30 years of maintenance. *J Clin Periodontol* 2004;31(9):749-57.
9. Tonetti MS, Eickholz P, Loos BG, Papapanou P, van der Velden U, Armitage G, *et al.* Principles in prevention of periodontal diseases: Consensus report of group 1 of the 11(th) European Workshop on Periodontology on effective prevention of periodontal and peri-implant diseases. *J Clin Periodontol* 2015;42(Suppl 16):S5-S11.
10. Sanz M, Addy M. Group D summary. *J Clin Periodontol* 2002;29(Suppl 3):195-6.
11. Lindhe J, Nyman S. Long-term maintenance of patients treated for advanced periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1984;11(8):504-14.
12. Heasman PA, McCracken GI, Steen N. Supportive periodontal care: the effect of periodic subgingival debridement compared with supragingival prophylaxis with respect to clinical outcomes. *J Clin Periodontol* 2002;29(Suppl 31):63-72; discussion 95-6.

13. Marsh PD, Moter A, Devine DA. Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. *Periodontol 2000* 2011;55(1):16-35.
14. Weidlich P, Lopes de Souza MA, Oppermann RV. Evaluation of the dentogingival area during early plaque formation. *J Periodontol* 2001;72(7):901-10.
15. Kawada M, Yoshida A, Suzuki N, Nakano Y, Saito T, Oho T, *et al.* Prevalence of *Porphyromonas gingivalis* in relation to periodontal status assessed by real-time PCR. *Oral Microbiol Immunol* 2004;19(5):289-92.
16. Abusleme L, Dupuy AK, Dutzan N, Silva N, Burleson JA, Strausbaugh LD, *et al.* The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation. *ISME J* 2013;7(5):1016-25.
17. Gomes SC, Nonnenmacher C, Susin C, Oppermann RV, Mutters R, Marcantonio RA. The effect of a supragingival plaque-control regimen on the subgingival microbiota in smokers and never-smokers: evaluation by real-time polymerase chain reaction. *J Periodontol* 2008;79(12):2297-304.
18. Cortelli JR, Lotufo RFM, Oppermann RV, Sallum AW. Glossário da Sociedade Brasileira de Periodontologia. SOBRAPE [Internet]. 2005.
19. Shiloah J, Patters MR. Repopulation of periodontal pockets by microbial pathogens in the absence of supportive therapy. *J Periodontol* 1996;67(2):130-9.
20. Renvert S, Persson GR. Supportive periodontal therapy. *Periodontol 2000* 2004;36:179-95.
21. Chondros P, Nikolidakis D, Christodoulides N, Rössler R, Gutknecht N, Sculean A. Photodynamic therapy as adjunct to non-surgical periodontal treatment in patients on periodontal maintenance: a randomized controlled clinical trial. *Lasers Med Sci* 2009;24(5):681-8.
22. Colombo AP, Teles RP, Torres MC, Rosalém W, Mendes MC, Souto RM, *et al.* Effects of non-surgical mechanical therapy on the subgingival microbiota of Brazilians with untreated chronic periodontitis: 9-month results. *J Periodontol* 2005;76(5):778-84.
23. Quirynen M, Soers C, Desnyder M, Dekeyser C, Pauwels M, van Steenberghe D. A 0.05% cetyl pyridinium chloride/0.05% chlorhexidine mouth rinse during maintenance phase after initial periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 2005;32(4):390-400.
24. Rosling B, Wannfors B, Volpe AR, Furuichi Y, Ramberg P, Lindhe J. The use of a triclosan/copolymer dentifrice may retard the progression of periodontitis. *J Clin Periodontol* 1997;24(12):873-80.

25. Westfelt E, Rylander H, Dahlén G, Lindhe J. The effect of supragingival plaque control on the progression of advanced periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1998;25(7):536-41.
26. Bogren A, Teles RP, Torresyap G, Haffajee AD, Socransky SS, Wennström JL. Locally delivered doxycycline during supportive periodontal therapy: a 3-year study. *J Periodontol* 2008;79(5):827-35.
27. Cortelli JR, Aquino DR, Cortelli SC, Carvalho-Filho J, Roman-Torres CV, Costa FO. A double-blind randomized clinical trial of subgingival minocycline for chronic periodontitis. *J Oral Sci* 2008;50(3):259-65.
28. Cugini MA, Haffajee AD, Smith C, Kent RL, Socransky SS. The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases: 12-month results. *J Clin Periodontol* 2000;27(1):30-6.
29. Ehmke B, Moter A, Beikler T, Milian E, Flemmig TF. Adjunctive antimicrobial therapy of periodontitis: long-term effects on disease progression and oral colonization. *J Periodontol* 2005;76(5):749-59.
30. Gunsolley JC, Zambon JJ, Mellott CA, Brooks CN, Kaugars CC. Maintenance therapy in young adults with severe generalized periodontitis. *J Periodontol* 1994;65(3):274-9.
31. Haffajee AD, Smith C, Torresyap G, Thompson M, Guerrero D, Socransky SS. Efficacy of manual and powered toothbrushes (II). Effect on microbiological parameters. *J Clin Periodontol* 2001;28(10):947-54.
32. Kolbe MF, Ribeiro FV, Luchesi VH, Casarin RC, Sallum EA, Nociti FH, *et al.* Photodynamic therapy during supportive periodontal care: clinical, microbiologic, immunoinflammatory, and patient-centered performance in a split-mouth randomized clinical trial. *J Periodontol* 2014;85(8):e277-86.
33. Krohn-Dale I, Bøe OE, Enersen M, Leknes KN. Er:YAG laser in the treatment of periodontal sites with recurring chronic inflammation: a 12-month randomized, controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 2012;39(8):745-52.
34. Listgarten MA, Sullivan P, George C, Nitkin L, Rosenberg ES, Chilton NW, *et al.* Comparative longitudinal study of 2 methods of scheduling maintenance visits: 4-year data. *J Clin Periodontol* 1989;16(2):105-15.
35. McColl E, Patel K, Dahlen G, Tonetti M, Graziani F, Suvan J, *et al.* Supportive periodontal therapy using mechanical instrumentation or 2% minocycline gel: a 12 month randomized, controlled, single masked pilot study. *J Clin Periodontol* 2006;33(2):141-50.

36. Murray PA, Boyd RL, Robertson PB. Effect of periodontal status of rotary electric toothbrushes vs. manual toothbrushes during periodontal maintenance. II. Microbiological results. *J Periodontol* 1989;60(7):396-401.
37. Teles RP, Patel M, Socransky SS, Haffajee AD. Disease progression in periodontally healthy and maintenance subjects. *J Periodontol* 2008;79(5):784-94.
38. Ximénez-Fyvie LA, Haffajee AD, Som S, Thompson M, Torresyap G, Socransky SS. The effect of repeated professional supragingival plaque removal on the composition of the supra- and subgingival microbiota. *J Clin Periodontol* 2000;27(9):637-47.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Comparar o efeito da realização do controle estrito do biofilme supragengival em relação ao controle combinado dos biofilmes supra e subgengival, nos indicadores microbiológicos subgengivais de pacientes durante a fase de manutenção periódica preventiva, ao longo de 12 meses.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Verificar o efeito de ambos protocolos de MPP nas contagens subgengivais absolutas das espécies bacterianas *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, e *Treponema denticola*, bem como no total de bactérias do domínio Eubactéria, nos diferentes tempos experimentais, ao longo do período do estudo.

- Comparar o efeito de ambos protocolos de MPP em relação às contagens subgengivais das espécies bacterianas investigadas, ao longo do tempo.

#### **4 ARTIGO CIENTÍFICO**

##### **Microbiological results from different periodontal maintenance protocols: a randomized clinical trial**

Angst PDM, Stadler AF, Oppermann RV, Susin C, Gomes SC

(O artigo formatado para publicação no *Journal of Clinical Periodontology*)

Title Page

**Microbiological results from different periodontal maintenance protocols: a randomized clinical trial**

Angst PDM<sup>1</sup>, Stadler AF<sup>1</sup>, Oppermann RV<sup>1</sup>, Susin C<sup>2</sup>, Gomes SC<sup>1</sup>

1 Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

2 Department of Periodontics and Oral Biology, College of Dental Medicine, Georgia Regents University, Augusta, GA, United States of America

**Running Title:** Periodontal maintenance microbiology

**Key words:** long-term care, periodontitis, microbiology, dental scaling, randomized controlled trial.

**Corresponding Author**

Patricia Daniela Melchiors Angst

Address: Rua Ramiro Barcelos, 2492. Bairro: Santana. Porto Alegre, RS, Brazil.

Zip Code: 90035-003

Phone/fax: +55 51 3308 5318 Email: pati\_dani@hotmail.com

**Conflict of Interest and Source of Funding**

The authors declare no conflict of interest associated to this study.

The study was supported by a grant of the National Counsel of Technological and Scientific Development (CNPq, #479288/2011-9), Brasilia, DF, Brazil, and by a seed grant from Federal University of Rio Grande do Sul (PROPESq-UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil. Colgate-Palmolive® (São Paulo, SP, Brazil) provided dental care supplies, and Neumar Instrumentos Cirúrgicos (São Paulo, SP, Brazil) provided the hand instruments, used in the study. The authors PDMA and AFS received a scholarship from the Coordination for the Improvement of Higher Level -or Education- Personnel (CAPES), Brasilia, DF, Brazil, during their PhD course.

## Abstract

**Aim:** Compare the effects of supragingival scaling alone (SPG) against the combined supra and subgingival scaling (SPG+SBG), on subgingival microbiota from patients during periodontal maintenance period (PMP), along 1 year.

**Material and Methods:** Sixty-two periodontitis patients (mean age  $50.97 \pm 9.26$ , 40 females, 24 smokers) were treated according to a non-surgical protocol. Ended the therapy, they entered a PMP and were randomly allocated to receive SPG or SPG+SBG interventions. Periodontal exams, oral hygiene instructions, and SPG or SPG+SBG were performed at quarterly appointments. Subgingival biofilm was sampled at baseline, 3, 6 and 12 months. Real-time PCR was used to quantify *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), *Treponema denticola* (*Td*), *Tannerella forsythia* (*Tf*), and Eubacteria domain (*Total bacteria*). Generalized estimating equations were used to estimate treatment effects while accounting for longitudinal evaluation.

**Results:** No inter-groups differences were observed to *Pg*, *Td*, *Tf*, and *Total bacteria* counts over 1 year. However, from 3 months onward, *Pg* and *Tf* counts increased significantly in both groups. *Total bacteria* and *Td* counts were maintained overtime. Still, the mean counts of target species remained at low levels ( $\leq 10^3$ ) throughout the study.

**Conclusions:** The PMP interventions yielded similar microbiological results along time, demonstrating the great impact and importance of SPG during PMP.

(ClinicalTrials.gov #01598155)

## **Clinical Relevance**

***Scientific rationale for study:*** The relevance of enrolling a treated patient in a periodontal maintenance period (PMP) is well recognized; however, no consensus exists on which intervention should be performed to maintain the therapeutic results along time.

***Principal findings:*** No significant differences on microbiological markers were observed in patients following a quarterly PMP based on supragingival scaling alone (SPG) as compared with a combined supra and subgingival scaling protocol. Alongside, the clinical parameters remained stable in both groups.

***Practical implications:*** SPG is an effective intervention to be rendered to patients after periodontal treatment in order to maintain the periodontal health.

## **Acknowledgements**

The authors would like to thank the periodontists Drs. Marina Mendez, Juliane Pereira Butze and Viviane Leal Barbosa for providing the periodontal maintenance interventions along the study. Also, we would like to thank Colgate-Palmolive®, Neumar Instrumentos Cirúrgicos, CNPq, UFRGS, and CAPES for providing the supplies, materials, and financial support for the study.

## **Introduction**

The causal relationship between oral biofilms and periodontal disease is well established in the literature (Page & Kornman 1997). Whereas most of the studies have focused on the role of supragingival biofilms on gingivitis and of the subgingival one on periodontitis, it is also clear that the supragingival biofilm has a great influence on the subgingival environment (Marsh et al. 2011). Illustrating, supragingival biofilm accumulation causes an initial inflammatory responses that increase the gingival crevicular fluid flow, local edema, and bleeding. Besides providing host-defenses components, these alterations propitiate nutrients that are used as metabolic substrates and provide important growth factors for anaerobic and proteolytic bacteria. Additionally, the edema leads to a periodontal probing depth (PPD) increase which is an ideal local for facultative anaerobic bacteria deplete the oxygen and produce carbon/hydrogen dioxides, keeping an anaerobic environment. Also, bacterial metabolism promotes small pH and temperature elevations that are essential to competitiveness and aggressiveness of some species. Hence, is possible a numeric shift of those pathogenic species, which results in an increase on total bacteria load. Consequently, there is a greater challenge to the host, that responds increasing the inflammatory response, retro feeding the process (Marsh 2003, Marsh et al. 2011). Still, this interdependent process supports the supragingival biofilm as a primary source of subgingival microbiota (Socransky & Haffajee 2005).

The enrollment of patients treated for periodontitis in a periodontal maintenance period (PMP) is a cornerstone of modern periodontology, irrespectively of the treatment modality (Ramfjord et al. 1982, Lindhe & Nyman 1984, Ramfjord 1987). Periodontally treated patients who do not follow an established periodontal maintenance protocol are clearly more likely to experience progression of clinical attachment loss (CAL) and tooth loss (Hirschfeld & Wasserman 1978, Axelsson et al. 2004, Fisher et al. 2008, Chambrone et al. 2010). Nevertheless, no consensus exists on which intervention should be rendered to patients during PMP in order to maintain periodontal health. Specifically, it is unclear the need to perform subgingival scaling (SBG) at each appointment (Sanz & Addy 2002, Sanz et al. 2015). Only one study directly compared the effects of SBG against supragingival scaling alone (SPG) during PMP, however just regarding clinical parameters, and showed no significant differences in PPD, bleeding on probing (BOP), and CAL between these interventions (Jenkins et al. 2000). Interestingly, some studies have demonstrated the SPG as an intervention able to determine positive and significant impacts on clinical parameters (Dahlén et al. 1992, Gomes et al. 2007, 2014) and on subgingival microbiota (Smulow et al.

1983, Dahlén et al. 1992, Gomes et al. 2008); however, these investigations were not related to PMP and involved untreated periodontal patients.

Microbiological analysis is a tool to comprehend the periodontal response to treatment protocols, as it illustrates subclinical findings that can identify additional patterns of response (van Winkelhoff 2003). Noteworthy, to the best of knowledge, no study has compared the effects of PMP protocols based on SPG or SBG on subgingival microbiological markers, even though studies on therapy are reported, some of them encompassing longitudinal microbiological evaluation (Ximénez-Fyvie et al. 2000, Haffajee et al. 2001, Ehmke et al. 2005; Valenza et al. 2009).

The aim of this study was to compare the effects of SPG alone against the combined SPG and SBG interventions (SPG+SBG) on the subgingival microbiota from patients during PMP, along 12 months. The hypothesis was that the interventions could promote a similar impact on the microbiological markers over 1 year.

## **Material and Methods**

### ***Study design and sample***

This study was a masked, parallel-design, randomized clinical trial. The Ethics Committee of the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS) approved the research protocol (#18917). All subjects signed an informed consent prior to their inclusion in the study.

Volunteers were recruited from the dental clinic at School of Dentistry, UFRGS, Brazil, between May 2012 and September 2013. Initially, subjects were selected to participate if they were 35 years or older, had  $\geq 12$  teeth present, and had  $\geq 2$  interproximal sites with  $CAL \geq 4$ mm or  $\geq 2$  interproximal sites with  $PPD \geq 5$ mm (Page & Eke 2007). Individuals were not involved if they had any systemic condition that could affect periodontal wound healing (i.e., diabetes mellitus, cardiovascular disease), required antibiotic prophylaxis for dental procedures, had taken antibiotics in previous 3 months, received periodontal treatment in the last 12 months, had fixed orthodontics devices or who were pregnant or nursing, and/or could not comply with the treatment appointments frequencies. The selected individuals were, then, periodontally treated (Figure 1). All the patients that complete the therapy were included in the experimental phase of the study (PMP). During this period, patients were excluded if they could not comply with appointments frequency, developed any systemic condition that might

affect periodontal condition, or showed additional  $CAL \geq 3mm$  between consecutive examinations.

Figure 1 depicts the flowchart and study design. Herein, it is described the results regarding the subjects who were followed-up for 12 months.

#### *Sample size calculation*

The sample size calculation considered the CAL as the primary outcome. A sample size of 25 subjects was estimated to be necessary to detect a mean difference of 0.5mm between groups assuming a power of 80%, significant level of 5%, and standard deviations of 0.76 and 0.44mm (Heasman et al. 2002). A sample size of 30 subjects per groups was established after considering an attrition rate of about 20%.

#### ***Experimental phase***

##### *Randomization*

The interventions delivered during PMP were randomly assigned at day 0/baseline (Figure 1), as follows: 1) SPG; or 2) SPG+SBG. Considering the stratification to self-reported smoking habit, the allocation was performed in blocks of 4 and 6 patients using a web-based randomization program ([www.randomization.com](http://www.randomization.com)). The randomization concealment was assured by using individual opaque envelopes, which were handled, during its implementation, by a periodontist not involved with data collection.

##### *Clinical Intervention*

The PMP started after the conclusion of a non-surgical periodontal therapy (Gomes et al. 2014) (Figure 1). Briefly, after screening examination, the patients were scheduled to start their treatment in the next week. It was initiated by delivering the supragingival debridement (hand instruments), dental polishing, and oral hygiene instructions according to individual needs, once a week for 1 month, for gingivitis treatment. In sequence, 2 periodontists (A.F.S., P.D.M.A.) performed quadrant-wise scaling and root planing (SRP) (hand instruments) under local anesthesia, one quadrant per week, during 1 month, for periodontitis treatment. Ended the therapy, a healing period of 3 months (mean  $96.03 \pm 13.5$  days) was given until the next appointment, which, in turn, was considered the PMP baseline (day 0).

Therefore, starting at day 0, and then at every 3 months, patients received their respective PMP intervention as follows:

- SPG: strict supragingival scaling (i.e.: debridement of any debris/biofilm up to gingival margin with hand instruments), dental polishing, and oral hygiene re-instructions according to individual needs (evaluated by means of VPI and GBI positive sites).
- SPG+SBG: SPG complemented by full-mouth subgingival scaling (i.e.: debridement of subgingival biofilm with hand instruments).

These interventions were provided by 3 periodontists not involved with data collection. Throughout the study, also at every 3 months, regular toothbrushes, interproximal cleaning devices (dental floss, interproximal brushes), and fluoride toothpaste were provided at no costs to patients. Subjects were asked to avoid mouthrinses.

### ***Clinical examination***

Full-mouth exams, at six sites per tooth (mesio-lingual, lingual, disto-lingual, mesio-buccal, buccal, disto-buccal) of all erupted teeth, with exception of third molars, were performed using a North Carolina probe (CP-15mm, Neumar Instrumentos Cirúrgicos, São Paulo, SP, Brazil). The clinical parameters evaluated were Visible Plaque (VPI) and Gingival Bleeding (GBI) indexes (Ainamo & Bay 1975), PPD, BOP (presence or absence), and CAL. PPD and CAL were measured in millimeters, and rounded up to the entire millimeter.

Two calibrated examiners (A.F.S., P.D.M.A.) performed the examinations. Inter and intra-examiner reproducibility was performed by means of 7 repeated exams for both PPD and CAL, previously and during the study. The Intraclass Correlation Coefficients were always greater than 0.90 for intra-examiner, and greater than 0.80 for inter-examiners calibration. The examiners were not involved with the interventions provided during PMP.

### ***Microbiological sampling and analysis***

#### ***Subgingival biofilm sampling***

In brief, supragingival biofilm was carefully removed, and the selected teeth were gently washed, dried, and isolated with cotton rolls. A sterilized paper point (#30, Tanari®, Manaus, MA, Brazil) was then introduced inside the crevice for 30 seconds. The sites submitted to the subgingival sampling were those 4 sites that, before treatment, showed the greatest PPD values (preferably  $PPD \geq 5$ mm, CAL +, BOP +, 1 site per quadrant). The paper points were pooled together in a sterilized tube (rendering a total of 247 samples), and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until the microbiological analysis. The same examiners that performed the clinical examinations conducted the biofilm sampling.

### *Microbiological analysis*

Samples were suspended in 100 $\mu$ L of distilled ultra-pure water (Gibco®, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA) and vortexed for 10 minutes. DNA isolation was carried using a commercial kit (QIAAMP DNA Mini Kit, Qiagen, Hilden, Germany), following the manufacturer's instructions. Real-Time Polymerase Chain Reaction (PCR) technique was applied to absolute quantification of bacterial species *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), *Tannerella forsythia* (*Tf*), *Treponema denticola* (*Td*), and Eubacteria domain (*Total bacteria*). The primers and probes used are shown in Box 1. These primers and probes sequences were previously validated (*Total bacteria*: Shelburne et al. 2000; *Pg* and *Tf*: Kuboniwa et al. 2004; *Td*: Amodini Rajakaruna et al. 2012).

Bacterial quantification was based on standard curves constructed for each species by using synthesized specie-specific amplicons (DNA oligonucleotides; Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific Inc.) Briefly, amplicons sequences based on respective bacterial 16SrRNA gene were obtained at GenBank® (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>). Then, following determination of the initial number of copies of each synthesized amplicon by means a math formula [concentration ( $\mu$ g/ $\mu$ L) \*  $6.02 \cdot 10^{23}$  / molecular weight] (Applied Biosystems®, Thermo Fisher Scientific Inc.) (Bustin et al. 2009, Kavlick et al. 2011), ten-fold serial dilutions ( $2 \cdot 10^7$  to  $2 \cdot 10^1$ ) of each amplicon were prepared and run in duplicated to generate the cycle thresholds (Ct) for standard curves (Appendix 1).

Real-time PCR amplification was performed in a total reaction mixture volume of 25 $\mu$ L, containing: 6.25 $\mu$ L of 2x TaqMan Universal PCR Master Mix (Invitrogen™), 0.5 $\mu$ L of 200-nM forward and reverse primers and 200-nM probe (Invitrogen™), 12.25 $\mu$ L of distilled ultra-pure water, and 5 $\mu$ L of DNA template. No-template control consisted of 5 $\mu$ L of water. Positive control was a pool of subgingival biofilm collected from several patients with untreated periodontitis. The cycle conditions applied were: 50°C for 2 minutes, 95°C for 10 minutes, followed by 40 cycles at 95°C for 15 seconds and 60°C for 1 minute. StepOne Plus machine (Applied Biosystems®) was used to monitor the amplification. Samples were run in duplicate and in a random sequence, in a total of 1,976 samples-reactions.

### *Statistical analysis*

Clinical data was analyzed using parametric and non-parametric tests. Baseline data was compared between experimental groups using independent t-test, chi-square test and Mann-Whitney test. Longitudinal clinical data was analyzed using generalized estimating equations

and unstructured correlation. Quasi-likelihood under the independence model criterion method was used for model-selection including the correlation structure (Pan 2001).

Bacteria count data did not follow a normal distribution. Bacteria counts were presented using box-plots. Crude and adjusted generalized estimating equations were used to estimate treatment effects while accounting for the longitudinal nature of the study. Bacteria counts were rank-transformed and the quasi-likelihood under the independence model criterion method was also here used for model-selection including the correlation structure (Pan 2001). An exchangeable correlation structure was used. Bacteria samples were available for the microbiological analysis for all but one participant for the 12 months interval. A last observation carried forward strategy was used for the missing data. The individual was considered the unit of analysis, and the significant level was set at 5%. The analyses were performed using the statistical package STATA v.10.1 (Stata Corporation, College Station, Texas, US).

## Results

Sixty-one patients completed the 1-year follow-up (Figure 1). At baseline, no significant differences were observed between experimental groups for any variables, except for PPD that was greater at SPG as compared with SPG+SBG group (Table 1). During PMP, the interventions promoted similar impact on full-mouth clinical parameters, without significant intra and inter-groups differences (Appendix 2).

The longitudinal behavior of clinical parameters on sampled sites is presented in Table 2. The VPI levels rendered stability in clinical signs of gingivitis, as showed by the low GBI scores, and without intra and inter-groups differences along 1 year. Similarly, the PPD and CAL values did not differ overtime and inter-groups. The BOP presented a trend ( $p=0.05$ ) to be greater for SPG+SBG as compared with SPG, at baseline. However, it slowed down at 3 months and reached stability.

Results for the generalized estimating equations of bacteria counts are presented in Table 3. No significant differences between experimental groups were observed for *Total bacteria*, *Pg*, *Td* and *Tf* after accounting for follow-up time. A significant increase in bacteria counts was observed for *Pg* and *Tf* overtime, irrespective of the experimental groups. Similar, although not statistically significant, trends were observed for *Total bacteria* and *Td*.

Figure 2 shows the box-plots for bacteria counts. Despite the increases observed overtime, the mean counts for the target species evaluated were not up than  $10^3$  along the

study period. The median and 25% - 75% percentiles values corroborate these results (Appendix 3).

## Discussion

This investigation aimed to compare the effects of SPG as a PMP protocol, against the SPG+SBG, on subgingival microbiota. No significant differences on microbiological markers were observed between the interventions along 1 year. Although some bacterial rebound could be observed, especially for *Pg* and *Tf* species, the counts still remained at low levels, and were not accompanied by signs of clinical deterioration. These results confirm the study hypothesis, and suggest the SPG as a PMP intervention able to maintain the periodontal health.

Is intriguing that until now does not exist a consensus on which interventions should be performed during PMP in order to maintain the periodontal health. Since the earliest European Workshops on Periodontology, it has been stressed the need of new studies addressing the overall effects of performing SBG at each appointment (Sanz & Addy 2002, Sanz et al. 2015). To the best of knowledge, this is the first investigation to compare the SPG against SPG+SBG, as PMP protocols, regarding subgingival microbiological aspects. Collectively, the clinical and microbiological findings can improve the comprehension of the effects of PMP interventions (van Winkelhoff 2003). Particularly, the SPG effect endorses the interdependent process between supra/subgingival biofilms and host-response (Marsh 2003, Marsh et al. 2011). Once periodontitis has been successfully treated, the continuous disruption of the supragingival biofilm probably limits the recolonization by avoid the reestablishment of adequate nutritional, respiratory and environmental conditions to the growth and perpetuation of a subgingival microbiota. Consequently, the retro feeding process does not occur. This assumption encounters feedback at the literature. Some authors, assuming this plausibility, have already tried to demonstrate the impacts of SPG on subgingival microbiota during PMP (Ximénez-Fyvie et al. 2000, Ehmke et al. 2005). In these studies, however, subgingival interventions were also delivered overtime making the interpretation of the effect of each intervention difficult. Besides, these studies did not have PMP comparison groups, as they were long-term evaluations of periodontal therapies. Similar limitations can be observed in others investigations (Haffajee et al. 2001, Valenza et al. 2009).

Herein, along 1 year, no inter-groups differences were observed regarding bacterial counts, nor for target species, neither regarding *Total bacteria* counts. This result is

interesting as it shows the same benefits, when comparing the interventions, to promote periodontal stability. On the other hand, despite of an overall stability for *Total bacteria* and *Td*, a significant increase in *Pg* and *Tf* counts could be observed overtime, for both groups. Somewhat similar findings had already been reported by others investigations, that, however, only performed the SPG+SBG during PMP. Using checkerboard DNA-DNA hybridization, Ximenez-Fyvie et al. (2000) monitored, along 12 months, periodontally treated patients that have received a new set of SRP and weekly supragingival control for 3 months, and then were enrolled in PMP with SPG+SBG. The results showed that mean % DNA probe counts for the “red complex” decreased 3 months after initial therapy, and then presented a trend to increase overtime. Ehmke et al. (2005) conducted a 2-year investigation where patients were previously treated by SRP alone or with systemic antibiotics, and then enrolled in a SPG+SBG PMP. Using conventional PCR, the authors demonstrated a transient reduction on detection frequencies of *Pg*, *Td*, *Tf* and others species at 3/6 months after initial therapy, followed by slight increase thereafter. Lastly, using the 16SrRNA gene sequencing, Valenza et al. (2009) monitored, along 1 year, periodontitis patients that were treated by 1-day full-mouth supra/subgingival debridement plus systemic antibiotics, and that, then, received quarterly SPG+SBG. These authors reported that despite the positive treatment impact in all bacterial genera evaluated, a rebound was observed for *Pg* and *Treponema* sp. at 12 months. Still, in those investigations the rebounds never reached the baseline values and, besides, were considered by the authors yet at low levels as remained lower or at  $10^5$  counts.

Besides, since the study by Socransky et al. (1998) that characterized the subgingival bacterial complexes with supposing major roles in periodontal health or disease, several studies have tried to determine the risk of disease progression based on the presence/absence of periodontopathogens. Just more recently an investigation correlated the bacterial counts with periodontal conditions, as well as to future risk (Charalampakis et al. 2013). In that study, by using DNA–DNA hybridization, two different cut-off levels were applied to bacteria species at each site: counts  $\leq 10^5$ , meaning a non- or less heavily colonized site; counts  $> 10^5$ , meaning a heavily colonized site. The results showed that counts  $\leq 10^5$  for one or more specie was not associated with periodontitis, but instead correlated to healthy/gingivitis. Otherwise, counts  $> 10^5$  for one or more species was a nonspecific marker to identify disease. It was also revealed that the “red complex” cluster could not exclusively explain cases of periodontitis, since other clusters could equally well identify diseased sites. Timely, if those cut-off levels were applied to the present investigation, the mean counts of the target species might be assumed as being always at low levels throughout the study, irrespective of the

rebounds observed. Notwithstanding, these results support the assumption that the presence of a pathogen is not a sufficient cause for disease (Riep et al. 2009).

Finally, given microbiological and clinical results, it may be surmised that if a specie-specific bacterial counts increase is not associated with clinical changes, especially further PPD increases, this specific rebound can be a physical process of re-organization of the subgingival environment, after being dramatically changed by the initial therapy (Socransky et al. 2013). Additionally, following the restructuring of subgingival microbiota, a longer-term shift in the ecosystem can lead to a new climax community that might be stable for years to decades, especially if a effective PMP is established (Teles et al. 2008). In this scenario, a longer follow-up period is necessary to confirm the microbiological process that take place during PMP, and that here just seems to start, and its clinical implications (Tonetti et al. 1998).

It could be argued that the use of real-time PCR technique represents a limitation of the present study, as a few number of microorganisms can be identified, as compared to other tests, like DNA-DNA hybridization that simultaneously evaluates 40 bacteria. However, while dealing with treated patients, especially when they can present low bacteria counts, as expected in PMP, the sensibility is a more important issue. Methods as the DNA-DNA hybridization can give the idea of eradication when, in fact, it presents a high cut-off to identify bacteria, usually  $10^5$  counts (Valasek & Repa 2005). The concept of eradication impinges the concept of dental biofilms and oral microbiota. In opposition, the strengths of the study are the study design, standardization of procedures and the fact that all patients have received the same non-surgical therapy protocol. Besides that, the results observed shows not only that the study therapy protocols were valid, but also that the randomization process was adequate.

In conclusion, the PMP interventions were able to similarly and importantly influence the subgingival area. Furthermore, despite an increase in some bacterial counts have been observed overtime, for both groups, the counts remained always at low levels, and did not represent changes in clinical parameters. Taking together, these results infer that repeated subgingival interventions during PMP did not involve additional microbiological benefits to patients. Therefore, a quarterly PMP based on SPG can be an effective intervention to maintain the periodontal health overtime.

## References

- Ainamo, J. & Bay, I. (1975) Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *International Dental Journal* **25**, 229-235.
- Amodini Rajakaruna, G., Umeda, M., Uchida, K., Furukawa, A., Yuan, B., Suzuki, Y., Noriko, E., Izumi, Y. & Eishi, Y. (2012) Possible translocation of periodontal pathogens into the lymph nodes draining the oral cavity. *Journal of Microbiology* **50**, 827-836.
- Axelsson, P., Nyström, B. & Lindhe, J. (2004) 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.
- Bustin, S. A., Benes, V., Garson, J. A., Hellems, J., Huggett, J., Kubista, M., Mueller, R., Nolan, T., Pfaffl, M. W., Shipley, G. L., Vandesompele, J. & Wittwer, C. T. (2009) The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clinical Chemistry* **55**, 611-622.
- Chambrone, L., Chambrone, D., Lima, L. A. & Chambrone, L. A. (2010) Predictors of tooth loss during long-term periodontal maintenance: a systematic review of observational studies. *Journal of Clinical Periodontology* **37**, 675-684.
- Charalampakis, G., Dahlen, G., Carlen, A. & Leonhardt, A. (2013) Bacterial markers vs. clinical markers to predict progression of chronic periodontitis: a 2-yr prospective observational study. *European Journal of Oral Sciences* **121**, 394-402.
- Dahlén, G., Lindhe, J., Sato, K., Hanamura, H. & Okamoto, H. (1992) The effect of supragingival plaque control on the subgingival microbiota in subjects with periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* **19**, 802-809.
- Ehmke, B., Moter, A., Beikler, T., Milian, E. & Flemmig, T. F. (2005) Adjunctive antimicrobial therapy of periodontitis: long-term effects on disease progression and oral colonization. *Journal of Periodontology* **76**, 749-759.
- Fisher, S., Kells, L., Picard, J. P., Gelskey, S. C., Singer, D. L., Lix, L. & Scott, D. A. (2008) Progression of periodontal disease in a maintenance population of smokers and non-smokers: a 3-year longitudinal study. *Journal of Periodontology* **79**, 461-468.
- Gomes, S. C., Piccinin, F. B., Susin, C., Oppermann, R. V. & Marcantonio, R. A. (2007) Effect of supragingival plaque control in smokers and never-smokers: 6-month evaluation of patients with periodontitis. *Journal of Periodontology* **78**, 1515-1521.
- Gomes, S. C., Nonnenmacher, C., Susin, C., Oppermann, R. V., Mutters, R. & Marcantonio, R. A. (2008) The effect of a supragingival plaque-control regimen on the subgingival

- microbiota in smokers and never-smokers: evaluation by real-time polymerase chain reaction. *Journal of Periodontology* **79**, 2297-2304.
- Gomes, S. C., Romagna, R., Rossi, V., Corvello, P. C. & Angst, P. D. (2014) Supragingival treatment as an aid to reduce subgingival needs: a 450-day investigation. *Brazilian Oral Research* **28**.
- Haffajee, A. D., Smith, C., Torresyap, G., Thompson, M., Guerrero, D. & Socransky, S. S. (2001) Efficacy of manual and powered toothbrushes (II). Effect on microbiological parameters. *Journal of Clinical Periodontology* **28**, 947-954.
- Heasman, P. A., McCracken, G. I. & Steen, N. (2002) Supportive periodontal care: the effect of periodic subgingival debridement compared with supragingival prophylaxis with respect to clinical outcomes. *Journal of Clinical Periodontology* **29** (Suppl 3), 163-172; discussion 195-166.
- Hirschfeld, L. & Wasserman, B. (1978) A long-term survey of tooth loss in 600 treated periodontal patients. *Journal of Periodontology* **49**, 225-237.
- Jenkins, W. M., Said, S. H., Radvar, M. & Kinane, D. F. (2000) Effect of subgingival scaling during supportive therapy. *Journal of Clinical Periodontology* **27**, 590-596.
- Kavlick, M. F., Lawrence, H. S., Merritt, R. T., Fisher, C., Isenberg, A., Robertson, J. M. & Budowle, B. (2011) Quantification of human mitochondrial DNA using synthesized DNA standards. *Journal of Forensic Sciences* **56**, 1457-1463.
- Kuboniwa, M., Amano, A., Kimura, K. R., Sekine, S., Kato, S., Yamamoto, Y., Okahashi, N., Iida, T. & Shizukuishi, S. (2004) Quantitative detection of periodontal pathogens using real-time polymerase chain reaction with TaqMan probes. *Oral Microbiology and Immunology* **19**, 168-176.
- Lindhe, J. & Nyman, S. (1984) Long-term maintenance of patients treated for advanced periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* **11**, 504-514.
- Marsh, P. D. (2003) Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology* **149**, 279-294.
- Marsh, P. D., Moter, A. & Devine, D. A. (2011) Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. *Periodontology 2000* **55**, 16-35.
- Page, R. C. & Eke, P. I. (2007) Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *Journal of Periodontology* **78**, 1387-1399.
- Page, R. C. & Kornman, K. S. (1997) The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology 2000* **14**, 9-11.

- Pan, W. (2001) Akaike's information criterion in generalized estimating equations. *Biometrics* **57**, 120-125.
- Ramfjord, S. P. (1987) Maintenance care for treated periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology* **14**, 433-437.
- Ramfjord, S. P., Morrison, E. C., Burgett, F. G., Nissle, R. R., Shick, R. A., Zann, G. J. & Knowles, J. W. (1982) Oral hygiene and maintenance of periodontal support. *Journal of Periodontology* **53**, 26-30.
- Riep, B., Edesi-Neuss, L., Claessen, F., Skarabis, H., Ehmke, B., Flemmig, T. F., Bernimoulin, J. P., Gobel, U. B. & Moter, A. (2009) Are putative periodontal pathogens reliable diagnostic markers? *Journal of Clinical Microbiology* **47**, 1705-1711.
- Sanz, M. & Addy, M. (2002) Group D summary. *Journal of Clinical Periodontology* **29**, 195-196.
- Sanz, M., Bäumer, A., Buduneli, N., Dommisch, H., Farina, R., Kononen, E., Linden, G., Meyle, J., Preshaw, P. M., Quirynen, M., Roldan, S., Sanchez, N., Sculean, A., Slot, D. E., Trombelli, L., West, N. & Winkel, E. (2015) Effect of professional mechanical plaque removal on secondary prevention of periodontitis and the complications of gingival and periodontal preventive measures: Consensus report of group 4 of the 11(th) European Workshop on Periodontology on effective prevention of periodontal and peri-implant diseases. *Journal of Clinical Periodontology* **42** (Suppl 16), S214-220.
- Shelburne, C. E., Prabhu, A., Gleason, R. M., Mullally, B. H. & Coulter, W. A. (2000) Quantitation of *Bacteroides forsythus* in subgingival plaque comparison of immunoassay and quantitative polymerase chain reaction. *Journal of Microbiological Methods* **39**, 97-107.
- Smulow, J. B., Turesky, S. S. & Hill, R. G. (1983) The effect of supragingival plaque removal on anaerobic bacteria deep periodontal pockets. *Journal of the American Dental Association* **107**, 737-742.
- Socransky, S. S. & Haffajee, A. D. (2005) Periodontal microbial ecology. *Periodontology 2000* **38**, 135-187.
- Socransky, S. S., Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Smith, C. & Kent, R. L., Jr. (1998) Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of Clinical Periodontology* **25**, 134-144.

- Socransky, S. S., Haffajee, A. D., Teles, R., Wennstrom, J. L., Lindhe, J., Bogren, A., Hasturk, H., van Dyke, T., Wang, X. & Goodson, J. M. (2013) Effect of periodontal therapy on the subgingival microbiota over a 2-year monitoring period. I. Overall effect and kinetics of change. *Journal of Clinical Periodontology* **40**, 771-780.
- Teles, R. P., Patel, M., Socransky, S. S. & Haffajee, A. D. (2008) Disease progression in periodontally healthy and maintenance subjects. *Journal of Periodontology* **79**, 784-794.
- Tonetti, M. S., Muller-Campanile, V. & Lang, N. P. (1998) Changes in the prevalence of residual pockets and tooth loss in treated periodontal patients during a supportive maintenance care program. *Journal of Clinical Periodontology* **25**, 1008-1016.
- Valasek, M. A. & Repa, J. J. (2005) The power of real-time PCR. *Advances in Physiology Education* **29**, 151-159.
- Valenza, G., Veihelmann, S., Peplies, J., Tichy, D., Roldan-Pareja Mdel, C., Schlagenhaut, U. & Vogel, U. (2009) Microbial changes in periodontitis successfully treated by mechanical plaque removal and systemic amoxicillin and metronidazole. *International Journal of Medicinal Microbiology* **299**, 427-438.
- van Winkelhoff, A. J. (2003) Microbiology in diagnosis and treatment planning in periodontics. *International Journal of Dental Hygiene* **1**, 131-137.
- Ximénez-Fyvie, L. A., Haffajee, A. D., Som, S., Thompson, M., Torresyap, G. & Socransky, S. S. (2000) The effect of repeated professional supragingival plaque removal on the composition of the supra- and subgingival microbiota. *Journal of Clinical Periodontology* **27**, 637-647.

**Box 1.** Real-time Polymerase Chain Reaction (PCR) primers and probes sequences.

Primers/ (ATCC® strain)	Probes	Sequences (5' to 3')	Amplicon size (bp)	GenBank® accession number
<b>Total bacteria</b>			86	NR_074891.1*
Forward		CCATGAAGTCGGAATCGCTAG		
Reverse		GCTTGACGGGGGTGT		
Probe		FAM-TACAAGGCCCGGAAACGTATTCACCG-TAMRA		
<b>Pg (33277)</b>			83	L16492.1
Forward		ACCTTACCCGGGATTGAAATG		
Reverse		CAACCATGCAGCACCTACATAGAA		
Probe		FAM-ATGACTGATGGTGAAACCGTCTCCCTTC-TAMRA		
<b>Td (33520)</b>			96	AF139204.1
Forward		AACGGTAAGGGAGAGCTTGCT		
Reverse		ATATTTCTACTAGCTATCCCATCTTCAG		
Probe		FAM-TCCCCTAGAGTGGCGGACTGGTGA-TAMRA		
<b>Tf (43037)</b>			88	NR_040839.1
Forward		AGCGATGGTAGCAATACCTGTC		
Reverse		TTCGCCGGGTTATCCCTC		
Probe		FAM-TGAGTAACGCCGTATGTAACCTGCCCGC-TAMRA		

\* *E. coli* sequence was used for *Total bacteria* primers, probes and amplicons; *Pg* - *Porphyromonas gingivalis*; *Td* - *Treponema denticola*; *Tf*

*Tannerella forsythia*.

**Table 1.** Sample characteristics at Periodontal Maintenance Period baseline.

	SPG (n = 31)	SPG+SBG (n = 31)	p-value
<b>Demographics, socioeconomic and behavioral variables</b>			
Age (years; mean $\pm$ SD)*	52.71 $\pm$ 8.66	49.23 $\pm$ 9.72	0.14
Gender (Male / Female)**	13/18	09/22	0.29
Smoking status (Smokers/ Non-smokers)**	12/19	12/19	0.99
Cigarettes/day*	12.08 $\pm$ 6.86	16.67 $\pm$ 11.6	0.25
Years of habit*	24.75 $\pm$ 11.89	20.3 $\pm$ 11.0	0.35
<b>Full-mouth clinical parameters (mean <math>\pm</math> SD)</b>			
VPI (%)***	26.16 $\pm$ 14.59	24.18 $\pm$ 12.96	0.54
GBI (%)***	06.77 $\pm$ 07.09	06.63 $\pm$ 08.13	0.69
BOP (%)***	17.21 $\pm$ 07.79	18.29 $\pm$ 07.61	0.38
PPD (mm)*	2.32 $\pm$ 0.33	2.10 $\pm$ 0.41	0.03
CAL (mm)*	3.15 $\pm$ 1.13	3.08 $\pm$ 0.89	0.77
N teeth*	20.81 $\pm$ 4.93	21.29 $\pm$ 4.38	0.68
<b>Clinical parameters on sampled sites (mean <math>\pm</math> SD)</b>			
VPI (%)***	41.94 $\pm$ 29.15	31.45 $\pm$ 25.79	0.15
GBI (%)***	11.29 $\pm$ 15.60	08.06 $\pm$ 16.31	0.25
BOP (%)***	28.23 $\pm$ 22.12	41.94 $\pm$ 27.68	0.05
PPD (mm)*	3.46 $\pm$ 0.70	3.23 $\pm$ 0.67	0.19
CAL (mm)*	4.40 $\pm$ 1.12	4.23 $\pm$ 1.14	0.54

SPG - supragingival scaling; SPG+SBG - supra and subgingival scaling; SD - standard deviation; VPI - visible plaque index; GBI - gingival bleeding index; BOP - bleeding on probing; PPD - periodontal probing depth; CAL - clinical attachment loss; \*Independent t-test; \*\*chi-square test; \*\*\*Mann-Whitney test.

**Table 2.** Clinical parameters on sampled sites according to experimental groups and time.\*

	Baseline			3 months			6 months			12 months		
	SPG	SPG+SBG	SPG	SPG+SBG	SPG	SPG+SBG	SPG	SPG+SBG	SPG	SPG+SBG	SPG	SPG+SBG
VPI (%)	41.94 ± 29.15	31.45 ± 25.79	41.94 ± 28.42	34.68 ± 30.05	35.48 ± 32.77	36.29 ± 28.75	33.87 ± 30.65	37.10 ± 32.19	0.64			
GBI (%)	11.29 ± 15.60	08.06 ± 16.31	08.87 ± 13.77	12.10 ± 19.23	11.29 ± 18.07	09.68 ± 22.06	04.84 ± 10.04	03.23 ± 10.69	0.69			
BOP (%)	28.23 ± 22.12	41.94 ± 27.68	29.03 ± 21.50	27.42 ± 22.69	16.94 ± 17.54	24.19 ± 25.40	17.74 ± 18.48	22.58 ± 23.59	0.08			
PPD (mm)	3.46 ± 0.70	3.23 ± 0.67	3.16 ± 0.77	3.02 ± 0.78	3.23 ± 0.84	2.93 ± 0.61	3.12 ± 0.83	3.00 ± 0.76	0.19			
CAL (mm)	4.40 ± 1.12	4.23 ± 1.14	4.29 ± 1.27	4.00 ± 1.14	4.28 ± 1.15	4.06 ± 1.12	4.34 ± 1.10	4.15 ± 1.06	0.51			

\*mean ± standard deviation; SPG - supragingival scaling (n = 31); SPG+SBG - supra and subgingival scaling (n = 31); SD - standard deviation;

VPI - visible plaque index; GBI - gingival bleeding index; BOP - bleeding on probing; PPD - periodontal probing depth; CAL - clinical attachment loss; <sup>†</sup> p-value for comparison between experimental groups adjusted for follow-up using generalized estimating equations.

**Table 3.** Generalized estimating equations for the effect of PMP interventions and time on bacteria counts.

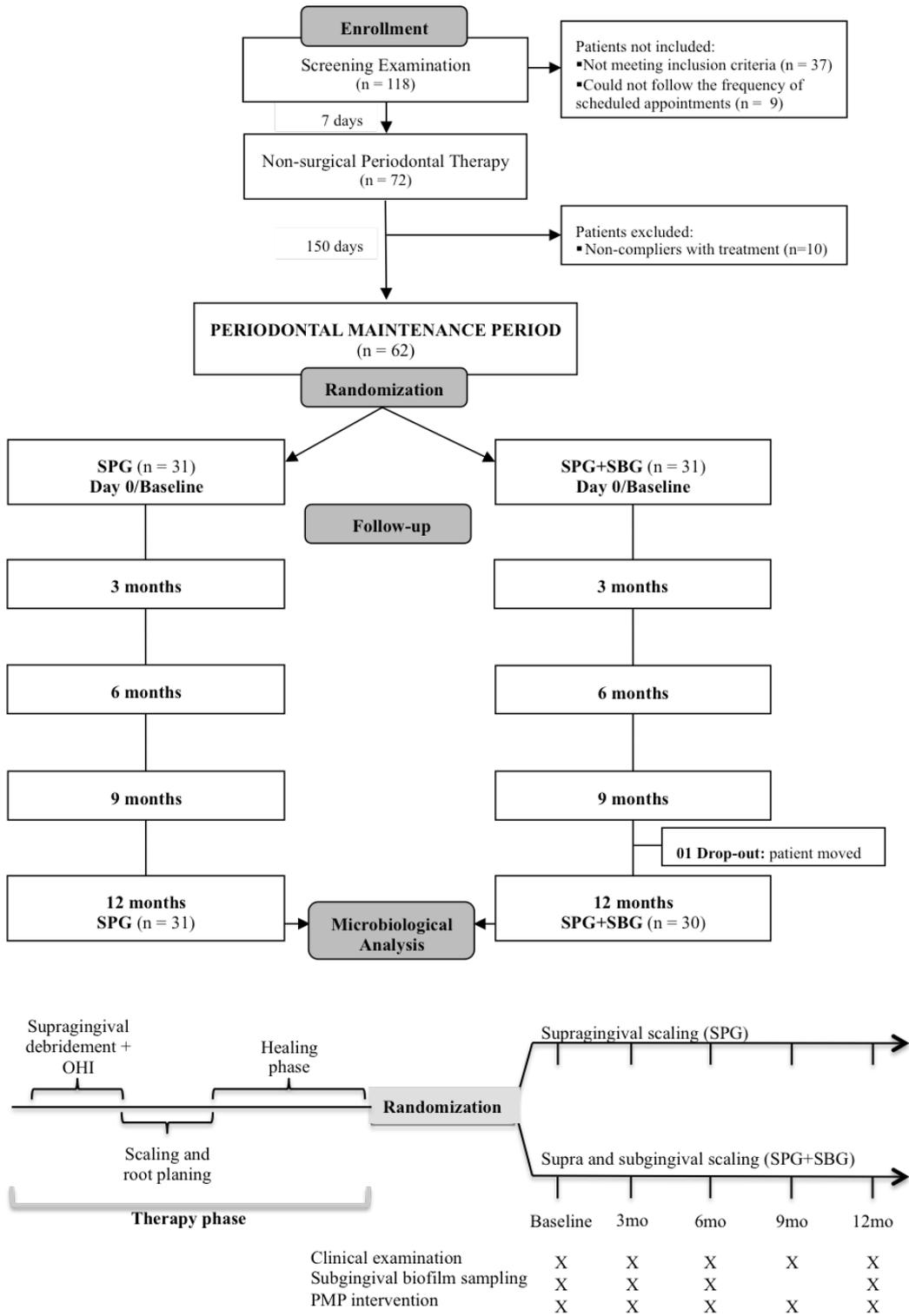
	<i>Total bacteria</i>			<i>Pg</i>			<i>Td</i>			<i>Tf</i>		
	Coef ± SE	p-value	Ref	Coef ± SE	p-value	Ref	Coef ± SE	p-value	Ref	Coef ± SE	p-value	Ref
<b>SPG</b>	Ref			Ref			Ref			Ref		
<b>SPG+SBG</b>	11.82 ± 11.86	0.319	0.319	08.00 ± 14.85	0.590	0.590	20.29 ± 15.53	0.191	0.191	08.26 ± 13.00	0.525	0.525
<b>Baseline</b>	Ref			Ref			Ref			Ref		
<b>3 months</b>	-08.00 ± 10.87	0.462	0.462	17.76 ± 06.42	0.006	0.006	04.87 ± 07.11	0.493	0.493	17.95 ± 08.68	0.039	0.039
<b>6 months</b>	25.90 ± 10.87	0.017	0.017	20.50 ± 06.42	0.001	0.001	10.83 ± 07.11	0.128	0.128	57.71 ± 08.68	<0.001	<0.001
<b>12 months</b>	10.75 ± 10.87	0.323	0.323	21.61 ± 06.42	0.001	0.001	13.07 ± 07.11	0.066	0.066	54.91 ± 08.68	<0.001	<0.001

*Pg* - *Porphyromonas gingivalis*; *Td* - *Treponema denticola*; *Tf* - *Tannerella forsythia*; SPG - supragingival scaling (n = 31); SPG+SBG - supra and subgingival scaling (n = 31); Coef - coefficient; Ref - reference; SE - standard error.

**Figure legends**

**Figure 1.** Flowchart and study design.

**Figure 2.** Box-plots of bacteria counts according the experimental groups and time.



**Figure 1.** Flowchart and study design.

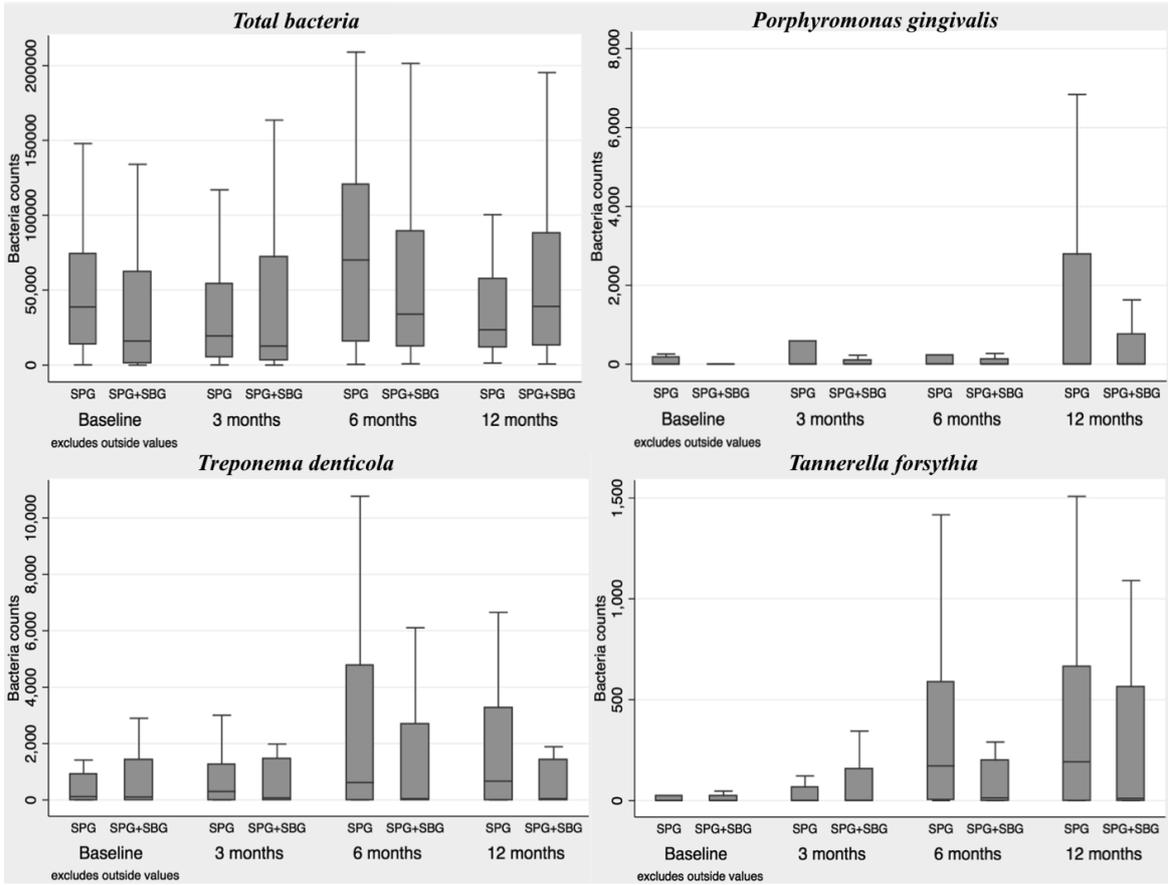


Figure 2. Box-plots of bacteria counts according the experimental groups and time.

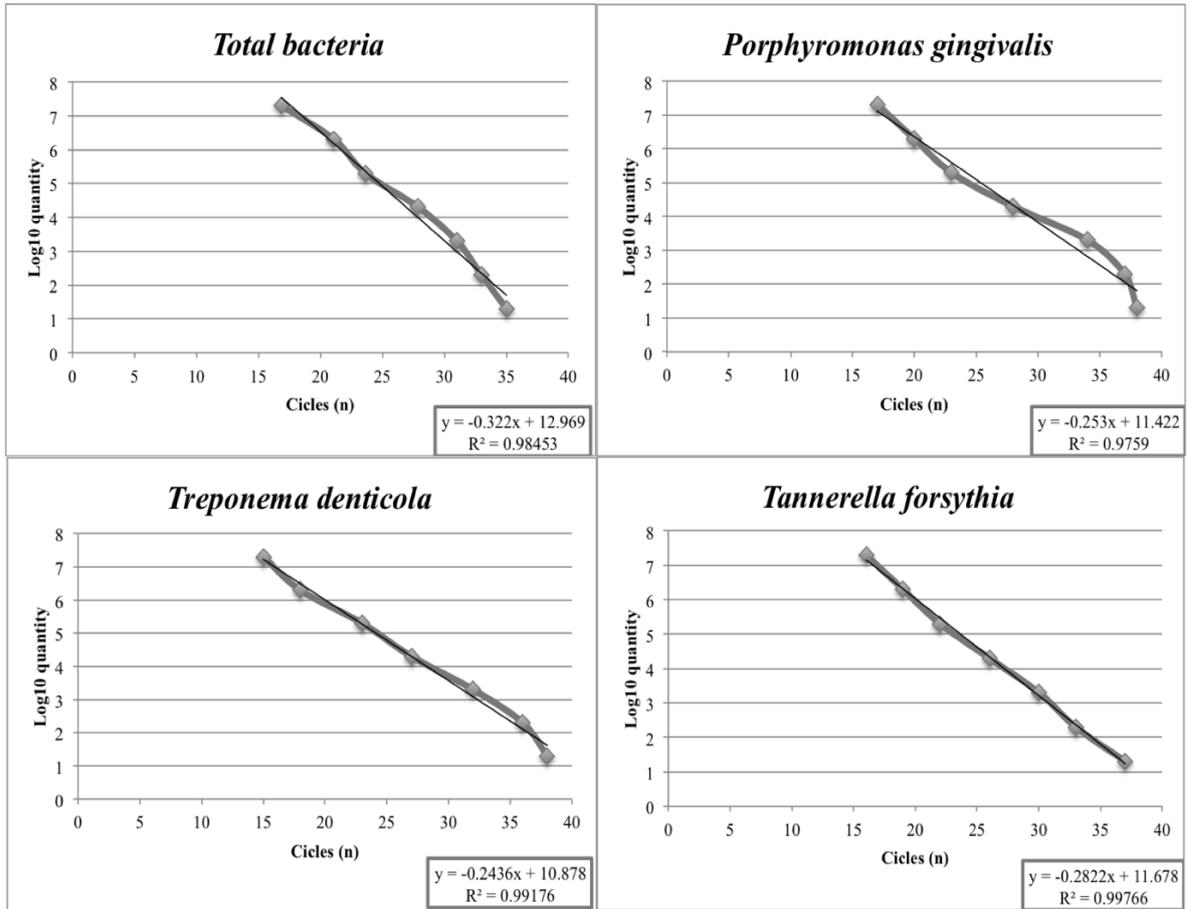
**Supplementary files**

**Appendix 1.** Real-time PCR standard curves for each bacterial species evaluated in the study.

**Appendix 2.** Full-mouth clinical parameters according to experimental groups and time.\*

**Appendix 3.** Bacteria counts according to experimental groups and time.\*

**Appendix 4.** CONSORT Checklist.\*



**Appendix 1.** Real-time PCR standard curves for each bacterial species evaluated in the study.

**Appendix 2.** Full-mouth clinical parameters according to experimental groups and time.\*

	Baseline			3 months			6 months			12 months			p-value <sup>†</sup>
	SPG	SPG+SBG	SPG	SPG	SPG+SBG	SPG	SPG	SPG+SBG	SPG	SPG	SPG+SBG	SPG	
VPI (%)	26.16 ± 14.59	24.18 ± 12.96	27.27 ± 18.45	23.76 ± 16.08	23.96 ± 19.47	23.96 ± 19.47	23.09 ± 15.56	22.09 ± 19.46	22.15 ± 17.54	0.63			
GBI (%)	06.77 ± 07.09	06.63 ± 08.13	07.11 ± 05.81	06.51 ± 07.41	05.57 ± 07.96	08.23 ± 08.93	05.02 ± 05.16	05.41 ± 05.46	0.98				
BOP (%)	17.21 ± 07.79	18.29 ± 07.61	16.50 ± 08.61	17.40 ± 08.52	14.75 ± 07.92	16.43 ± 09.67	11.99 ± 08.26	14.36 ± 10.28	0.37				
PPD (mm)	2.32 ± 0.33	2.10 ± 0.41	2.26 ± 0.32	2.16 ± 0.31	2.22 ± 0.32	2.09 ± 0.29	2.14 ± 0.36	2.06 ± 0.41	0.08				
CAL (mm)	3.15 ± 1.13	3.08 ± 0.89	3.13 ± 1.03	3.09 ± 0.88	3.17 ± 1.00	3.09 ± 0.85	3.20 ± 0.93	3.17 ± 0.78	0.83				

\*mean ± standard deviation; SPG - supragingival scaling (n = 31); SPG+SBG - supra and subgingival scaling (n = 31); SD - standard deviation;

VPI - visible plaque index; GBI - gingival bleeding index; BOP - bleeding on probing; PPD - periodontal probing depth; CAL - clinical attachment loss; <sup>†</sup> p-value for comparison between experimental groups adjusted for follow-up using generalized estimating equations.

**Appendix 3.** Bacteria counts according to experimental groups and time.\*

	Baseline	3 months	6 months	12 months
<b>Total</b>				
<b>SPG</b>	53,384 ± 53,142	46,831 ± 60,830	89,121 ± 90,822	47,880 ± 63,671
<b>bacteria</b>	[38,751; 13,896 - 74,222]	[19,396; 5,347 -54,077]	[70,060; 15,518 - 120,114]	[23,504; 11,771 - 57,461]
<b>SPG+SBG</b>	48,782 ± 76,808	41,116 ± 50,454	106,353 ± 293,952	52,621 ± 49,481
	[16,040; 1,327 - 62,244]	[12,682; 3,184 - 71,897]	[33,962; 12,420 - 89,389]	[39,117; 12,987 - 88,033]
<b>Pg</b>				
<b>SPG</b>	920 ± 3,128	2,954 ± 6,507	2,059 ± 5,297	2,955 ± 10,144
	[0; 0 - 162]	[1; 0 - 580]	[7; 0 - 214]	[4; 0 - 2,771]
<b>SPG+SBG</b>	1,802 ± 7,299	1,060 ± 2,742	3,066 ± 11,285	1,684 ± 4,493
	[0; 0 - 3]	[1; 0 - 95]	[0; 0 - 119]	[1; 0 - 759]
<b>Td</b>				
<b>SPG</b>	1,147 ± 2,312	1,778 ± 2,938	2,950 ± 4,433	2,954 ± 4,944
	[118; 1 - 920]	[303; 4 - 1,272]	[619; 3 - 4,760]	[666; 3 - 3,262]
<b>SPG+SBG</b>	956 ± 2,179	1,340 ± 2,738	1,898 ± 4,080	3,323 ± 7,310
	[105; 0 - 1,428]	[74; 0 - 1,470]	[48; 0 - 2,692]	[49; 0 - 1,437]
<b>Tf</b>				
<b>SPG</b>	75 ± 207	211 ± 508	359 ± 476	631 ± 1,203
	[0; 0 - 22]	[1; 0 - 65]	[172; 4 - 589]	[192; 1 - 665]
<b>SPG+SBG</b>	85 ± 249	283 ± 724	494 ± 1,338	535 ± 1,198
	[0; 0 - 23]	[1; 0 - 157]	[14; 1 - 198]	[11; 0 - 562]

\* mean ± standard deviation [median; 25% - 75% percentiles]; *Pg* - *Porphyromonas gingivalis*; *Td* - *Treponema denticola*; *Tf* - *Tannerella forsythia*; *SPG* - supragingival scaling (n = 31); *SPG+SBG* - supra and subgingival scaling (n = 31).

#### Appendix 4. CONSORT Checklist.\*

Section/Topic	Item No	Checklist item	Reported on page No
<b>Title and abstract</b>			
	1a	Identification as a randomised trial in the title	Yes
	1b	Structured summary of trial design, methods, results, and conclusions	Yes
<b>Introduction</b>			
Background and objectives	2a	Scientific background and explanation of rationale	Yes
	2b	Specific objectives or hypotheses	Yes
<b>Methods</b>			
Trial design	3a	Description of trial design (such as parallel, factorial) including allocation ratio	Yes
	3b	Important changes to methods after trial commencement (such as eligibility criteria), with reasons	NA
Participants	4a	Eligibility criteria for participants	Yes
	4b	Settings and locations where the data were collected	Yes
Interventions	5	The interventions for each group with sufficient details to allow replication, including how and when they were actually administered	Yes
	6a	Completely defined pre-specified primary and secondary outcome measures, including how and when they were assessed	Yes
Outcomes	6b	Any changes to trial outcomes after the trial commenced, with reasons	NA
	7a	How sample size was determined	Yes
Sample size	7b	When applicable, explanation of any interim analyses and stopping guidelines	NA
	8a	Method used to generate the random allocation sequence	Yes
Randomisation: Sequence generation	8b	Type of randomisation; details of any restriction (such as blocking and block size)	Yes
	9	Mechanism used to implement the random allocation sequence (such as sequentially numbered containers), describing any steps taken to conceal the sequence until interventions were assigned	Yes
Allocation concealment mechanism	10	Who generated the random allocation sequence, who enrolled participants, and who assigned participants to interventions	Yes
	11a	If done, who was blinded after assignment to interventions (for example, participants, care providers, those assessing outcomes) and how	Yes
Blinding	11b	If relevant, description of the similarity of interventions	NA
	12a	Statistical methods used to compare groups for primary and secondary outcomes	Yes
Statistical methods	12b	Methods for additional analyses, such as subgroup analyses and adjusted analyses	Yes

<b>Results</b>					
Participant flow (a diagram is strongly recommended)	13a	For each group, the numbers of participants who were randomly assigned, received intended treatment, and were analysed for the primary outcome	Yes		Yes
Recruitment	13b	For each group, losses and exclusions after randomisation, together with reasons	Yes		Yes
	14a	Dates defining the periods of recruitment and follow-up	NA		NA
	14b	Why the trial ended or was stopped	Yes		Yes
Baseline data	15	A table showing baseline demographic and clinical characteristics for each group	Yes		Yes
Numbers analysed	16	For each group, number of participants (denominator) included in each analysis and whether the analysis was by original assigned groups	Yes		Yes
Outcomes and estimation	17a	For each primary and secondary outcome, results for each group, and the estimated effect size and its precision (such as 95% confidence interval)	Yes		Yes
	17b	For binary outcomes, presentation of both absolute and relative effect sizes is recommended	NA		NA
Ancillary analyses	18	Results of any other analyses performed, including subgroup analyses and adjusted analyses, distinguishing pre-specified from exploratory	NA		NA
Harms	19	All important harms or unintended effects in each group	NA		NA
<b>Discussion</b>					
Limitations	20	Trial limitations, addressing sources of potential bias, imprecision, and, if relevant, multiplicity of analyses	Yes		Yes
Generalisability	21	Generalisability (external validity, applicability) of the trial findings	Yes		Yes
Interpretation	22	Interpretation consistent with results, balancing benefits and harms, and considering other relevant evidence	Yes		Yes
<b>Other information</b>					
Registration	23	Registration number and name of trial registry	Yes		Yes
Protocol	24	Where the full trial protocol can be accessed, if available	Yes		Yes
Funding	25	Sources of funding and other support (such as supply of drugs), role of funders	Yes		Yes

\* [www.consort-statement.org](http://www.consort-statement.org).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foram apresentados os achados de um ensaio clínico randomizado, cego, conduzido em paralelo, e com o objetivo de avaliar o efeito do controle estrito do biofilme supragengival, como um protocolo de intervenção trimestral, durante a fase manutenção periódica preventiva, em relação ao controle combinado dos biofilmes supra e subgengival. Aqui, mais especificamente, foi reportada a comparação direta do efeito destas intervenções nos desfechos microbiológicos subgengivais, durante o período de 1 ano.

Dentro do processo dinâmico e interdependente entre os biofilmes, o princípio de modulação do ambiente subgengival como sendo majoritariamente relacionado a um adequado controle do biofilme supragengival outrora norteou e foi comprovado por uma série de investigações (SMULOW; TURESKY; HILL, 1983; DAHLÉN et al., 1992; GOMES et al., 2007; 2008; 2009; 2014; 2015; ANGST et al., 2013). Entretanto, aquelas foram investigações abordando o efeito do controle supragengival durante a fase do tratamento periodontal. Assim, considerou-se oportuno estender tais estudos iniciais a fim de se verificar o efeito deste controle também durante a fase de MPP. No entanto, sobre o princípio de que na fase de manutenção periodontal o controle supragengival teria a implicação específica de modular a recolonização do ambiente subgengival, após a terapia periodontal. Isto porquê a recolonização tem sido, historicamente, sugerida como dependente e moderada, em certa medida, pelos níveis presentes de biofilme supragengival (MAGNUSSON et al., 1984; SHILOAH; PATTERS, 1996), e, biologicamente, suportada pelo biofilme supragengival como fonte primária dos microrganismos subgengivais (MARSH, 2003; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005).

Outro aspecto que pautou o presente estudo, e permeia também a compreensão daquele mecanismo interdependente, é o fato de não ser possível, até o momento, erradicar tipos bacterianos “específicos”, mas, sim, modular sua expressão. Esta observação pode ser corroborada por estudos que mostram a presença dos então chamados “periodontopatógenos” em sujeitos saudáveis, e a sua redução, em indivíduos com doença periodontal, após terapia de RAR, sem, no entanto, ser possível comprovar a eliminação destas bactérias após estas intervenções (TELES et al., 2008; CHARALAMPAKIS et al., 2013). Por outro lado, uma vez que a cavidade bucal não é um ambiente estéril, certo grau de recolonização é inevitavelmente esperado (SOCRANSKY et al., 2013), e esta não implica necessariamente em recorrência da doença.

Neste cenário, não foram surpreendentes os presentes achados de que com o avançar do tempo houve certa recolonização subgengival, mas que ainda assim as contagens bacterianas mantiveram-se a níveis considerados baixos, e, principalmente, que estas alterações tão pouco resultaram em mudanças no quadro clínico periodontal dos pacientes. Interessantemente, desde que ambas intervenções foram associadas com aumentos nas contagens bacterianas, e que durante todo o estudo um adequado controle de placa (< 30%) e gengivite (< 10%) foi mantido pelos pacientes nos dois grupos, a ausência de diferença nos marcadores microbiológicos e clínicos longitudinalmente fortalece ainda mais o poderoso efeito do controle supragengival, pelo binômio paciente-profissional, sobre o ambiente subgengival. Além disso, depreende-se que o controle subgengival realizado a cada consulta de MPP não determinou benefício adicional à realização unicamente do controle supragengival. Portanto, pode-se apontar este controle como uma intervenção de manutenção eficaz, podendo ser efetivamente assumida, afim de se manter a saúde periodontal dos pacientes periodontais previamente tratados.

Alguns aspectos metodológicos relacionados ao ensaio clínico conduzido merecem atenção. O método de quantificação e identificação bacteriana utilizado foi escolhido por apresentar destacada sensibilidade e especificidade (VALASEK; REPA, 2005). No entanto, reconhece-se que este método, especialmente devido aos altos custos envolvidos e tempo de trabalho necessário, não possibilita a avaliação de uma vasta gama de microrganismos. Por outro lado, ainda que se acredite que a presença de determinadas espécies não seja causa suficiente para o desenvolvimento ou retomada de um quadro de doença (MARSH 2003; 2012; NONNENMACHER et al., 2005), foi contemplada no estudo a análise daquelas bactérias ditas “periodontopatógenas”, pertencentes ao complexo vermelho proposto por Socransky et al. (SOCRANSKY et al., 1998). A escolha por estes marcadores foi determinada pelo intento de se evidenciar que o controle supragengival poderia ser capaz de influenciar até mesmo tais bactérias. Não obstante, a análise adicional de uma espécie associada à “saúde” poderia complementar tal motivação. Desta forma, a incorporação de outros marcadores microbiológicos deve ser pensada e, se possível, contemplada em uma análise futura. No mesmo sentido, um maior período de acompanhamento dos pacientes em MPP acarretaria em melhor entendimento, e fortaleceria os dados reportados. Esta sugestão baseia-se nos relatos de que as maiores mudanças nos quadros clínicos periodontais durante a fase de manutenção ocorrem somente em períodos mais tardios de acompanhamento (TONETTI; MULLER-CAMPANILE; LANG, 1998; SERINO et al., 2001).

Esta investigação foi conduzida sob alguns cuidados essenciais para que os grupos fossem semelhantes em tudo à exceção do tipo de intervenção de manutenção. Ilustrando-se, a amostra incluiu pacientes com periodontite moderada e severa, fumantes e não-fumantes. Todos os pacientes receberam a mesma terapia periodontal não-cirúrgica, conduzida em duas fases, e que preconiza desde este momento o estabelecimento de um adequado controle supragengival pelo binômio paciente-profissional como essencial ao sucesso longitudinal. Na sequência, a todos pacientes foi dado similar período de cicatrização periodontal (3 meses pós última sessão de RAR). Contudo, com relação a este último ponto, cabe aqui ressaltar que não existem estudos até o momento que tenham determinado qual é o período de cicatrização periodontal, havendo apenas uma sugestão por estudos clássicos em Periodontia (BADERSTEN; NILVEUS; EGELBERG, 1984; CLAFFEY; EGELBERG, 1994) de que as maiores reduções nos parâmetros clínicos ocorrem dentro de 90 dias, quando, então se estabilizam. Neste sentido, uma vez que a randomização do presente estudo foi bem sucedida, dada a ausência de diferença em todas as demais variáveis clínicas, microbiológicas, e sócio-demográficas, a diferença nos valores de PS, ao *baseline*, entre os grupos, pode ser associada à necessidade de um maior período de cicatrização. Apesar disso, esta diferença não acarretou em maiores implicações e aos 3 meses os grupos encontravam-se semelhantes também quanto a este parâmetro.

Embora se reconheça a terapia subgengival não-cirúrgica como a intervenção de primeira escolha para o tratamento das periodontites, a cada novo episódio de instrumentação subgengival existe o risco de se ocasionar novo trauma aos tecidos moles (ECHEVERRIA; CAFFESSE, 1983; CLAFFEY et al., 1988). Além disso, esta intervenção pode acarretar em remoção irreversível do cemento e tecido dentinário radicular, sendo, assim, apontada como uma das principais causas da sensibilidade dentinária, e podendo, até mesmo, na continuidade de sua repetição, causar algum dano pulpar (ZAPPA et al., 1991; GANTES et al., 1992). Desta forma, a constatação de ausência de benefício adicional da realização da intervenção subgengival a cada consulta de MPP tem implicações de cunho clínico-prático diretas e importantes, a iniciar pela redução destes potenciais danos.

Não obstante, visto que a realização da intervenção subgengival, em geral, requer um maior tempo clínico e um profissional treinado, os presentes resultados abrem a possibilidade do controle supragengival ter grande aplicabilidade em populações com acesso limitado à prestação de cuidados dentários regulares (CORBET; DAVIES, 1993). Por exemplo, o cirurgião-dentista clínico geral, se munido de adequadas informações sobre a importância do controle supragengival pelo binômio paciente-profissional, e se de fato o implementar,

poderia ser um grande aliado na manutenção de pacientes após a terapia periodontal, principalmente no manejo dos pacientes comprometidos com as consultas de MPP.

Por fim, espera-se que os presentes resultados venham ao encontro do chamamento por novos e adequados estudos, como sugerido pela Federação Europeia de Periodontia, e ampliem o entendimento sobre o controle do biofilme supragengival durante a fase de MPP. Grandes esforços foram colocados e dispendidos neste ensaio clínico, tanto para a sua condução como para as análises dos dados, mas ao se creditar ao controle supragengival o sucesso para a prevenção, terapia e manutenção periodontal, pelos presentes resultados e suas implicações, os esforços se justificam.

Em conclusão, frente a ausência de diferenças nos marcadores microbiológicos subgengivais dos pacientes mantidos sobre um protocolo de controle supragengival estrito em comparação aqueles que receberam intervenção combinada supra e subgengival, durante o período de 1 ano, reitera-se que ambos protocolos de MPP foram capazes de positivamente influenciar o ambiente subgengival. Para mais, apesar de um aumento nas contagens médias bacterianas ter sido observado ao longo do tempo, as contagens bacterianas espécie-específicas mantiveram-se ainda em níveis considerados baixos, e não foram acompanhadas por sinais clínicos de progressão de doença. Desta forma, os presentes resultados depreendem que a realização de repetidas intervenções subgengivais durante a MPP não acarretou em benefícios adicionais aos pacientes. Logo, um protocolo trimestral de manutenção baseado no controle do biofilme supragengival, pelo binômio paciente-profissional, parece ser efetivo em manter o quadro de saúde periodontal dos pacientes ao longo do tempo.

## REFERÊNCIAS

- ADRIAENS, P. A.; ADRIAENS, L. M. Effects of nonsurgical periodontal therapy on hard and soft tissues. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 36, p. 121-145, 2004.
- ANGST, P. D. et al. Response of molars and non-molars to a strict supragingival control in periodontal patients. **Braz Oral Res**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 55-60, 2013 Jan-Feb 2013. ISSN 1807-3107.
- AXELSSON, P.; NYSTRÖM, B.; LINDHE, J. The long-term effect of a plaque control program on tooth mortality, caries and periodontal disease in adults. Results after 30 years of maintenance. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 31, n. 9, p. 749-757, Sep 2004.
- BADERSTEN, A.; NILVEUS, R.; EGELBERG, J. Effect of nonsurgical periodontal therapy. II. Severely advanced periodontitis. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 11, n. 1, p. 63-76, Jan 1984.
- BECKER, W.; BECKER, B. E.; BERG, L. E. Periodontal treatment without maintenance. A retrospective study in 44 patients. **J Periodontol**, Chicago, v. 55, n. 9, p. 505-509, Sep 1984.
- CHARALAMPAKIS, G. et al. Bacterial markers vs. clinical markers to predict progression of chronic periodontitis: a 2-yr prospective observational study. **Eur J Oral Sci**, Copenhagen, v. 121, n. 5, p. 394-402, Oct 2013.
- CLAFFEY, N.; EGELBERG, J. Clinical characteristics of periodontal sites with probing attachment loss following initial periodontal treatment. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 21, n. 10, p. 670-679, Nov 1994.
- CLAFFEY, N. et al. The relative effects of therapy and periodontal disease on loss of probing attachment after root debridement. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 15, n. 3, p. 163-169, Mar 1988.
- COHEN, R. E. et al. Position paper: periodontal maintenance. **J Periodontol**, Chicago, v. 74, n. 9, p. 1395-1401, Sep 2003.
- CORBET, E. F.; DAVIES, W. I. The role of supragingival plaque in the control of progressive periodontal disease. A review. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 20, n. 5, p. 307-313, May 1993.
- DAHLÉN, G. et al. The effect of supragingival plaque control on the subgingival microbiota in subjects with periodontal disease. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 19, n. 10, p. 802-809, Nov 1992.
- ECHEVERRIA, J. J.; CAFFESSE, R. G. Effects of gingival curettage when performed 1 month after root instrumentation. A biometric evaluation. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 10, n. 3, p. 277-286, May 1983.
- GANTES, B. G. et al. The effect of hygiene instruments on dentin surfaces: scanning electron microscopic observations. **J Periodontol**, Chicago, v. 63, n. 3, p. 151-157, Mar 1992.

GOMES, S. C. et al. Effect of supragingival plaque control in smokers and never-smokers: 6-month evaluation of patients with periodontitis. **J Periodontol**, Chicago, v. 78, n. 8, p. 1515-1521, Aug 2007.

GOMES, S. C. et al. The effect of a supragingival plaque-control regimen on the subgingival microbiota in smokers and never-smokers: evaluation by real-time polymerase chain reaction. **J Periodontol**, Chicago, v. 79, n. 12, p. 2297-2304, Dec 2008.

GOMES, S. C. et al. The effect of smoking on gingival crevicular fluid volume during the treatment of gingivitis. **Acta Odontol Latinoam**, Buenos Aires, v. 22, n. 3, p. 201-206, 2009.

GOMES, S. C. et al. Supragingival treatment as an aid to reduce subgingival needs: a 450-day investigation. **Braz Oral Res**, São Paulo, v. 28, n. 1, 2014 Jan-Feb 2014.

GOMES, S. C. et al. Influence of supragingival biofilm control and smoking habit on Interleukin-1 $\beta$  concentration. **Braz Oral Res**, São Paulo, June 12 2015.

HEASMAN, P. A.; MCCRACKEN, G. I.; STEEN, N. Supportive periodontal care: the effect of periodic subgingival debridement compared with supragingival prophylaxis with respect to clinical outcomes. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 29, Suppl 3, p. 163-172; discussion 195-166, 2002.

JENKINS, W. M. et al. Effect of subgingival scaling during supportive therapy. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 27, n. 8, p. 590-596, Aug 2000.

LINDHE, J.; NYMAN, S. Long-term maintenance of patients treated for advanced periodontal disease. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 11, n. 8, p. 504-514, Sep 1984.

MAGNUSSON, I. et al. Recolonization of a subgingival microbiota following scaling in deep pockets. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 11, n. 3, p. 193-207, Mar 1984.

MARSH, P. D. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? **Microbiology**, Reading, v. 149, Pt 2, p. 279-294, Feb 2003.

\_\_\_\_\_. Contemporary perspective on plaque control. **Br Dent J**, London, v. 212, n. 12, p. 601-606, Jun 2012.

MARSH, P. D.; MOTER, A.; DEVINE, D. A. Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 55, n. 1, p. 16-35, Feb 2011.

NONNENMACHER, C. et al. Real-time polymerase chain reaction for detection and quantification of bacteria in periodontal patients. **J Periodontol**, Chicago, v. 76, n. 9, p. 1542-1549, Sep 2005.

NYMAN, S.; LINDHE, J.; ROSLING, B. Periodontal surgery in plaque-infected dentitions. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 4, n. 4, p. 240-249, Nov 1977.

RAMFJORD, S. P. et al. Oral hygiene and maintenance of periodontal support. **J Periodontol**, Chicago, v. 53, n. 1, p. 26-30, Jan 1982.

RENVERT, S.; PERSSON, G. R. Supportive periodontal therapy. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 36, p. 179-195, 2004.

SANZ, M.; ADDY, M. Group D summary. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 29, Suppl 3, p. 195-196, 2002.

SANZ, M. et al. Periodontal infections: understanding the complexity--consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 38, Suppl 11, p. 3-6, Mar 2011.

SANZ, M. et al. Effect of professional mechanical plaque removal on secondary prevention of periodontitis and the complications of gingival and periodontal preventive measures: Consensus report of group 4 of the 11(th) European Workshop on Periodontology on effective prevention of periodontal and peri-implant diseases. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 42, Suppl 16, p. S214-220, Apr 2015.

SERINO, G. et al. Initial outcome and long-term effect of surgical and non-surgical treatment of advanced periodontal disease. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 28, n. 10, p. 910-916, Oct 2001.

SHILOAH, J.; PATTERS, M. R. Repopulation of periodontal pockets by microbial pathogens in the absence of supportive therapy. **J Periodontol**, Chicado, v. 67, n. 2, p. 130-139, Feb 1996.

SMULOW, J. B.; TURESKY, S. S.; HILL, R. G. The effect of supragingival plaque removal on anaerobic bacteria deep periodontal pockets. **J Am Dent Assoc**, London, v. 107, n. 5, p. 737-742, Nov 1983.

SOCRANSKY, S. S. et al. Microbial complexes in subgingival plaque. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 25, n. 2, p. 134-144, Feb 1998.

SOCRANSKY, S. S. et al. Effect of periodontal therapy on the subgingival microbiota over a 2-year monitoring period. I. Overall effect and kinetics of change. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 40, n. 8, p. 771-780, Aug 2013.

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. Periodontal microbial ecology. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 38, p. 135-187, 2005.

TELES, R. P. et al. Disease progression in periodontally healthy and maintenance subjects. **J Periodontol**, Chicago, v. 79, n. 5, p. 784-794, May 2008.

TONETTI, M. S. et al. Primary and secondary prevention of periodontal and peri-implant diseases: Introduction to, and objectives of the 11(th) European Workshop on Periodontology consensus conference. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 42, Suppl 16, p. S1-4, Apr 2015a.

TONETTI, M. S. et al. Principles in prevention of periodontal diseases: Consensus report of group 1 of the 11(th) European Workshop on Periodontology on effective prevention of periodontal and peri-implant diseases. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 42, Suppl 16, p. S5-S11, Apr 2015b.

TONETTI, M. S.; MULLER-CAMPANILE, V.; LANG, N. P. Changes in the prevalence of residual pockets and tooth loss in treated periodontal patients during a supportive maintenance care program. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 25, n. 12, p. 1008-1016, Dec 1998.

VALASEK, M. A.; REPA, J. J. The power of real-time PCR. **Adv Physiol Educ**, Bethesda, v. 29, n. 3, p. 151-159, Sep 2005.

VAN WINKELHOFF, A. J. Microbiology in diagnosis and treatment planning in periodontics. **Int J Dent Hyg**, Oxford, v. 1, n. 3, p. 131-137, Aug 2003.

ZAPPA, U. et al. Root substance removal by scaling and root planing. **J Periodontol**, Chicago, v. 62, n. 12, p. 750-754, Dec 1991.

## ANEXOS

ANEXO A – Carta de aprovação do projeto de estudo pelo Comitê de Ética.



**U F R G S**  
UNIVERSIDADE FEDERAL  
DO RIO GRANDE DO SUL

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA**

Comitê De Ética Em Pesquisa Da Ufrgs



**CARTA DE APROVAÇÃO**

Comitê De Ética Em Pesquisa Da Ufrgs analisou o projeto:

**Número:** 18917

**Título:** O efeito do controle do biofilme supragengival e da combinação do controle do biofilme supra e subgengival na saúde periodontal de pacientes participantes de um programa de manutenção periodontal prev

**Pesquisadores:**

**Equipe UFRGS:**

SABRINA CARVALHO GOMES - coordenador desde 01/08/2011

***Comitê De Ética Em Pesquisa Da Ufrgs aprovou o mesmo , em reunião realizada em 16/06/2011 - sala de reuniões I do Gabinete do Reitor, 6º andar do prédio da Reitoria, por estar adequado ética e metodologicamente e de acordo com a Resolução 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.***

Porto Alegre, Quarta-Feira, 11 de Abril de 2012

BRUNO CASSEL NETO  
Vice Pró-Reitor de Pesquisa

# ANEXO B – Registro do projeto de estudo no domínio eletrônico ClinicalTrials.gov.

**ClinicalTrials.gov**  
A service of the U.S. National Institutes of Health

Example: "Heart attack" AND "Los Angeles"  
Search for studies:    
[Advanced Search](#) | [Help](#) | [Studies by Topic](#) | [Glossary](#)

[Find Studies](#) | [About Clinical Studies](#) | [Submit Studies](#) | [Resources](#) | [About This Site](#)

Home > [Find Studies](#) > Study Record Detail Text Size ▾

## Effect of Supragingival Control Versus Supra- and Subgingival Control in the Periodontal Health During the Maintenance

---

<p><b>This study is ongoing, but not recruiting participants.</b></p> <p><b>Sponsor:</b> Federal University of Rio Grande do Sul</p> <p><b>Information provided by (Responsible Party):</b> Sabrina Carvalho Gomes, Federal University of Rio Grande do Sul</p>	<p><b>ClinicalTrials.gov Identifier:</b> NCT01598155</p> <p>First received: May 10, 2012 Last updated: December 7, 2014 Last verified: December 2014 <a href="#">History of Changes</a></p>
---	---

**No Study Results Posted** [Disclaimer](#) [How to Read a Study Record](#)

**No Study Results Posted on ClinicalTrials.gov for this Study**

[About Study Results Reporting on ClinicalTrials.gov](#)

<b>Study Status:</b>	This study is ongoing, but not recruiting participants.
<b>Estimated Study Completion Date:</b>	January 2016
<b>Estimated Primary Completion Date:</b>	January 2016 (Final data collection date for primary outcome measure)

[▲ TO TOP](#)

[For Patients and Families](#) | [For Researchers](#) | [For Study Record Managers](#)

---

[HOME](#) | [RSS FEEDS](#) | [SITE MAP](#) | [TERMS AND CONDITIONS](#) | [DISCLAIMER](#) | [CONTACT NLM HELP DESK](#)