

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – *CAMPUS* DE  
FRANCISCO BELTRÃO, CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE,  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS  
APLICADAS À SAÚDE – NÍVEL MESTRADO

**ÉRICA LURIKO HAMADA**

**CLAREAMENTO DENTAL CASEIRO: MICROBIOTA,  
SENSIBILIDADE DENTAL E EFICÁCIA**

FRANCISCO BELTRÃO – PR  
(MARÇO/2019)

**ÉRICA LURIKO HAMADA**

**CLAREAMENTO DENTAL CASEIRO: MICROBIOTA, SENSIBILIDADE DENTAL E EFICÁCIA**

DISSERTAÇÃO apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Ciências Aplicadas à Saúde, nível Mestrado, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde.

Orientadora: Dra. Cleide Viviane Buzanello Martins

FRANCISCO BELTRÃO – PR  
(MARÇO/2019)

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Hamada, Érica Luriko

Clareamento dental caseiro: microbiota, sensibilidade dental e eficácia / Érica Luriko Hamada; orientador(a), Cleide Viviane Buzanello Martins, 2019.

71 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Francisco Beltrão, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde, 2019.

1. Clareamento dental. 2. Microbiota. 3. Sensibilidade dental. I. Martins, Cleide Viviane Buzanello. II. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

**ÉRICA LURIKO HAMADA**

**CLAREAMENTO DENTAL CASEIRO: MICROBIOTA, SENSIBILIDADE DENTAL E EFICÁCIA**

Essa dissertação foi julgada adequada para obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde e aprovada em sua forma final pela Orientadora e pela Banca Examinadora.

**BANCA EXAMINADORA**

Orientadora: Profa. Dra. Cleide Viviane Buzanello Martins  
UNIOESTE

Membro da banca: Profa. Dra. Kérley Braga Pereira Bento Casaril  
UNIOESTE

Membro da banca: Prof. Dr. Rui Fernando Mazur  
UNISEP

FRANCISCO BELTRÃO, PR  
Março/2019

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus primeiramente, por permitir a conclusão de mais uma etapa importante em minha vida, mantendo-me firme na fé diante das inúmeras dificuldades do caminho e mostrando-me que sou capaz de vencer os obstáculos.

Obrigada José Eduardo, companheiro incansável e que foi o alicerce para toda dificuldade e desânimo que surgiram durante essa jornada. Sem seu apoio, esta conquista não teria sequer início.

À Livia Akemi que, paciente e amorosamente, abdicou da minha presença e atenção nestes meses de estudo.

Aos meus pais, sempre me incentivando a crescer como pessoa e profissionalmente. E, principalmente, serem exemplos a seguir.

À minha família, pelo amparo, mesmo que à distância.

À minha orientadora, por todo o conhecimento compartilhado, pela paciência e contribuição em todos os momentos.

Aos meus alunos e amigos Keila, Bruna e João, que se tornaram parceiros nesta jornada e importantíssimos colaboradores na pesquisa.

Às amigas Indianara e Tânia Mara que indiretamente me ajudaram muito na pesquisa.

À Katiana Henning, Caroline Giane de Carli e Elaine Kerscher pelos ensinamentos e suporte no laboratório de microbiologia.

Aos membros da banca, professor Rui Mazur pelo companheirismo e amizade e à professora Kérley pelos ensinamentos repassados.

A todos os docentes do mestrado, por todo o conhecimento transmitido, experiências divididas e por contribuírem para o meu crescimento e aprendizagem.

Aos meus amigos de turma, por todos os momentos bons e também os difíceis que compartilhamos. Vocês foram muito importantes nesta caminhada. Seremos sempre a turma número um!

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este estudo ao meu esposo e filha, que abdicaram de minha presença e atenção por dias intermináveis, sempre pacienciosos com minhas crises de urticária, estresse e insônia. Foram o refúgio onde me recuperei e fortaleci em todos os momentos.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Géis utilizados no Grupo Peróxido de Hidrogênio 4% (White Class – FGM) e Grupo Peróxido de Carbamida 10% (Whiteness Perfect – FGM) .....	21
Figura 2. Escavador de dentina nº 17. Imagem aproximada da ponta ativa do instrumento.....	212
Figura 3. Elementos dentais 41 e 36, direção do movimento de raspagem (setas) para coleta de amostra de biofilme dental.....	23
Figura 4. Cronograma da pesquisa e dados que foram coletados em cada momento. ....	24
Figura 5. Escala VITA Classical ordenada por valor. ....	27
Figura 6. Tomada fotográfica da cor do incisivo central superior direito com escala VITA Classical.....	27
Figura 7. Classificação numérica da Escala de cores VITA ordenada por valores. ..	27
Figura 8. Escala de faces padronizada tipo Wong-Baker (Wong-Baker FACES Foundation, 2018). ....	28
Figura 9. Distribuição da amostra no ensaio clínico desde o recrutamento até a análise final. A pesquisa iniciou com 65 voluntários, entretanto, somente 39 voluntários finalizaram o estudo.....	29

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Quantidade de participantes por grupo, gel utilizado e tempo de uso.....	
211	
Quadro 2. Microrganismos estudados, meios de cultura utilizados e características do cultivo.....	25
Quadro 3. Cor e morfologia das colônias de <i>Candida</i> em CHROMaga <i>Candida</i> (RIBEIRO et al., 2009).....	26

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PH – Peróxido de Hidrogênio

PC – Peróxido de Carbamida

ROS – Espécies Reativas de Oxigênio

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

G<sub>C</sub> – Grupo carbamida

G<sub>H</sub> – Grupo hidrogênio

G<sub>P</sub> – Grupo placebo

T<sub>0</sub> – Tempo 0 ou pré-clareamento

T<sub>21</sub> – Tempo 21 ou último dia de clareamento

T<sub>28</sub> – Tempo 2 ou 7 dias após finalizado o clareamento

T<sub>35</sub> – Tempo 35 ou 14 dias após finalizado o clareamento

T<sub>49</sub> – Tempo 49 ou 28 dias após finalizado o clareamento

TSB – Trypticase Soy Broth ou Caldo Soja Trypticaseína

MS – *Mitis Salivarius*

MSB – *Mitis Salivarius* Bacitracina

MRS – deMan, Rogosa e Sharpe

## Clareamento dental caseiro: microbiota, sensibilidade dental e eficácia

### Resumo

O clareamento dental tornou-se um procedimento estético muito requisitado na busca de um sorriso perfeito. Trata-se de uma técnica fácil, conservadora, com resultados rápidos e satisfatórios e com grande apelo da mídia. Entretanto, o uso de produtos sem a supervisão de um odontólogo, seja por tempo exagerado ou concentração muito elevada, pode causar danos tanto à estrutura dental quanto à microbiota bucal, levando a um desequilíbrio capaz de favorecer a instalação de patologias. Por meio de um ensaio clínico randomizado controlado duplo cego, 39 voluntários foram divididos em três grupos: peróxido de carbamida 10%, peróxido de hidrogênio 4% e placebo, para avaliar se o clareamento dental caseiro com estes produtos provoca alguma alteração na microbiota bucal, e além disso, verificar a presença de sensibilidade dental e a alteração de cor, comparando-se os grupos. Os produtos foram utilizados de acordo com as recomendações do fabricante em ambas arcadas com moldeira individual por 21 dias. Amostras de biofilme dental foram colhidas em cinco momentos: antes do clareamento, após 21 dias de uso dos produtos e 7, 14 e 28 dias após encerrado o tratamento. Estas amostras foram cultivadas em meios específicos para o isolamento e quantificação de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp. e *Candida* spp. A cor e sensibilidade dentais foram verificados semanalmente durante a pesquisa. Para a comparação das características iniciais foi utilizado o teste ANOVA *one-way* e o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e para a identificação das diferenças foi utilizado o teste *post-hoc* de Bonferroni. Os resultados indicaram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois clareadores estudados. Tanto o peróxido de carbamida 10% quanto o peróxido de hidrogênio 4% foram efetivos, clareando os dentes mesmo após suspensão do uso, provocaram sensibilidade dental leve, que não foi verificada após 7 dias sem aplicação e, nas concentrações utilizadas, somente *Lactobacillus* apresentaram uma redução significativa durante o uso dos clareadores, retornando aos níveis normais após 7 dias sem o uso.

**Palavras-chave:** Clareamento Dental, Placa Dentária, Microbiota, Sensibilidade da Dentina, Peróxido de Hidrogênio.

## At-home tooth bleaching: microbiota, tooth sensitivity and effectiveness

### Abstract

Tooth bleaching has become a very requested aesthetic procedure in the looking-for a perfect smile. It is an easy and conservative technique, with fast and satisfactory results and a great media appeal. However, the use of products without a dentist supervision, whether for an exaggerated time or a very high concentration, can cause damage to both the dental structure and the oral microbiota, causing imbalance capable of favoring the installation of pathologies. By a randomized controlled double-blind clinical trial, thirty-nine volunteers were divided into three groups: 10% carbamide peroxide, 4% hydrogen peroxide, and placebo, to evaluate whether home tooth bleaching with these products causes any change in the oral microbiota, and in addition, to verify the presence of dental sensitivity and the color change, comparing the groups. The products were applied according to the manufacturer's recommendations on both arcades by custom-made trays for 21 days. Dental biofilm samples were collected in five moments: before bleaching, after 21 days of use and 7, 14 and 28 days after the end of treatment. These samples were cultivated in specific media for the isolation and quantification of *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp. and *Candida* spp. Dental shade and sensitivity were checked weekly during the survey. *One-way* ANOVA and non-parametric Kruskal-Wallis test were used to compare the initial characteristics and the Bonferroni post-hoc test was used to identify the differences. The results indicated that there was no statistically significant difference in action between the two bleaching agents studied. Both 10% carbamide peroxide and 4% hydrogen peroxide were effective, bleaching the teeth even after suspension of use, caused mild and transient tooth sensitivity, which was not verified after 7 days without application and at the concentrations used, only *Lactobacillus* presented a significant reduction during the use of bleaching agents, returning to normal levels after 7 days without use.

**Keywords:** Tooth Bleaching, Dental Plaque, Microbiota, Dentin Sensitivity, Hydrogen Peroxide.

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	12
1.1 Justificativa.....	12
1.2 Revisão Bibliográfica.....	13
1.2.1 Microbiota bucal e biofilme dental.....	13
1.2.2 Peróxidos.....	15
1.2.3 Eficácia.....	18
1.2.4 Sensibilidade dental.....	18
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	19
2.1 Geral .....	19
2.2 Específicos.....	19
<b>3. METODOLOGIA</b> .....	20
3.1 Biofilme dental .....	22
3.2 Avaliação da alteração de cor .....	26
3.3 Avaliação da sensibilidade dental .....	27
3.4 Análise estatística.....	28
<b>4. REFERÊNCIAS</b> .....	30
<b>5. TÍTULO DO ARTIGO CIENTÍFICO</b> .....	35
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	52
<b>7. ANEXOS</b> .....	53

# 1. INTRODUÇÃO GERAL

Possuir um sorriso que corresponda aos padrões estabelecidos pela sociedade contribui para um aumento da autoestima e confiança, e o clareamento dental é um procedimento transformador do sorriso, sendo geralmente a primeira escolha em tratamentos odontológicos estéticos.

A técnica de clareamento caseira caracteriza-se pela utilização de produtos de menor concentração que são aplicados pelo próprio paciente em moldeiras, mas supervisionada periodicamente pelo odontólogo, e os principais agentes utilizados são o peróxido de hidrogênio (PH) e o peróxido de carbamida (PC), em concentrações variadas (SOARES et al., 2008).

No entanto, a obsessão por dentes brancos pode constituir uma patologia, na qual os produtos clareadores são aplicados constantemente pelo paciente, sem qualquer supervisão profissional e, nos casos mais graves, pode causar lesões na cavidade oral, redução da microdureza e aumento da rugosidade do esmalte, reações alérgicas e ingestão do produto (CASTRO, 2015).

O objetivo deste ensaio clínico é averiguar o efeito de clareadores dentais caseiros sobre a microbiota bucal, tanto em microrganismos patogênicos como em comensais. Além disso, verificar a alteração de cor e a presença de sensibilidade dental após a administração destes géis.

A hipótese nula para esta análise é de que o clareamento dental caseiro não altera a microbiota bucal, não há diferença entre a eficácia clínica dos clareadores testados e que não há sensibilidade dental devido ao procedimento.

## 1.1 Justificativa

Este estudo justifica-se pela intensa procura pelo tratamento clareador e pelo uso indiscriminado de produtos sem o acompanhamento adequado pelo odontólogo, com exagero na concentração e/ou tempo de uso do produto, podendo provocar prejuízos ao tecido dental e à microbiota bucal, facilitando assim a instalação de outras patologias. Além disso, atualmente, ainda são poucos os estudos *in vivo* sobre os efeitos de agentes clareadores sobre microrganismos bucais.

## 1.2 Revisão Bibliográfica

### 1.2.1 Microbiota bucal e biofilme dental

A boca, em função de sua complexidade anatômica, alberga uma microbiota variada e a relação mais frequente estabelecida entre esta microbiota e o hospedeiro é o comensalismo, uma coexistência pacífica e harmoniosa que ocorre geralmente sem prejuízo para nenhuma das partes envolvidas. Esta microbiota compete com microrganismos invasores, elimina patógenos exógenos, contribui para a nutrição produzindo vitaminas, enzimas e para o desenvolvimento do sistema imunológico. Um desequilíbrio biológico pode permitir o aumento numérico de algumas espécies patogênicas, resultando em prejuízo para a saúde do hospedeiro (De LORENZO, 2010).

Os biofilmes bucais são compostos por muitas espécies bacterianas, fúngicas e virais, onde os princípios ecológicos e de disbiose são aplicados para explicar sua capacidade de causar doenças. São formados vários tipos de biofilmes em superfícies mucosas, abióticas (ex: implantes e materiais restauradores) ou dentais, onde as interespecies e até associações transversais do reino ocorrem ao interagir com a saliva, a dieta e a imunidade do hospedeiro (BOWEN et al., 2017). Existem muitos fatores que afetam a sua composição como: idade, dieta, higiene bucal, condições sistêmicas e imunes, e o uso de certos medicamentos (METWALLI et al., 2013; BOWEN et al., 2017).

O biofilme dental ou placa dental é uma biomassa densa não calcificada e muito bem estruturada que se adere ao dente, constituída por microrganismos envolvidos e aglutinados por uma matriz intercelular que representa perto de 75% de seu volume. São estruturas dinâmicas pois, a partir de sua formação inicial, tendem a se desenvolver e a se alterar ao longo do tempo (De LORENZO, 2010) e estão associados às doenças bucais mais comuns: cáries e doenças periodontais (TAKESHITA et al., 2016; ROSIER; MARSH; MIRA, 2017).

A cárie dental é uma doença de biofilme orientada pela dieta e interações de microbiota-matriz (BOWEN et al., 2017) e os principais agentes patogênicos associados incluem *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *Streptococcus sobrinus*, várias espécies de *Lactobacillus* e *Actinomyces* (TANNER et al., 2018).

Estudos extensivos clínicos, epidemiológicos e experimentais em animais mostraram que *S. mutans* estão fortemente associados à cárie dental. Uma das suas principais adaptações que permitem ser um patógeno oportunista tão eficiente está em sua excepcional capacidade de utilizar uma grande variedade de carboidratos para produzir matriz extracelular e ácidos, resistência ao estresse, tolerância em meio ácido e interagir dinamicamente com outros organismos (BOWEN et al., 2017). São cocos Gram-positivos, anaeróbicos facultativos, acidogênicos e acidúricos (SZTAJER et al., 2014), que desempenham um papel importante tanto na iniciação como na progressão das lesões de cárie (FERREIRA, 2009). Estreptococos do grupo *mutans* compreendem sete espécies: *S. mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus cricetus*, *Streptococcus rattus*, *Streptococcus ferus*, *Streptococcus macacae* e *Streptococcus downei*. As espécies *mutans* e *sobrinus* apresentam potencial cariogênico em humanos, as outras são encontradas em animais e, se estão presentes em humanos, não parecem ser altamente cariogênicas (SPOLIDORIO, 1997).

*Lactobacillus* são bastonetes Gram-positivos, não esporulados, anaeróbios facultativos e às vezes microaerófilos. Possuem capacidade acidogênica e acidúrica e realizam tanto o metabolismo oxidativo como fermentativo. Constituem apenas uma pequena fração do biofilme (0,01%) e desempenham um papel mais importante na progressão do que na instalação da cárie dental (LEITES; PINTO; SOUSA, 2005). São comumente usados como probióticos, para a promoção de saúde (STAMATOVA; MEURMAN, 2009), influenciar respostas imunes, nutrição e bem-estar (PREIDIS; VERSALOVIC, 2009). Espécies presentes na boca: *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*), *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus casei* (*L. casei*), *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus fermenti* (*L. fermenti*) e *Lactobacillus plantarum*, sendo *L. casei* e *L. fermenti* as espécies orais mais comuns e *L. casei* o mais numeroso (SPOLIDORIO, 1997)

*Candida* é o mais comum dos patógenos fúngicos oportunistas e estima-se que 25 a 50% dos indivíduos saudáveis possuem como parte da microbiota normal da boca, sendo 70 a 80% *Candida albicans* (*C. albicans*) (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2006). Na forma de levedura colonizam predominantemente superfícies, enquanto que na forma de hifas é invasiva (SZTAJER et al., 2014). A candidose é a infecção de origem fúngica mais frequente na cavidade bucal e *C. albicans* é a principal espécie

envolvida, principalmente por sua capacidade de se aderir às células epiteliais da mucosa (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2006; MATOS et al., 2009). *C. albicans* associa-se sinergicamente com *S. mutans* aumentando a virulência do biofilme levando ao início de lesões cáries desenfreadas (METWALLI et al., 2013; FALSETA et al., 2014; SZTAJER et al., 2014; BOWEN et al., 2017) e a coexistência entre os dois microrganismos induz a expressão de genes de *S. mutans* que contribuem para a sua virulência e sobrevivência (FALSETA et al., 2014).

### 1.2.2 Peróxidos

Toda terapia clareadora envolve procedimentos químicos com substâncias oxidantes que retiram elétrons do substrato onde entram em contato. É provavelmente por meio de um mecanismo similar ao de óxido-redução ou de oxidação simples que a maioria das moléculas que mancham os dentes tornam-se mais simples, mais claras ou são eliminadas. Os peróxidos são considerados os oxidantes mais efetivos e com menor potencial de efeitos colaterais (RIEHL; NUNES, 2007).

A maioria dos agentes contém em sua fórmula básica o peróxido de hidrogênio (PH) ( $H_2O_2$ ) ou o peróxido de carbamida (PC) ( $CH_4N_2O \cdot H_2O_2$ ), variando apenas a sua concentração (CASTRO, 2015). O PC decompõe-se em PH 3% a 5% e ureia 7% a 10%, portanto, é possível dizer que o princípio ativo de todos os agentes é o PH. O PH continua a se decompor, dando origem a oxigênio e água, enquanto a decomposição da ureia originará amônia e dióxido de carbono (BARATIERI et al., 2015).

Produtos à base de PH promovem alta liberação de oxigênio e os à base de PC associado ao Carbopol<sup>®</sup> são de baixa liberação de oxigênio e, portanto, levam maior tempo para agir (HAYWOOD; HEYMANN, 1991; LUQUE-MARTINEZ et al., 2016). O Carbopol<sup>®</sup> tem uma natureza tixotrópica que facilita a retenção do gel ao dente, muito útil no clareamento caseiro (HAYWOOD; HEYMANN, 1991) pois mantém a solução agindo por mais tempo, melhorando a eficácia (SOARES et al., 2008).

Na técnica caseira são utilizados produtos com baixas concentrações e apresenta como vantagens: menos agressivo aos tecidos, menor custo, menor recidiva de cor à longo prazo, menor tempo nas consultas clínicas, facilidade de aplicação e altas taxas de sucesso, no entanto, requerem um tempo prolongado de

uso diário por 2 a 3 semanas para ter resultados efetivos (LUQUE-MARTINEZ et al., 2016).

Para Briso et al. (2017) a técnica caseira utilizando géis de PC em concentrações entre 10% e 16%, ou PH de 3 a 8% é segura e eficaz, desde que supervisionada por um profissional qualificado, sendo considerado o padrão-ouro em vários estudos sobre a eficácia das terapias de clareamento. E Demarco et al. (2013) verificaram que esta técnica foi amplamente preferida pelos odontólogos (78,1%) comparado com a de consultório para o clareamento de dentes vitais, e o gel de PC 10% foi o produto mais prescrito.

Todavia, o tratamento não deve passar do “ponto de saturação”, que é o grau máximo de clareamento onde, após aplicar o produto, o mesmo não surte mais efeitos clareadores, mas pode provocar danos aos tecidos dentais (NETTO et al., 2003). O paciente deve ser informado que, neste ponto de saturação, nenhum tipo de clareamento adicional fará o dente ficar mais claro (LEE; KASTL; CHAN, 2018). Portanto, toda indicação, seleção e supervisão de qualquer procedimento clareador devem ser feitas pelo odontólogo (BARATIERI et al., 2015; BRISO et al., 2017).

Agentes com maior concentração foram desenvolvidos para acelerar a velocidade da terapia, porém, pode-se ter efeitos colaterais como a sensibilidade dental (RIEHL; NUNES, 2007; SOARES et al., 2008), irritação gengival (BARATIERI et al., 2015), alterações na composição química, microdureza, opalescência e micromorfologia do esmalte (CARDOSO et al., 2012; BARATIERI et al., 2015; CASTRO, 2015; ASHNAGAR et al., 2017) e desnaturação das proteínas de colágeno da dentina (NETTO et al., 2003). Outros efeitos relatados são queimação da língua e garganta e alteração do paladar (KIELBASSA et al., 2015), reações alérgicas e alterações pulpares (GOLDBERG; GROOTVELD; LYNCH, 2010).

As espécies reativas de oxigênio (ROS) são um subproduto de agentes clareadores à base de peróxido de hidrogênio. ROS podem penetrar na dentina e causar a decomposição de materiais orgânicos, produzindo efeitos favoráveis em baixas concentrações, todavia, podem igualmente ter efeitos nocivos sobre tecidos bucais macios e duros em altas concentrações (JHA et al., 2017).

Consolaro, Francischone e Consolaro (2011) alertam que, além da agressão ao elemento dental e mucosa, eles podem agir na carcinogênese bucal como promotores, recomendando que o seu uso se restrinja somente ao consultório, sob

supervisão, não indicando a técnica caseira pelo risco de uso inadequado em relação à quantidade, tempo e frequência. Ribeiro et al. (2017) advertem que esses agentes podem ser genotóxicos, ou seja, podem induzir danos na molécula de DNA, entretanto, ainda há poucos estudos, sendo necessário maiores investigações.

Goldberg, Grootveld e Lynch (2010) lembram que, como qualquer terapia, o clareamento possui riscos e seu abuso potencializa os efeitos adversos, e que estes também dependem do tipo de clareador, concentração, tempo de uso e de fatores próprios do indivíduo.

Lee, Kastl e Chan (2018) alertam que a dependência em clareamento pode se tornar também uma patologia, a Bleachorexia - um distúrbio de comportamento semelhante à anorexia, onde o indivíduo acha que seus dentes não são brancos o suficiente e aplica produtos sem limites de tempo e concentração para obter um sorriso perfeito, provocando lesões erosivas na estrutura dental, extrema sensibilidade e irritação na gengiva.

Para controlar o consumo de clareadores, a ANVISA determinou, pela RDC nº 6 de 06/02/15, que os produtos contendo mais que 3% de peróxido de hidrogênio só podem ser comercializados com prescrição por um odontólogo.

Em contrapartida, Gurgan, Bolay e Alagam (1996) destacam que o PC tem sido utilizado desde a década de 1970 como um antisséptico oral, Lazarchik e Haywood (2010) indicam o uso de PC 10% como um tratamento eficaz contra cáries, pois seu componente ureia eleva o pH acima do nível que o processo de cárie pode ocorrer, além de melhorar a saúde gengival. Briso et al. (2017) similarmente reforçam as propriedades antibacterianas e anticáries, tendo um efeito benéfico sobre a saúde gengival, com ação sobre a microbiota da placa, propriedades de desbridamento e maior disponibilidade de oxigênio para promover a cicatrização do tecido.

Estudos *in vitro* apontaram efeito antibacteriano do PC 10% sobre *S. mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis*, *L. casei* e *L. acidophilus* (GURGAN; BOLAY; ALAGAM, 1996), similarmente do PH presente em enxaguantes bucais sobre *S. mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e outros microrganismos encontrados na saliva (MOREIRA et al., 2009), do PC 16% e PH 35% sobre *S. mutans* (RESENDE et al., 2007) e atividade fungicida do PH sobre *C. albicans* (MATOS et al. 2009).

Entretanto, estudos *in vivo* indicaram que a microbiota da saliva não se alterou com o clareamento dental (ALKMIN et al., 2005; FRANZ-MONTAN et al., 2009; ZHENG et al., 2011; BRISO et al., 2017), apenas áreas em contato direto com o produto, onde o PH 36% diminuiu o número de *S. mutans* durante o período de uso, mas seus níveis se normalizaram aproximadamente 30 dias após o fim da intervenção (ZHENG et al., 2011; BRISO et al., 2017). Já com PC 10% não houve diferença significativa em *S. mutans* (BRISO et al., 2017), enquanto o número de *Lactobacillus* não mostrou mudança durante o experimento (ZHENG et al., 2011).

### **1.2.3 Eficácia**

A eficácia da terapia clareadora pode ser influenciada por uma variedade de fatores: sexo e idade dos pacientes, cor inicial do dente, etiologia da alteração de cor, tipo e concentração dos produtos, tempo de contato e frequência de uso dos produtos, e todos esses fatores também afetam a estabilidade subsequente da cor. Entre esses vários fatores, o tempo de contato dos materiais na superfície do esmalte dental é o mais influente (LEE; KASTL; CHAN, 2018).

### **1.2.4 Sensibilidade dental**

Para Basting et al. (2012) a sensibilidade dental é o lado adverso mais comum do clareamento, e está relacionado ao aumento de permeabilidade ao esmalte e dentina e fácil passagem do peróxido para a polpa. Do mesmo modo, Kielbassa et al. (2015) em uma revisão sistemática encontraram a sensibilidade dental como o efeito colateral mais relatado, seguida pela irritação gengival.

A sensibilidade é um evento agudo, limitado a um ou poucos dentes, transitório, que cessa com a descontinuação ou após a conclusão do tratamento. É um fenômeno multifatorial, podendo estar associado a uma sensibilidade pré-existente, defeitos no esmalte, cavitações, recessões gengivais, idade, gênero, hábitos alimentares, composição do agente clareador, subjetividade individual e fatores ambientais. Sugerem que a causa mais provável é uma pulpite reversível, que provoca certo grau de inflamação pulpar devido ao peróxido de hidrogênio que penetra no esmalte e dentina, atingindo a polpa (KIELBASSA et al., 2015).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Analisar os efeitos do peróxido de hidrogênio 4% e do peróxido de carbamida 10%, utilizados no clareamento dental caseiro, sobre a microbiota bucal, a cor e a sensibilidade dental.

### 2.2 Específicos

- Avaliar os efeitos do peróxido de hidrogênio 6% e do peróxido de carbamida 10% sobre microrganismos totais, e especialmente em *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp. e *Candida* spp.;
- Investigar se a intervenção provocou sensibilidade dental, qual a intensidade e duração da dor e se há diferença entre os produtos;
- Averiguar e comparar clinicamente o efeito clareador dos dois produtos.

### 3. METODOLOGIA

O projeto desta pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Oeste do Paraná/UNIOESTE sob parecer consubstanciado nº 2.625.292 (Anexo 1). Este estudo foi realizado no departamento de Odontologia da Unisep e no Laboratório de Microbiologia da Unioeste.

A busca de voluntários foi realizada na clínica odontológica da União de Ensino do Sudoeste do Paraná - UNISEP, Francisco Beltrão, entre pacientes e alunos de graduação da instituição. Os critérios de inclusão foram: idade mínima de 18 anos, desejo de submeter-se ao clareamento dental caseiro e boas condições de saúde geral e bucal.

Os critérios de exclusão foram: presença de lesão cariosa, problemas periodontais, restaurações fraturadas, próteses dentárias, aparelho ortodôntico fixo, restaurações muito extensas nos incisivos superiores, tabagismo, gestação, lactação, hipersensibilidade dentinária, xerostomia, alergia a algum dos produtos utilizados, uso de medicação, patologia ou evento que altere a microbiota bucal durante a pesquisa, ter clareado os dentes há menos de um ano e indisponibilidade de horário.

Sessenta e cinco indivíduos foram avaliados para elegibilidade neste estudo, os que estavam aptos e concordaram submeter-se ao procedimento clareador receberam instruções e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 2) e em seguida foram moldados e fotografados.

As moldagens com alginato (Jeltrate – Dentsply Sirona, Dentsply Ind. Com. Ltda, Pirassununga, Brasil) foram vazadas em gesso pedra tipo III (Asfer Indústria Química Ltda, São Caetano do Sul, Brasil) para a confecção de moldeiras de acetato individuais (Whiteness - FGM Dentscare Ltda, Joinville, Brasil), sem alívio, cortadas 2mm acima da gengiva marginal livre, para a arcada superior e inferior.

Entre os 65 voluntários moldados, antes do início do uso dos produtos, houve a perda de 10 indivíduos (2 gestações, 1 desistência e 7 por incompatibilidade de horário) e 5 foram sorteados aleatoriamente para compor um estudo piloto para validação do questionário e dos meios de cultura. O restante dos indivíduos foi dividido inicialmente de acordo com a cor, para que cada grupo contivesse cores semelhantes.

Para a randomização estratificada, os números dos voluntários foram anotados em cartões individuais, dobrados para não serem identificados e colocados em

envelopes de acordo com a cor, depois distribuídos aleatoriamente entre os grupos, iniciando pelo envelope de maior valor (cor mais escura), seguindo uma sequência decrescente de cor. Os operadores não participaram desta etapa.

Os produtos foram utilizados em ambas as arcadas simultaneamente por 21 dias, de acordo com as recomendações do fabricante: o grupo peróxido de carbamida 10% (G<sub>C</sub>) (Whiteness Perfect 10% - FGM Dentscare Ltda, Joinville, Brasil) 4h/dia; o grupo peróxido de hidrogênio 4% (G<sub>H</sub>) (White Class com cálcio 4% - FGM Denstcare Ltda, Joinville, Brasil) (Figura 1) 2h/dia; e o grupo placebo (G<sub>P</sub>) com gel de Carbopol (Formulativa Farmácia de Manipulação, Francisco Beltrão, Brasil) 2h/dia (Quadro 1).



Figura 1. Géis utilizados no Grupo Peróxido de Hidrogênio 4% (White Class – FGM) e Grupo Peróxido de Carbamida 10% (Whiteness Perfect – FGM).

Quadro 1. Quantidade de participantes por grupo, gel utilizado e tempo de uso.

Grupo	Participantes	Gel	Tempo de uso diário
G <sub>C</sub>	16	Peróxido de carbamida 10%	4h
G <sub>H</sub>	16	Peróxido de hidrogênio 4%	2h
G <sub>P</sub>	18	Placebo	2h

Os géis contendo clareadores e placebo foram colocados em seringas iguais e identificados com o número do voluntário, de modo que voluntários e operadores

desconheciam qual agente foi utilizado. Todos receberam instruções verbais e por escrito (Anexo 3) quanto à quantidade de gel, tempo de uso e recomendações gerais e foram avaliados semanalmente para coleta de dados e reposição de gel.

### 3.1 Biofilme dental

A amostra de biofilme dental foi coletada da face vestibular dos elementos 41 (incisivo central inferior direito) e 36 (primeiro molar inferior esquerdo) com um escavador de dentina duplo nº 17 (Golgran Millenium, São Caetano do Sul, Brasil) esterilizado (Figura 2), aplicado raspando na cervical dos dentes em um movimento único de distal para mesial (Figura 3). Na impossibilidade destes, foram coletados dos homólogos do arco oposto (elementos 31 e 46). Os voluntários foram orientados para manterem sua rotina de higiene bucal normal, porém, no dia da coleta de biofilme não escovar ou ingerir alimentos por pelo menos duas horas antes. Além disso, evitar o uso de qualquer produto ou medicamento que alterasse o biofilme dental durante a pesquisa.

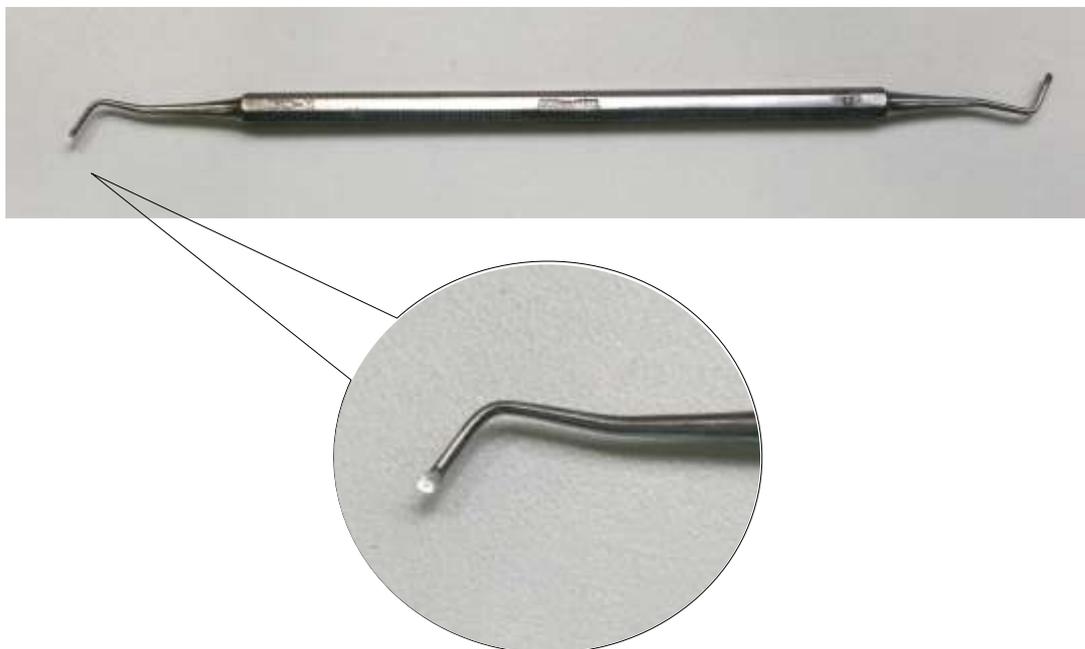


Figura 2. Escavador de dentina nº 17. Imagem aproximada da ponta ativa do instrumento.

As amostras de biofilme foram de cinco momentos: antes do início do clareamento ( $T_0$ ); após 21 dias de aplicação ( $T_{21}$ ); e 7, 14 e 28 dias após finalizado o tratamento ( $T_{28}$ ,  $T_{35}$  e  $T_{49}$  respectivamente), conforme fluxograma (Figura 4). A

amostra de cada indivíduo foi armazenada imediatamente em microtubo tipo eppendorf (ref. K301015) (KASVI, São José dos Pinhais, Brasil) contendo 1mL de Caldo Triptona Soja (TSB - Trypticase Soy Broth) (ref. K25-610053) (KASVI, São José dos Pinhais, Brasil) previamente esterilizado e mantido em caixa térmica para transporte e conservação em temperatura entre 2 a 6°C até chegar ao laboratório.



Figura 3. Elementos dentais 41 e 36, direção do movimento de raspagem (setas) para coleta de amostra de biofilme dental.

O conteúdo dos microtubos foi homogeneizado em agitador de tubos tipo Vortex (Biomixer VTX-F, Curitiba, Brasil) durante 30 segundos e realizada a diluição decimal de  $10^{-1}$  a  $10^{-3}$  em TSB esterilizado antes de serem distribuídos nos meios de cultura.

Para a análise dos microrganismos totais foi utilizado Ágar Sangue Base (ref. K25-610005) (KASVI, São José dos Pinhais, Brasil) preparado conforme instruções do fabricante, esterilizado em autoclave a 121°C durante 15 minutos e resfriado a 50°C, em seguida adicionado 5% de sangue de carneiro desfibrinado e esterilizado (Dislab – Laborclin, Maringá, Brasil) e vertido sobre placas de Petri. As amostras de biofilme foram estriadas com alça calibrada de 1µL descartável esterilizada (ref. K300101) (OLEN, São José dos Pinhais, Brasil) e incubadas em estufa a 35°C por 48 horas (Quadro 2).

Para o isolamento de *Streptococcus* totais e *Enterococcus* foi utilizado o ágar *Mitis Salivarius* (MS) (ref. 7277A) (Acumedia® – Neogen, Indaiatuba, Brasil), preparado conforme recomendações do fabricante, esterilizado em autoclave a 121°C por 15 minutos e resfriado a 50°C, adicionado 1% de telurito de potássio (INLAB, São Paulo, Brasil) esterilizado por filtração e homogeneizado e distribuído em placa de Petri. As placas receberam 50 µL de diluição decimal de  $10^{-3}$  da amostra que foram espalhadas com alça de Drigalski descartável esterilizada (ref. 611) (CRAL, Cotia, Brasil) e mantidas em estufa a 35°C por 30 minutos e depois colocadas em jarras de

anaerobiose, em atmosfera de microaerofilia obtida pelo método da vela, por 48 horas a 35°C (Quadro 2).

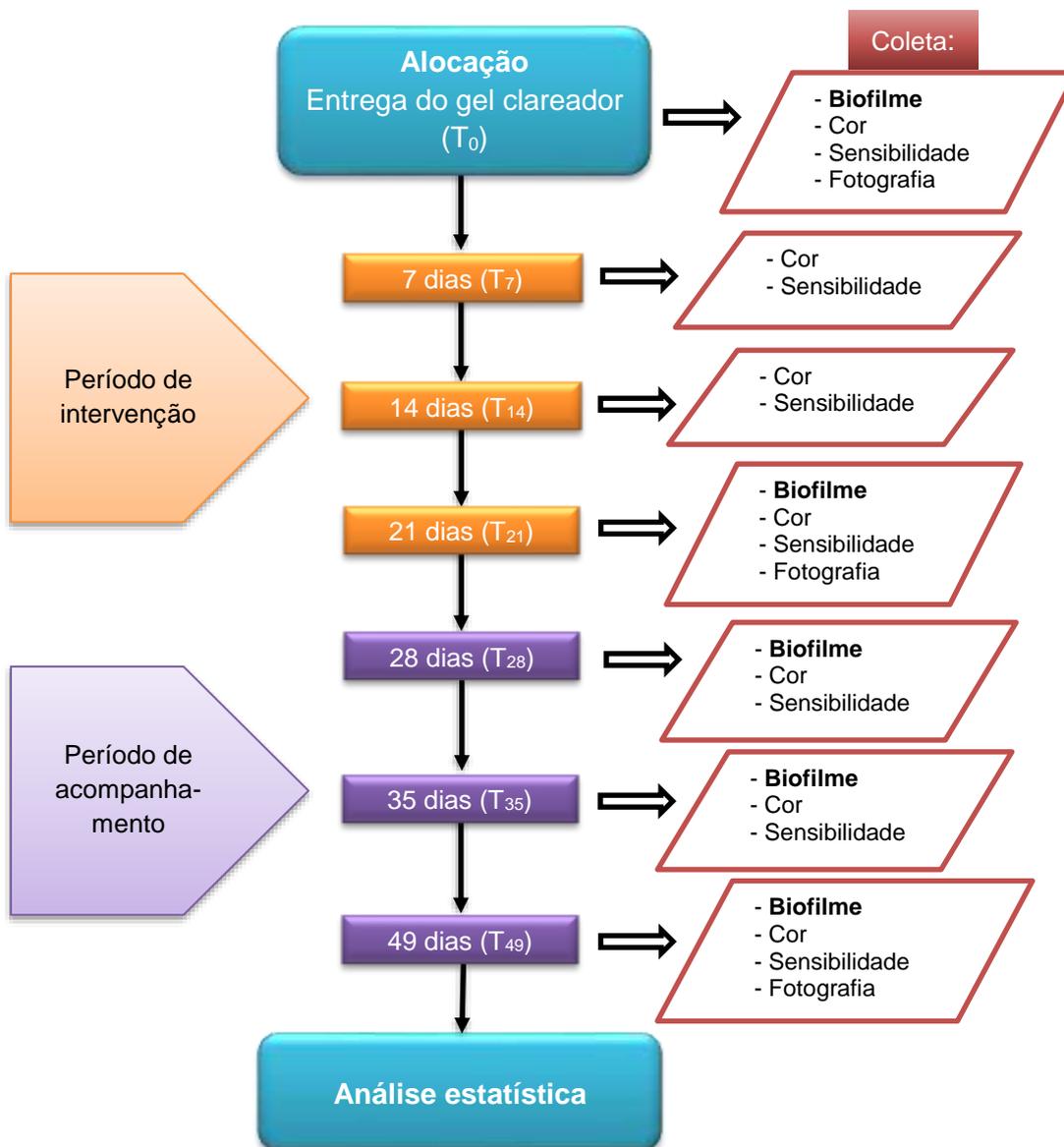


Figura 4. Cronograma da pesquisa detalhando dados e o momento que foram coletados.

Para o isolamento de *S. mutans* o meio *Mitis Salivarius* Bacitracina (MSB) foi preparado conforme Gold, Jordan e Van Houte (1973), com ágar MS (ref. 7277A) (Acumedia® - Neogen, Indaiatuba, Brasil), 15% de sacarose (Sacarose PA ref. 1894 – Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Diadema, Brasil), 1% de telurito de potássio (INLAB, São Paulo, Brasil) e bacitracina (Bacitracina Hidrossolúvel INLAB, São Paulo, Brasil) 200 UI/L. O MS é seletivo para estreptococos, a sacarose permite que *S. mutans* seja distinguido enquanto inibe outros organismos e a bacitracina é conhecida por inibir outros estreptococos orais (GOLD; JORDAN; VAN HOUTE,

1973). O ágar e a sacarose foram pesados e colocados em balão Erlenmeyer, adicionado água destilada e preparado conforme recomendações do fabricante, esterilizado em autoclave a 121°C por 15 minutos e resfriado a 50°C. As soluções de telurito de potássio e bacitracina esterilizadas por filtração foram acrescentadas ao meio, homogeneizadas e distribuídas em placas de Petri. Distribuiu-se 50 µL da amostra de biofilme em cada placa e espalhou-se com alça de Drigalski descartável esterilizado, em seguida colocadas em estufa a 35°C por 30 minutos e depois incubadas em ambiente de microaerofilia pelo método da vela a 35°C por 72 horas em jarra de anaerobiose (Quadro 2).

Para o isolamento de *Lactobacillus* spp foi utilizado o ágar *Lactobacilli* MRS (baseado nas formulações de deMan, Rogosa e Sharpe – MRS) (Acumedia® - Neogen, Indaiatuba, Brasil), preparado conforme recomendações do fabricante e esterilizado em autoclave a 121°C por 15 minutos, resfriado a 50°C e vertido em placas de Petri. Alíquotas de 50µL com diluição de 10<sup>-2</sup> da mostra de biofilme foram distribuídas sobre as placas e espalhadas com alça de Drigalski descartável esterilizado e mantidas em estufa a 35°C por 30 minutos e posteriormente incubadas a 35°C por 48 horas, em jarra de anaerobiose em microaerofilia obtida pelo método da vela (Quadro 2).

Quadro 2. Microrganismos estudados, meios de cultura utilizados e características do cultivo.

Microrganismos	Meio de cultura	Amostra		Tempo na estufa	Micro-aerofilia
		Quantidade	Diluição		
Totais	Ágar sangue	1 µL	-	24-48h	Não
<i>Streptococcus</i> spp. e <i>Enterococcus</i> spp.	Ágar <i>Mitis Salivarius</i>	50 µL	10 <sup>-3</sup>	48h	Sim
<i>Streptococcus mutans</i>	Ágar <i>Mitis Salivarius</i> Bacitracina	50 µL	-	72h	Sim
<i>Lactobacillus</i> spp.	Ágar <i>Lactobacilli</i> MRS	50 µL	10 <sup>-2</sup>	48h	Sim
<i>Candida</i> spp.	CHROMagar <i>Candida</i>	50 µL	-	5 dias	Não

Para *Candida* foi utilizado o meio CHROMagar *Candida* (CHROMagar™, Microbiology, France). Este meio, por conter substâncias cromogênicas, é útil para o crescimento e isolamento de diferentes espécies de leveduras da cavidade bucal. As colônias aparecem com cor característica, como mostra o Quadro 3 (RIBEIRO et al., 2009). O meio foi hidratado com água destilada esterilizada e aquecido até

homogeneização e vertido em placas de Petri. Amostras de 50µL de biofilme foram espalhadas com alça de Drigalski esterilizada descartável e incubadas em estufa em condições aeróbicas a 35°C por 5 dias (Quadro 2).

Todos os cultivos foram feitos em duplicata em placas de Petri de 60x15mm esterilizadas. Para a identificação e quantificação das UFC foram utilizados contador de colônias e lupa, fazendo-se a média entre as placas.

Quadro 3. Cor e morfologia das colônias de *Candida* em CHROMagar *Candida* (RIBEIRO et al., 2009).

Cor típica da colônia	Microrganismo
Verde	<i>Candida albicans</i>
Azul metálico	<i>Candida tropicalis</i>
Rosa rugosa	<i>Candida krusei</i>
Branca a rosa	Outras espécies

### 3.2 Avaliação da alteração de cor

O registro da cor foi realizado utilizando escala de cores VITA Classical Shade Guide (Vita Zahnfabrik H. Rauter GmbH & Co, Bad Säckinger, Alemanha) (Figura 5), do terço médio da superfície vestibular do elemento 11 (incisivo central superior direito), com iluminação ambiente, por examinadores experientes e pré-treinados, além disso, com fotografia (Figura 6) e registro no instrumento (ficha) de avaliação (Anexo 4).

Para a classificação da cor, foi utilizada uma escala ordenada por valores (Figura 7) baseada em uma tabela proposta por Medeiros e Lima (2008), que atribui um número para cada cor da escala VITA e incluímos o valor 0 (zero) para os dentes que apresentavam cor mais clara que B1. A cor escolhida na escala foi convertida no valor correspondente e registrada no instrumento de avaliação. Os resultados foram comparados com a cor inicial (baseline) de cada indivíduo.

A cor foi avaliada semanalmente, sem informar ao voluntário, de forma que este desconhecia se houve alteração de cor durante a pesquisa, somente ao final. Os registros fotográficos foram em T<sub>0</sub>, T<sub>21</sub> e T<sub>49</sub>, com afastadores labiais e câmera fotográfica digital NIKON D90, sensor CMOS 12.3mp, lente NIKKOR 50mm, configurada em modo macro, com foco, ISO, balanço de branco e flash automáticos.

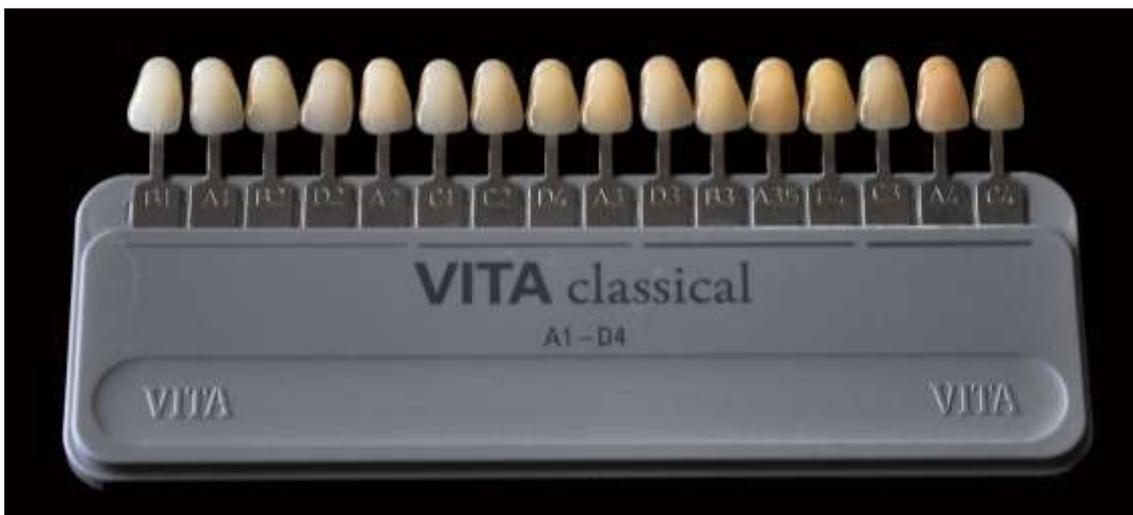


Figura 5. Escala VITA Classical ordenada por valor.



Figura 6. Tomada fotográfica da cor do incisivo central superior direito com escala VITA Classical.

Cor	<B1	B1	A1	B2	D2	A2	C1	C2	D4	A3	D3	B3	A3,5	B4	C3	A4	C4
Valor	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16

Figura 7. Classificação numérica da Escala de cores VITA ordenada por valores.

Na última sessão (T<sub>49</sub>), foram informados a cor inicial e final do dente, se houve alteração da cor e a qual dos grupos pertenciam. Os indivíduos do G<sub>P</sub> receberam neste dia géis clareadores, de acordo com sua preferência de horas de uso diário, para aplicação por 21 dias e orientações quanto ao uso.

### 3.3 Avaliação da sensibilidade dental

A presença de sensibilidade foi avaliada com escala de faces padronizada Wong-Baker (Wong-Baker FACES Foundation, 2018), com escores de 0 a 10 (Figura 8), onde o voluntário escolheu a expressão que melhor representava a dor dental no momento. Em caso de sensibilidade, o voluntário poderia entrar em contato a qualquer momento com um dos pesquisadores e, sendo necessário, receberia medicação

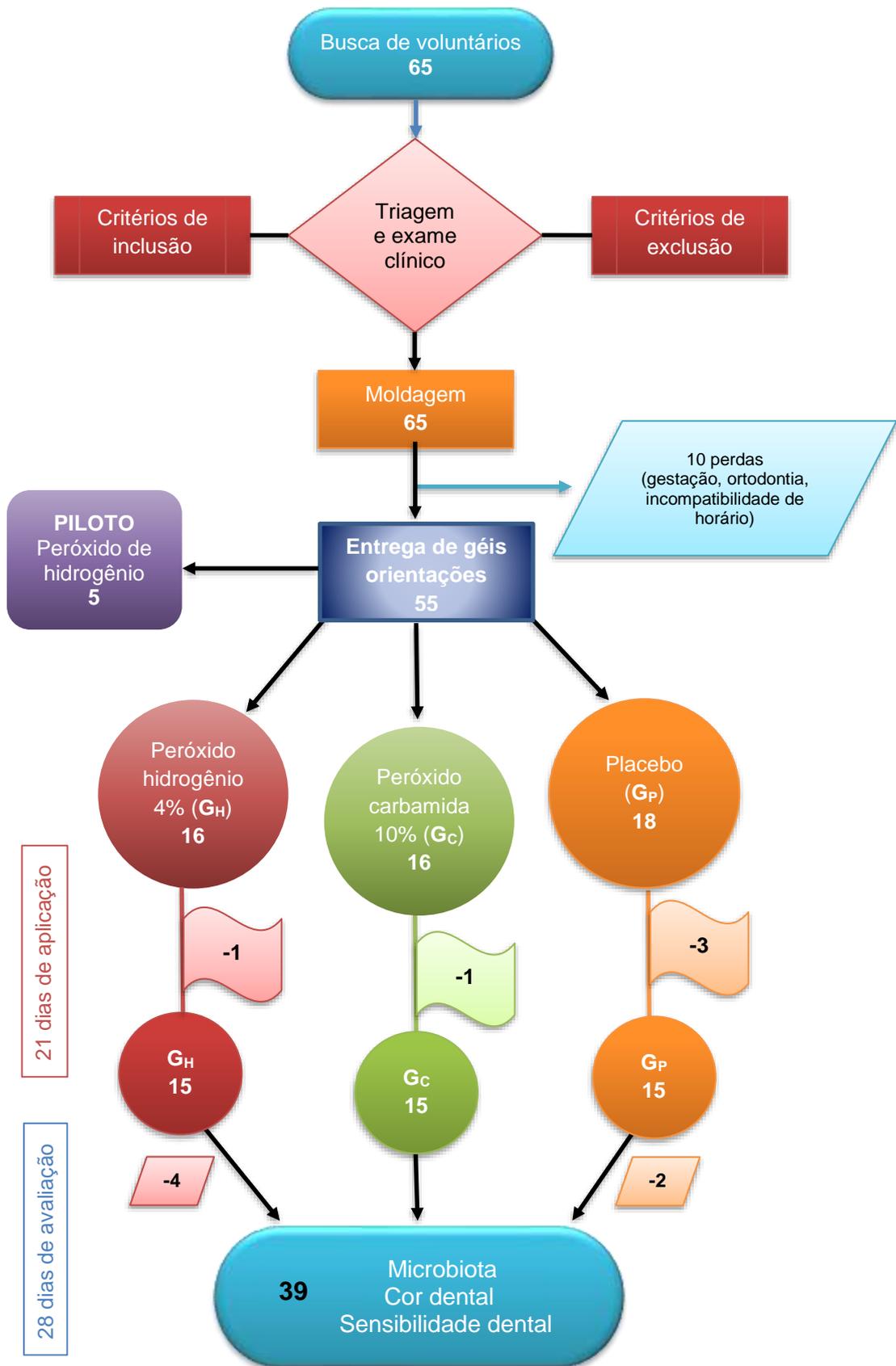
analgésica. Caso a dor fosse muito intensa, ou a critério do voluntário, o procedimento poderia ser interrompido.



Figura 8. Escala de faces padronizada tipo Wong-Baker (Wong-Baker FACES Foundation, 2018).

### 3.4 Análise estatística

Para a análise descritiva das informações foram utilizadas medidas de tendência central (média) e dispersão (desvio-padrão), bem como frequências relativas (%). A normalidade da distribuição dos dados foi testada para as variáveis contínuas utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Para as variáveis que apresentaram distribuição normal, testes paramétricos foram empregados, ao passo que quando o pressuposto da normalidade foi rejeitado, testes não paramétricos ou ajuste logarítmico foram utilizados. Para a comparação das características iniciais dos pacientes foi utilizado a ANOVA *one-way* e para os dados não paramétricos o teste de Kruskal-Wallis. O teste de Qui-quadrado foi utilizado para as variáveis categóricas. Já a comparação das variáveis entre os três grupos ao longo de tempo foi realizada através de modelos de Equações de Estimativa Generalizada, que foram ajustados de acordo com a distribuição da variável dependente (linear, binária, gamma ou poisson). Para a identificação das diferenças foi utilizado o teste *post-hoc* de Bonferroni. Todas as análises foram realizadas no programa estatístico SPSS 25.0 com significância de 5%.



**Figura 9.** Distribuição da amostra no ensaio clínico, desde o recrutamento até a análise final. A pesquisa iniciou com 65 voluntários, entretanto, somente 39 voluntários finalizaram o estudo.

## 4. REFERÊNCIAS

AKA, B.; CELIK, E. U. Evaluation of the efficacy and color stability of two different at home bleaching systems on teeth of different shades: a randomized controlled clinical trial. **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry**. v. 29, n.5, p. 325-338, 2017. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jerd.12296>>. Acesso em: 20 maio 2018.

ALKMIN, Y.T. et al. Comparative study of the effects of two bleaching agents on oral microbiota. **Operative Dentistry**. v. 30, n. 4, p. 317-423, 2005. Disponível em: <http://europepmc.org/abstract/med/16130860>. Acesso em: 31 jan. 2018.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da diretoria colegiada – RDC nº 06, de 06 de fevereiro de 2015**. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3529939/RDC\\_06\\_2015\\_.pdf/46e5cd3b-6b47-45ff-bc18-e2e41d7d5027](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3529939/RDC_06_2015_.pdf/46e5cd3b-6b47-45ff-bc18-e2e41d7d5027). Acesso em 09 jan. 2019.

ASHNAGAR, S. et al. Evaluation of the effect of different laser activated bleaching methods on enamel susceptibility to caries: an in vitro model. **Journal of Lasers in Medical Sciences**. v. 8, suppl 1, p. S62-S67, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5642181/>>. Acesso em: 02 jan. 2018.

BARATIERI, L. N. et al. **Odontologia restauradora: fundamentos e possibilidades**. 2.ed. São Paulo: Santos, 2015.

BASTING, R. T. et al. Clinical Comparative Study of the Effectiveness of and Tooth Sensitivity to 10% and 20% Carbamide Peroxide Home-use and 35% and 38% Hydrogen Peroxide In-office Bleaching Materials Containing Desensitizing Agents. **Operative Dentistry**, 2012. Disponível em: <<http://www.jopdentonline.org/doi/abs/10.2341/11-337-C?code=opdt-site>>. Acesso em: 05 mar. 2018.

BOWEN, W.G. et al. Oral biofilms: pathogens, matrix and polymicrobial interactions in microenvironments. **Trends in Microbiology**, v. 0, p. 1-14, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0966842X17302135>>. Acesso em: 11 fev. 2018.

BRISO, A. L. F. et al. A clinical, randomized study on the influence of dental whitening on *Streptococcus I* population. **Australian Dental Journal**, v. 0, p. 1-5, 2017. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/adj.12569>>. Acesso em: 02 jan. 2018.

CARDOSO, R. M. et al. A rugosidade do esmalte e o tratamento clareador. **Revista da Pós-Graduação**, v. 19 n. 2, p. 39-45, 2012. Disponível em: <<http://revodonto.bvsalud.org/pdf/rpg/v19n2/a01v19n2.pdf>>. Acesso em: 08 abr. 2017.

CASTRO, J. D. S. **Estudo dos efeitos do abuso de produtos de branqueamento no esmalte dentário**. 2015. 101f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, set. 2015.

Disponível em: <[https://run.unl.pt/bitstream/10362/16085/1/Castro\\_2015.pdf](https://run.unl.pt/bitstream/10362/16085/1/Castro_2015.pdf)>  
Acesso em: 18 nov. 2017.

COELHO-DE-SOUZA, F.H. et al. Avaliação clínica da eficácia do clareamento dental pela técnica caseira utilizando moldeiras com e sem alívio. **Stomatos**, v. 16, n. 30, p. 33-39, 2010. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/html/850/85015681005/>>.  
Acesso em: 05 mar. 2018.

CONSOLARO, A.; FRANCISCHONE, L. A.; CONSOLARO, R. B. **Dental Press Journal of Orthodontics**, v. 16, n. 2, p.28-35, mar./abr. 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/dpjo/v16n2/a03v16n2>>. Acesso em: 08 abr. 2017.

De LORENZO, J. L. **Microbiologia, Ecologia e Imunologia aplicadas à clínica odontológica**. São Paulo: Atheneu, 2010.

DEMARCO, F. F. et al. Preferences on vital and nonvital tooth bleaching: a survey among dentists from a city of southern Brazil. **Brazilian Dental Journal**, v. 24, n. 5, p. 527-531, 2013. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-4402013000500527](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-4402013000500527)>. Acesso em: 18 jul. 2018.

FALSETA, M. L. et al. Symbiotic relationship between *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* synergizes virulence of plaque biofilms *in vivo*. **Infection and Immunity**, v. 82, n. 5, p. 1968-1981, may 2014. Disponível em: <<http://iai.asm.org.ez89.periodicos.capes.gov.br/content/82/5/1968>>. Acesso em: 13 fev. 2018.

FERNANDES, T.V. Avaliação da efetividade de diferentes concentrações e composições de géis empregados no clareamento dentário caseiro: relato de caso. **Revista Dental Press Estética**, v. 10, n. 2, p. 48-55, 2013.

FERREIRA, D. L. A. **Contagem de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus spp* e avaliação da atividade antagonista da microbiota em portadores de síndrome de Down**. 2009. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Saúde) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2009. Disponível em: <<http://leg.ufpi.br/subsiteFiles/mestsauade/arquivos/files/dissertacao%20danyege.pdf>>. Acesso em: 30 maio 2018.

FRANZ-MONTAN, M. et al. O efeito de técnicas combinadas de clareamento na microbiota bucal. **Indian Journal of Dental Research**; v. 20, p. 304-7, 2009. Disponível em: <<http://sci-hub.tw/http://www.ijdr.in/text.asp?2009/20/3/304/57367>>. Acesso em: 11 fev. 2018.

GOLD, O. G.; JORDAN, H. V.; VAN HOUTE J. A selective medium for *Streptococcus mutans*. **Archives of Oral Biology**, v. 18, p. 1357-1364, 1973. Disponível em: <<http://gckorea.co.kr/product/Gold%20et%20al.pdf>>. Acesso em: 22 jul. 2018.

GOLDBERG, M.; GROOTVELD, M.; LYNCH, E. Undesirable and adverse effects of tooth-whitening products: a review. **Clinical Oral Investigations**, v. 14, p. 1-10, 2010. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00784-009-0302-4>. Acesso em: 27 jul. 2018.

GURGAN, S.; BOLAY, S.; ALAGAM, R. Antibacterial activity of 10% carbamide peroxide bleaching agents. **Journal of Endodontic**, v. 22, n. 7, 1996. Disponível em: <[https://www.jendodon.com/article/S0099-2399\(96\)80217-2/abstract](https://www.jendodon.com/article/S0099-2399(96)80217-2/abstract)>. Acesso em: 30 jan. 2018.

HAYWOOD, V.B., HEYMANN, H.O. Nightguard vital bleaching: how safe is it? **Quintessence International**, v. 22, n. 7, p515-523, 1991. Disponível em: <<http://web.a-ebscohost-com.ez89.periodicos.capes.gov.br/ehost/pdfviewer/pdfviewer>>. Acesso em: 20 jan. 2018.

JHA, N. et al. Generation and role of reactive oxygen and nitrogen species induced by plasma, lasers, chemical agents, and other systems in dentistry. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2017. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/omcl/2017/7542540/abs/>>. Acesso em: 02 jan. 2018.

KIELBASSA A. M. et al. Toothsensitivity during and after vital tooth bleaching: a systematic review on an unsolved problem. **Quintessence International**, v. 46, p. 881–897, 2015. Disponível em: <<http://web.b-ebscohost-com.ez89.periodicos.capes.gov.br/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=1&sid=c30ca17c-784b-4cd6-8e0b>>. Acesso em: 19 jul. 2018.

LAZARCHIK, D. A.; HAYWOOD, V. B. Use of tray-applied 10 percent carbamide peroxide gels for improving oral health in patients with special-care needs. **Journal of American Dental Association**, v. 141, n. 6, p. 639-646, 2010. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002817714647395>>. Acesso em: 30 jan. 2018.

LEE, D. K.; KASTL, C.; CHAN, D. C. N. Bleachorexia - an addictive behavior to tooth bleaching: a case report. **Clinical Case Reports**, v. 6, n. 5, p. 910-914, 2018. Disponível em: <<https://onlinelibrary-wiley.ez89.periodicos.capes.gov.br/doi/abs/10.1002/ccr3.1402>>. Acesso em: 20 maio 2018.

LEITES, A. C. B. R.; PINTO, M. B.; SOUSA, E. R. S. Aspectos microbiológicos da cárie dental. **Salusvita**, Bauru, v. 25, n. 2, p. 239-252, 2006. Disponível em: <[https://secure.usc.br/static/biblioteca/salusvita/salusvita\\_v25\\_n2\\_2006\\_art\\_09.pdf](https://secure.usc.br/static/biblioteca/salusvita/salusvita_v25_n2_2006_art_09.pdf)>. Acesso em: 22 maio 2018.

LUQUE-MARTINEZ, I. et al. Comparison of efficacy of tray-delivered carbamide and hydrogen peroxide for at-home bleaching: a systematic review and meta-analysis. **Clinical Oral Investigations**, v. 20, p. 1419–1433, 2016. Disponível em: <<https://link-springer-com.ez89.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s00784-016-1863-7>>. Acesso em: 04 mar. 2018.

MATOS, B. M. et al. Comparação da atividade antimicrobiana de soluções de peróxido de hidrogênio e malva sobre *Candida albicans*. **Ciência Odontológica Brasileira**, v. 12, n. 2, p. 24-28, abr./jun., 2009. Disponível em: <<http://ojs.ict.unesp.br/index.php/cob/article/viewFile/347/276>>. Acesso em: 14 jun. 2018.

MEDEIROS, M. C. S.; LIMA, K. C. Effectiveness of nightguard vital bleaching with 10% carbamide peroxide: a clinical study. **Journal of the Canadian Dental**

**Association**, v. 74, n. 2, p. 163a-163e, 2008. Disponível em: <<http://www.cda-adc.ca/jcda/vol-74/issue-2/163.html>>. Acesso em: 10/03/18.

METWALLI, K. H. et al. *Streptococcus mutans*, *Candida albicans* and the human mouth: a sticky situation. **PLOS Pathogens**. v. 9, n. 10, e1003616, oct. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003616>>. Acesso em: 13 fev. 2018.

MOREIRA, A. C. A. et al. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de antissépticos bucais. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v.8, n.2, p.153-161, maio/ago. 2009. Disponível em: <<https://rigs.ufba.br/index.php/cmbio/article/view/4065>>. Acesso em: 04 mar. 2018.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia médica**, Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

NETTO, G.; et al. **Dentística Restauradora: restaurações diretas**. São Paulo: Santos, 2003.

PREIDIS, G.A.; VERSALOVIC, J. Targeting the human microbiome with antibiotics, probiotics, and prebiotics: gastroenterology enters the metagenomics era. **Gastroenterology**. v. 136, p. 2015–2031, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016508509002935>. Acesso em: 22 fev. 2019.

RESENDE, L. G. et al. Toxicidade de agentes clareadores sobre *Streptococcus mutans*. **Revista Dens**, v, 15, n. 2, nov./abr. 2007. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/dens/article/view/9365>>. Acesso em: 01 mar. 2018.

RIBEIRO, D. A. et al. Genotoxicity induced by dental materials: a comprehensive review. **Anticancer Research**, v. 37, p. 4017-4024, 2017. Disponível em: <<http://ojs.ict.unesp.br/index.php/cob/article/viewFile/641/545>>. Acesso em: 02 jul. 2018.

RIBEIRO, P. M. et al. Isolamento de *Candida* spp. com utilização de meio de cultura cromogênico CHROMagar *Candida*. **Brazilian Dental Science**, v. 12, n. 4, p. 40-45, out./dez. 2009. Disponível em: <<http://bds.ict.unesp.br/index.php/cob/article/view/641>>. Acesso em: 22 jul. 2018.

RIEHL, H.; NUNES, M. F. As fontes de energia luminosa são necessárias na terapia de clareamento dental? In: 25º Congresso Internacional de Odontologia de São Paulo, 2007, **e-book Jubileu de Ouro CIOSP**, São Paulo, Associação Paulista de Cirurgiões Dentista, p.200-232, 2007. Disponível em: <[https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/36682786/cap07\\_padrao.pdf](https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/36682786/cap07_padrao.pdf)>. Acesso em: 17 jan. 2018.

ROSIER, B. T.; MARSH, P. D.; MIRA, A. Resilience of the oral microbiota in health: mechanisms that prevent dysbiosis. **Journal of Dental Research**, p. 1-10, 2017. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/0022034517742139>>. Acesso em: 13 fev. 2018.

SILVA, F. M. M.; NACANO, L.G.; GAVA PIZI, E. C. Avaliação clínica de dois sistemas de clareamento dental. **Revista Odontológica do Brasil Central**, v. 21, n.

56, 2012. Disponível em: <<http://www.robrac.org.br/seer/index.php/ROBRAC/article/view/623>>. Acesso em: 04 mar. 2018.

SOARES, F. F. et al. Clareamento em dentes vitais: uma revisão literária. **Revista Saúde.com.**, v. 4, n. 1, p. 72-84, 2008. Disponível em: <<http://www.uesb.br/revista/rsc/ojs/index.php/rsc/article/view/86>>. Acesso em: 04 abr. 2018.

SPOLIDORIO, D. M. P. **Biotipos de *Streptococcus grupo mutans* e avaliação de parâmetros clínicos e microbiológicos entre escolares de diferentes classes sócio-econômicas.** 1997, 130f. Tese (Doutorado em Ciências) Faculdade de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 1997. Disponível em: <[http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/289348/1/Spolidorio\\_DeniseMadalenaPalomari\\_D.pdf](http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/289348/1/Spolidorio_DeniseMadalenaPalomari_D.pdf)>. Acesso em: 22 maio 2018.

STAMATOVA, I.; MEURMAN, J. H. Probiotics: health benefits in the mouth. **American Journal of Dentistry.** v. 22, p. 329–338, 2009. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Jukka\\_Meurman/publication/41547287\\_Probiotics\\_Health\\_benefits\\_in\\_the\\_mouth/links/55cde60d08ae6a881380957a.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Jukka_Meurman/publication/41547287_Probiotics_Health_benefits_in_the_mouth/links/55cde60d08ae6a881380957a.pdf). Acesso em 22 fev. 2019.

SZTAJER, H. et al. Cross-feeding and interkingdom communication in dual-species biofilms of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. **The ISME Journal**, v. 8, p. 2256–2271, 2014. Disponível em: <<https://www-nature.ez89.periodicos.capes.gov.br/articles/ismej201473>>. Acesso em: 13 fev. 2018.

TAKESHITA, T. et al. Bacterial diversity in saliva and oral health-related conditions: the Hisayama Study. **Scientific Reports.** v. 6, 2016. Disponível em: <<https://www-nature.ez89.periodicos.capes.gov.br/articles/srep22164>>. Acesso em: 13 fev. 2018.

TANNER, A. C. R. et al. The caries microbiome: implications for reversing dysbiosis. **Advances in Dental Research**, v. 29, n. 1, p. 78-85, 2018. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com.ez89.periodicos.capes.gov.br/doi/abs/10.1177/0022034517736496>>. Acesso em: 11 fev. 2018.

Wong-Baker FACES Foundation (2018). **Wong-Baker FACES® dor Rating Scale.** Consultado em 2018 com a permissão de <http://www.WongBakerFACES.org>.

ZHENG, C. Y. et al. Effects of hydrogen peroxide-containing bleaching on cariogenic bacteria and plaque accumulation. **The Chinese Journal of Dental Research**, v. 14, n. 1, 2011. Disponível em: [https://cjdr.quintessenz.de/cjdr\\_2011\\_01\\_s0047.pdf](https://cjdr.quintessenz.de/cjdr_2011_01_s0047.pdf). Acesso em: 09 jan. 2018.

## 5. ARTIGO CIENTÍFICO:

# AT-HOME TOOTH BLEACHING: MICROBIOTA, SENSITIVITY AND EFFECTIVENESS

Authors:

ÉRICA LURIKO HAMADA

KEILA BRACKER

BRUNA ANDREIA FOLTZ NEVES

Abstract word count: 231

Total de palavras de abstract-acknowledgments: 3.435

Total number of tables/figures: 5

Total number of references: 39

**Keywords:** Biofilms, Bleaching Agents, Clinical Trial, Dental Plaque, Carbamide Peroxide, Hydrogen Peroxide, Oral Health, Peroxides.

# At-home tooth bleaching: microbiota, sensitivity and effectiveness

## Abstract

Tooth bleaching has become a much required aesthetic procedure in the pursuit of a perfect smile. However, the use of products without the supervision of a dentist, whether for an exaggerated time or a very high concentration, can cause damage to both the tooth structure and the oral microbiota, leading to an imbalance capable of favoring the installation of pathologies. The objective of this study was to evaluate if the at-home tooth bleaching causes some changes in the oral microbiota, especially in *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* and *Candida* species. Through a double-blind randomized controlled clinical trial, volunteers were divided into three groups: 10% carbamide peroxide, 4% hydrogen peroxide, and placebo gel. Biofilm samples were collected at five times: before bleaching treatment, after 21 days of bleaching gel use and 7, 14 and 28 days after stop the the treatment, and cultured in culture means. In addition, the effectiveness and the presence of tooth sensitivity among the products used were compared. The results indicated that both carbamide peroxide and hydrogen peroxide were effective and caused mild and transient dental sensitivity. In the concentrations used, only *Lactobacillus* were affected during bleaching, returning to normal levels after 7 days. There was no statistically significant difference in action between the two bleaching agents studied. The research project was approved by the Research Ethics Committee from the Universidade Estadual do Oeste do Paraná/UNIOESTE, registration number 2,625,292.

**Keywords:** Biofilms, Bleaching Agents, Clinical Trial, Dental Plaque, Carbamide Peroxide, Hydrogen Peroxide, Oral Health, Peroxides.

## 1 INTRODUCTION

Have a smile that matches the standards established by society contributes to an increase in self-esteem and confidence, and the tooth bleaching is a transforming smile procedure, being generally the first choice in aesthetic dental treatments.

The at-home technique is considered the gold standard in several studies on the efficacy of bleaching therapies (Briso et al. 2017), in which products with low concentrations are used and presents as advantages: less aggressiveness to tissues,

lower cost, less recurrence of shade in the long term, shorter time in clinical consultations, easy application and high success rates. However, they require an extended time of daily use for 2 to 3 weeks to have effective results (Luque-Martinez et al. 2016).

However, the intense demand for whitening and the uncontrolled use of products, with exaggerated concentration or time of use, can cause damage to the dental tissue and the oral microbiota, facilitating the pathogens installation.

The objective of this study is to analyze the effect of at-home tooth bleaching on the oral microbiota, both in pathogenic microorganisms and in commensals. In addition, check the shade change, the presence of tooth sensitivity and compare the results between 10% carbamide peroxide and 4% hydrogen peroxide.

### **1.1 Oral microbiota and dental biofilm**

The mouth, due to its anatomical complexity, does not shelter a single microbiota. The most frequent relationship established between the resident microbiota and the host is commensalism, where the microbiota competes with invading microorganisms, eliminates exogenous pathogens, contributes to nutrition producing vitamins, enzymes and the development of the immune system. A biological imbalance may allow the numerical increase of some pathogenic species, resulting in damage to host health (De Lorenzo 2010).

These microbiots are composed by many bacterial, fungi and viruses species, where the ecological and dysbiose principles are applied to explain their ability to cause disease (Bowen et al. 2017). Many factors affect their composition as: age, diet, oral hygiene, systemic and immune conditions, and some medicines (Metwalli et al. 2013; Bowen et al. 2017).

The dental biofilm is a dense, non-calcified and very well structured biomass that adheres to the tooth, composed by microorganisms involved and agglutinated by an intercellular matrix. They are dynamic structures and are associated to the most common oral diseases: caries and periodontal diseases (De Lorenzo 2010; Takeshita et al. 2016; Rosier et al. 2017).

Dental caries is a diet-driven biofilm disease and microbiota-matrix interactions (Bowen et al. 2017) and the main associated pathogens include *Streptococcus*

*mutans*, *Streptococcus sobrinus*, many *Lactobacillus* and *Actinomyces* species (Tanner et al. 2018).

*Streptococcus mutans* are Gram-positive, facultative anaerobic, acidogenic, aciduric and strongly associated to dental caries, mainly for their ability to utilize a wide variety of carbohydrates to produce extracellular matrix and acids, as well as resistance to stress, acid tolerance and interacting dynamically with other organisms (Bowen et al. 2017).

*Lactobacillus* are Gram-positive, facultative anaerobes and sometimes microaerophilic, acidogenic, aciduric, and play a more important role in the progression than in dental caries (Leites et al. 2005). They are commonly used as probiotics, for health promotion (Stamatova and Meurman 2009), to influence immune responses, nutrition and well-being (Preidis and Versalovic 2009).

*Candida* is the most common of the opportunistic fungal pathogens and it is estimated that 25 to 50% of the healthy people have it as part of the normal microbiota of the mouth, 70 to 80% are *Candida albicans* (Murray 2006). Candidosis is the most frequent fungal infection in the oral cavity, *C. albicans* being the main species involved (Matos et al. 2009). *C. albicans* associates synergistically to *S. mutans* increasing the biofilm virulence leading to the onset of rampant carious lesions (Metwalli et al. 2013; Falseta et al. 2014; Sztajer et al. 2014; Bowen et al. 2017).

## 1.2 Peroxides

Peroxides are considered to be the most effective oxidants and with lower potential for side effects (Riehl and Nunes 2007). Most bleaching agents contain in their basic formula hydrogen peroxide or carbamide peroxide, varying only in their concentration (Castro 2015).

Agents with higher concentrations were developed to accelerate the speed of therapy, but as a consequence, side effects such as tooth sensitivity (Riehl and Nunes 2007; Kielbassa et al. 2015), gingival irritation (Baratieri et al. 2015), changes in enamel micromorphology, chemical composition, microhardness and opalescence, reduction in the bond strength of the adhesives to the dental structure (Baratieri et al. 2015). In addition, the abusive use may also induce the burning sensation in tongue and throat, change in taste (Kielbassa et al. 2015), pulp alterations (Goldberg et al.

2010), may be oral carcinogenesis promoter (Consolaro et al. 2011) and genotoxic (Ribeiro et al. 2017).

Lee et al. (2018) warn that bleaching dependence can become a pathology, the Bleachorexia, where the person supposes that their teeth are not white enough and applies products without time and concentration limits, causing damages to the tooth structure, extreme sensitivity and gingival irritation.

### **1.3 Effectiveness**

The effectiveness of tooth bleaching can be influenced by a variety of factors: patients sex and age, tooth initial shade, color change etiology, product concentration and kind, frequency and time contact, and all these factors equally affect the subsequent color stability. Among these factors, the material time contact on the tooth surface is the most influential. Another important finding is that there is a maximum bleaching threshold, where no additional treatment of any kind will make the tooth lighter (Lee et al. 2018).

### **1.4 Tooth sensitivity**

Kielbassa et al. (2015) in a systematic review found that the most commonly reported side effect in tooth bleaching is sensitivity, followed by gingival irritation. Tooth sensitivity is an acute, multifactorial event, limited to one or a few teeth, transient, and may be associated to preexisting sensitivity, enamel defects, cavitations, gingival recessions, age, gender, eating habits, bleaching agent composition, subjectivity and environmental factors. The most likely cause is a reversible pulpitis, which causes some degree of pulp inflammation due to the hydrogen peroxide penetrates the enamel and dentin, reaching the pulp. Riehl and Nunes (2007) and Sever et al. (2017) emphasize the sensitivity is directly related to the concentration of bleaching agent.

## **2 METHODOLOGY**

The research project was approved by the Research Ethics Committee from the Universidade Estadual do Oeste do Paraná/UNIOESTE, by a consolidated opinion

number 2,625,292. The privacy of the research subjects and data collected were preserved, used anonymously and their rights protected by law. This randomized double-blind controlled clinical trial was conducted among May and December 2018.

The allocation and clinical procedures were performed at the dental clinic of the União de Ensino do Sudoeste do Paraná - UNISEP, Francisco Beltrão, among patients and undergraduate students of the institution. Inclusion criteria were: minimum age of 18 years, desire to undergo at-home tooth bleaching, good general and oral health conditions and not having undergone any kind of tooth bleaching or did it for more than six months.

The exclusion criteria were: presence of carious lesion, periodontal problems, fractured restorations, dental prostheses, fixed orthodontic appliance, very extensive restorations in upper incisors, smoking, gestation, lactation, dentin hypersensitivity, xerostomia, allergy to any of the products used, any medication, pathology or event that changes the oral microbiota during the search and time unavailability.

Seventy volunteers were evaluated for eligibility, those who were eligible and agreed to undergo bleaching treatment were instructed and signed the Informed Consent Form Templates, then photographed and molded to make acetate trays (Whiteness – FGM Dentscare Ltda, Joinville, Brazil) without relieving, 2mm above the free marginal gingiva, for the upper and lower arch.

The volunteers used the trays daily for 21 days, according to the manufacturer's recommendations: the 10% carbamide peroxide group (G<sub>C</sub>) (Whiteness Perfect 10% - FGM Dentscare Ltda, Joinville, Brazil) 4hours a day; the 6% hydrogen peroxide group (G<sub>H</sub>) (White Class with calcium 4% - FGM Denstcare Ltda, Joinville, Brazil) 2hours a day; and the placebo group (G<sub>P</sub>) with Carbopol gel (Formulativa Manipulation Pharmacy, Francisco Beltrão, Brazil) 2hours a day.

## **2.1 Dental biofilm**

The dental biofilm sample was collected from the vestibular face of elements 41 and 36 with a sterilized dentin graft, scraping in the cervical, in a single movement from distal to mesial. In the impossibility of these, were collected from the counterparts of the opposite arc (31 and 46). The volunteers were instructed to maintain their normal

oral hygiene routine, however, on the day of collection they did not brush or eat food at least two hours earlier.

The samples were collected in five moments: before the beginning of the bleaching (T<sub>0</sub>), after 21 days of intervention (T<sub>21</sub>), and 7, 14 and 28 days after the end of treatment (T<sub>28</sub>, T<sub>35</sub> and T<sub>49</sub> respectively). Laboratory analyzes were performed at the Laboratory of Microbiology of Unioeste.

For the total microorganisms analysis, Blood Agar Base (KASVI, São José dos Pinhais, Brazil) was used with 5% defibrinated and sterilized sheep blood (Dislab – Laborclin, Maringá, Brazil).

For the *Streptococcus* and *Enterococcus* isolation, the agar *Mitis Salivarius* (MS) (Acumedia® - Neogen, Indaiatuba, Brazil) was used with 1% potassium telluride (INLAB, São Paulo, Brazil).

For the *S. mutans*, *Mitis Salivarius* Bacitracin (MSB) was used: MS agar, 15% sucrose (Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Diadema, Brazil), 1% potassium tellurite, and bacitracin (Bacitracin Hydrosoluble INLAB, São Paulo, Brazil) 200 IU/L.

For *Lactobacillus* species, the *Lactobacilli* MRS agar (Acumedia® - Neogen, Indaiatuba, Brazil) was used. And for *Candida* species, CHROMagar *Candida* (CHROMagar™, Microbiology, France) was used.

## 2.2 Shade evaluation

The shade was evaluated on the middle third of the vestibular surface of element 11, with VITA Classical Shade Guide (Vita Zahnfabrik H. Rauter GmbH & Co, Bad Säckinger, Germany) and NIKON D90 digital camera. For shade change rating it was used a scale ordered by values (Figure 1). The initial and final shade was revealed to the volunteer only at the end of the study (T<sub>49</sub>), as well as which group it belonged to.

Color	<B1	B1	A1	B2	D2	A2	C1	C2	D4	A3	D3	B3	A3.5	B4	C3	A4	C4
Value	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16

**Figure 1.** Numerical classification of the VITA Color Scale ordered by values. This classification was based on a table proposed by Medeiros and Lima (2008), which assigns a number to each shade of the VITA scale and includes the value 0 (zero) for the teeth that presented a lighter shade than B1. Color-taking was performed with ambient lighting by experienced and pre-trained examiners. The shade chosen in the Vita Scale was converted into the corresponding value and annotated with each weekly return. In addition to the Vita scale, it was made a photographic shot at T<sub>0</sub>, T<sub>21</sub> e T<sub>49</sub> moments.

## 2.3 Tooth sensitivity

The presence of tooth sensitivity was evaluated at each weekly control, using the Wong-Baker standardized face scale (Wong-Baker FACES Foundation, 2018), with scores ranging from 0 to 10 (Figure 2).



**Figure 2.** Wong-Baker standardized face scale (Wong-Baker FACES Foundation, 2018). Sensitivity control was performed weekly and the volunteer chose the expression that best represented the dental pain at the time. In case of sensitivity, the individual could contact the researchers at any time and, if necessary, he would receive analgesic medication. If the pain was very intense, or at the discretion of the volunteer, the procedure could be discontinued.

## 2.4 Statistical analysis

For the descriptive analysis, measures of central tendency (average), dispersion (standard deviation) and relative frequencies were used. The normality of the data distribution was tested for the continuous variables using the Shapiro-Wilk test. For the variables with normal distribution, parametric tests were used, and when the normality assumption was rejected, nonparametric tests or logarithmic adjustment were used. To compare the initial characteristics, one-way ANOVA or Kruskal-Wallis nonparametric test was used. The chi-square test was used for the categorical variables. The comparison of the variables among the three groups over time was performed using Generalized Estimation Equation models, adjusted according to the distribution of the dependent variable (linear, binary, gamma or poisson). Bonferroni's post-hoc test was used to identify the differences. The analyzes were performed in the statistical program SPSS 25.0 with significance of 5%.

### 3. RESULTS

The sample distribution of this study is represented in the histogram (Figure 3) and the initial characteristics of the participants according to the experimental group are presented in table 1.

Both PC and PH were effective, whitening the teeth without statistical difference between them. The greatest shade change was observed in the first week of intervention (T<sub>7</sub>) but changes were noted up to 28 days after the end of the intervention (T<sub>49</sub>), that is, the bleaching agents continued to act and the shade in T<sub>49</sub>, in the majority of subjects, was slightly more clear than in T<sub>21</sub>.

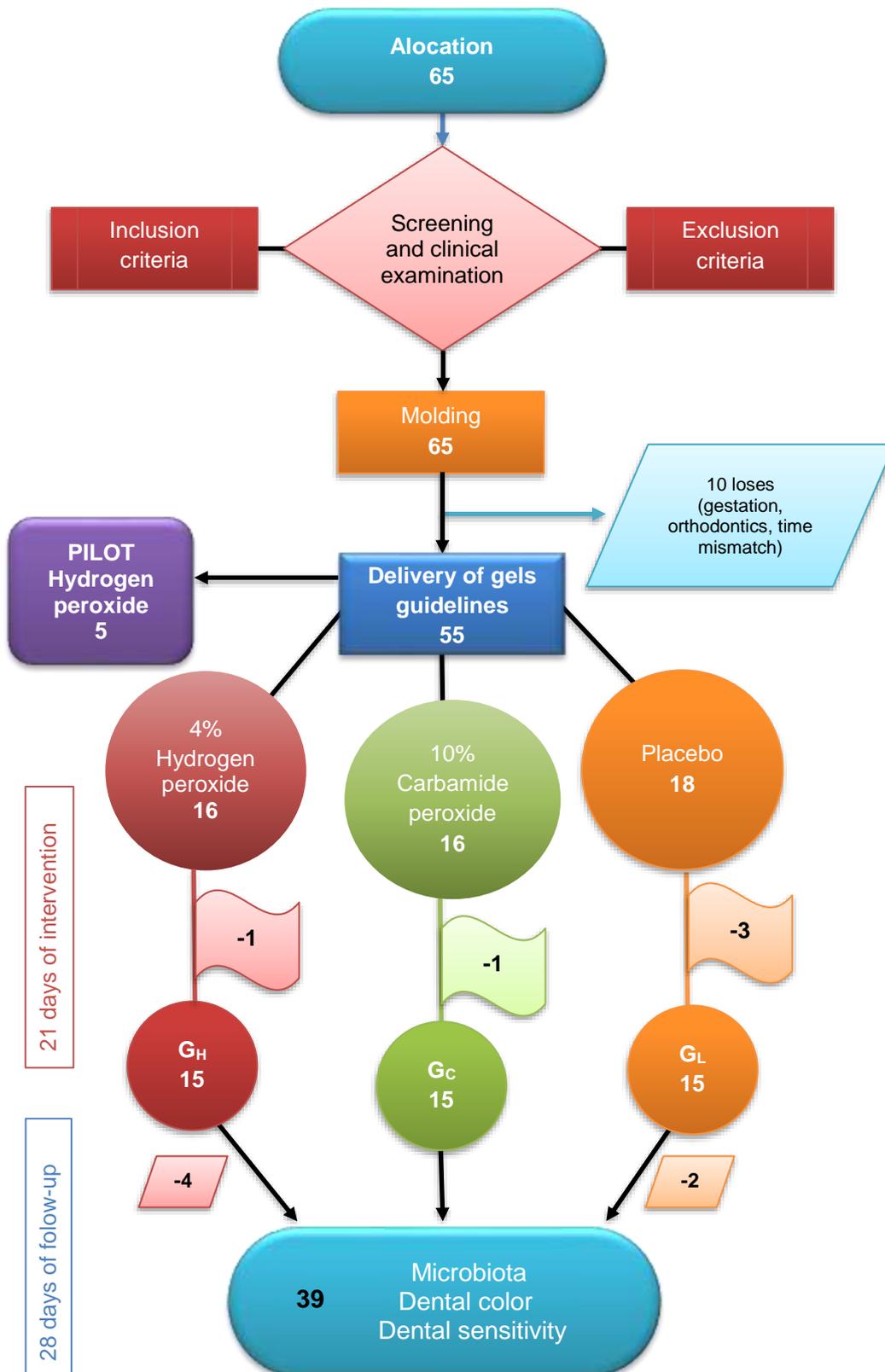
PC and PH caused tooth sensitivity during its application, which was not reported after 7 days without usage. There was no significant difference among bleaching agents, however, clinically the G<sub>H</sub> group presented greater pain intensity. In volunteers who used bleaching agents, 75% experienced some sensitivity, usually mild. And 25% of the placebo group also reported sensitivity.

The cultures of blood agar, MS, MSB and CHROMagar *Candida* showed no statistically significant difference among the groups, according to table 2. For *Lactobacilli* MRS, the differences were especially between T<sub>0</sub> and T<sub>21</sub> (intervention period), returning to normal values after 7 days. During the intervention, reductions were observed in the G<sub>C</sub> and G<sub>H</sub> groups, while an increase was observed in the G<sub>C</sub>. However, there was no difference between the G<sub>C</sub> and G<sub>H</sub> groups.

In CHROMagar, the most common species was *C. albicans* (72.72%), followed by *C. tropicalis* (19.69%).

### 4 DISCUSSION

Tooth bleaching is a therapeutic option widely used by dentists to improve dental aesthetics by being conservative and providing quick and satisfactory results. However, there is an excessive search by some individuals for clearer teeth, what can be characterized as a pathology, without professional follow-up, very high concentrations or exacerbated time, leading to the risk of damage to the dental structure and oral microbiota.



**Figure 3.** Distribution of the sample in the clinical trial with at-home tooth bleaching from recruitment to final analysis. After disclosing of the research, 70 volunteers were allocated and examined for inclusion and exclusion criteria, 5 were excluded due to time inconsistency. Those who were fit and agreed to undergo the bleaching procedure signed the TCLE, were molded and photographed. Before the beginning of the intervention period, 10 people were lost (2 pregnancies, 1 withdrawal and 7 scheduling incompatibilities) and 5 were randomly selected to form a pilot study to validate the

questionnaire and culture means. The remaining individuals were divided according to shade and performed stratified randomization, so that each group contained similar shades. Gels were used for 21 days, shade and sensitivity were evaluated weekly. After the intervention period, 7, 14 and 28 days follow-up were performed. There were 11 more volunteers losses due to time inconsistency. 39 completed the study. In T<sub>49</sub> G<sub>P</sub> received bleaching gels for application for 21 days. The initial lighter color was A1 (1) and the darker was A3.5 (12).

**Table 1.** Initial characteristics of participants.

	<b>4% Hydrogen peroxide</b>	<b>10% Carbamide peroxide</b>	<b>Placebo</b>	<b>p</b>
Age	24.0 ± 5.5	23.2 ± 4.6	27.9 ± 9.0	0.099
Female	82.4%	75%	82.4%	0.832
Higher level of schooling	29.4%	25.0%	35.3%	0.721
Previous whitening	47.1%	68.8%	58.8%	0.450
Initial shade	4.40 ± 3.13	6.00 ± 2,88	4.85 ± 3.11	0.235
Total microorganisms (x 10 <sup>5</sup> UFC/mL)	1.16 ± 1.19	0.96 ± 0.67	0.79 ± 1.05	0.249
Total <i>Streptococcus</i> (x 10 <sup>5</sup> UFC/mL)	3.62 ± 5.97	4.17 ± 7.18	2.67 ± 3.58	0.767
<i>Streptococcus mutans</i> (x 10 <sup>2</sup> UFC/mL)	14.02 ± 23.85	1.36 ± 1.40	7.07 ± 19.9	0.023
<i>Lactobacillus</i> (x 10 <sup>4</sup> UFC/mL)	1.69 ± 2.32	0.52 ± 0.48	0.28 ± 0.36	0.334
<i>Candida</i> spp. (x 10 UFC/mL)	0.25 ± 0.71	1.43 ± 4.32	0.33 ± 0.78	0.453

**Note.** Values are presented in average and standard deviation or relative frequency. Statistically significant differences were found only in *Streptococcus mutans* variable, in which the hydrogen group 4% presented values higher than the carbamide group. The other variables were similar among the three groups (p > 0.05) at baseline.

**Table 2.** Changes in shades, tooth sensitivity and oral microbiota throughout the follow-up period in the experimental groups.

	<b>4% Hydrogen</b>	<b>10% Carbamide</b>	<b>Placebo</b>	<b>Effects</b>	<b>p</b>
<b>Shade</b>					
Day 0	4.40 ± 3,13	6.00 ± 2.88	4.85 ± 3.11	Group	0.004
Day 7	2.50 ± 2,76	2.29 ± 1.68	4.38 ± 3.20	Time	<0.001
Day 14	1.40 ± 0,52	1.57 ± 1.22	4.54 ± 3.18	Interaction	<0.001
Day 21	1.00 ± 0,67	1.50 ± 1.45	4.38 ± 3.18		
Day 28	0.90 ± 0,74	1.29 ± 1.49	4.62 ± 3.20		
Day 35	0.90 ± 0,73	1.36 ± 1.55	4.62 ± 3.20		
Day 49	0.70 ± 0,67	1.21 ± 1.58	4.62 ± 3.20		
<b>Pain</b>					
Day 7	1.75 ± 2,52	1.00 ± 1.46	0.67 ± 1.23	Group	0.061
Day 14	1.50 ± 2,25	1.25 ± 1.24	0.00 ± 0.00	Time	0.653
Day 21	1.25 ± 1,92	1.13 ± 1.26	0.53 ± 1.60	Interaction	0.562
<b>Total microorganisms (Blood Agar)</b>					
Day 0	1.16 ± 1,19	0.96 ± 0.67	0.79 ± 1.05	Group	0.538
Day 21	0.44 ± 0,97	0.76 ± 0.74	0.58 ± 0.49	Time	0.081
Day 28	0.43 ± 0,47	1.05 ± 1.24	0.69 ± 0.59	Interaction	0.907

Day 35	1.16 ± 1.02	1.18 ± 0.70	0.91 ± 0.70		
Day 49	0.61 ± 0.67	1.20 ± 1.15	0.81 ± 1.09		
<b><i>Streptococcus and Enterococcus (MS)</i></b>					
Day 0	3.62 ± 5.97	4.17 ± 7.18	2.67 ± 3.58	Group	0.424
Day 21	1.55 ± 2.11	1.58 ± 2.41	4.88 ± 10.17	Time	0.687
Day 28	0.53 ± 0.69	3.70 ± 7.99	1.28 ± 1.45	Interaction	0.739
Day 35	0.84 ± 0.72	3.40 ± 8.88	1.13 ± 1.01		
Day 49	2.07 ± 4.24	3.07 ± 6.26	4.81 ± 9.91		
<b><i>Streptococcus mutans* (MSB)</i></b>					
Day 0	14.02 ± 23.85	1.36 ± 1.40	7.07 ± 19.9	Group	0.883
Day 21	0.18 ± 0.16	5.84 ± 18.52	2.75 ± 2.87	Time	0.424
Day 28	4.64 ± 10.04	2.17 ± 5.21	3.73 ± 6.37	Interaction	0.326
Day 35	4.47 ± 9.97	2.94 ± 7.99	2.65 ± 3.75		
Day49	3.89 ± 8.55	10.54 ± 22.41	4.45 ± 9.27		
<b><i>Lactobacillus (MRS)</i></b>					
Day 0	1.69 ± 2.32	0.52 ± 0.48	0.28 ± 0.36	Group	0.734
Day 21	0.51 ± 0.65	0.23 ± 0.27	1.10 ± 1.61	Time	0.056
Day 28	0.16 ± 0.22	0.20 ± 0.37	0.30 ± 0.20	Interaction	0.009
Day 35	0.58 ± 1.02	0.73 ± 0.72	0.98 ± 1.29		
Day 49	0.47 ± 0.57	0.84 ± 1.59	0.50 ± 0.42		
<b><i>Candida spp. (CHROMagar)</i></b>					
Day 0	0.25 ± 0.71	1.43 ± 4.32	0.33 ± 0.78	Group	0.741
Day 21	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	Time	0.234
Day 28	0.50 ± 0.93	0.86 ± 1.29	0.00 ± 0.00	Interaction	0.399
Day 35	0.50 ± 0.93	0.00 ± 0.00	1.17 ± 2.33		
Day 49	0.75 ± 1.49	0.86 ± 1.88	1.67 ± 2.93		

**Note.** Data are presented in average and standard deviation. \* Analysis adjusted by baseline values.

Goldberg et al. (2010) warn that, as any therapy, bleaching has risks and its abuse potentiates adverse effects. To control this consumption in Brazil, ANVISA (Brazilian Health Regulatory Agency) through RDC number 6 from February 06<sup>th</sup>, 2015, regulated the prescription of dental bleaching agents containing more than 3% of hydrogen peroxide, which should be prescribed by a dentist. However, Lee et al. (2018) showed that legislation varies widely in different countries about the over-the-counter (OTC) products, and their easy availability can cause health damage.

In this study we choose at-home technique in order to be safe, effectiveness, uses low dosages and is considered the gold standard in studies on the efficacy of whitening therapies, according to Briso et al. (2017). Nie et al. (2017) comparing the efficacy between at-home bleaching with 10% PC and in office with 38% PH verified less sensitivity, greater efficacy and outcome satisfaction by the patients with at-home

bleaching. Demarco et al. (2013) described 10% PC as the preferred product by dentists for treatment on vital teeth.

Luque-Martinez et al. (2016) through a systematic review and meta-analysis, contrasting PC and PH in at-home technique observed a slightly better PC efficacy in the final result and Aka and Celik (2017) comparing 10% PC and 6% PH likewise considered PC more effective. However, Fernandes (2013) with 10% PC and 7,5% PH noticed that they were similar in shade change. Silva et al. (2012) with 16% PC and 7,5% PH also did not observe a significant difference between them, which corroborates our findings, where 10% PC and 4% PH did not present a statistically significant difference in shade.

Lee et al. (2108) showed that, when intervention stops, the shade darkens slightly. In our analyzes, the shade also did not stabilize after T<sub>21</sub>, however, we noticed a residual effect of the bleaching agents, and the shade appearing discretely clearer with time.

Regarding to sensitivity, Hasson et al (2006) describe that the PH causes greater sensitivity than PC; Fernandes (2013) evaluating 10% PC and 7,5% PH similarly concluded that the PH induced more sensitivity. However, Silva et al. (2012) using 16% PC and 7,5% PH, and Aka and Celik (2017) with 10% PC and 6% PH, did not note statistical difference between them. Luque-Martinez et al. (2016) in a systematic review and meta-analysis, also found no significant difference between PC and PH. Likewise, the two bleaching products of this research generated tooth sensitivity during the intervention, but with no statistical difference between them. This sensitivity was not verified 7 days after suspension of the gels, as reported by Medeiros and Lima (2008), Kielbassa et al (2015) and Briso et al. (2017).

Goldberg et al. (2010) reported tooth sensitivity in 15% to 65% of patients who used 10% PC, and Coelho-de-Souza et al. (2010) in all cases of tooth bleaching in their analyzes with 16% PC. Briso et al. (2017) reported spontaneous (unprovoked) sensitivity in more than 20% of patients. In the G<sub>C</sub> and G<sub>H</sub> groups, 75% reported sensitivity, even G<sub>P</sub> reported sensitivity. Part of this pain can be attributed to the harsh winter, with low temperatures that happened on a few days of research.

Dental biofilm is a complex microenvironment with own physical and biological properties, which can be modified by factors such as: age, diet, oral hygiene, systemic and immune conditions, and some medicines (Bowen et al. 2017). PC has been used

since the 1970s as an oral antiseptic (Gurgan et al. 1996), improving gingival health and preventing caries (Briso et al. 2017).

*In vitro* studies have shown an antibacterial effect of 10% PC on *S. mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis*, *L. casei* and *L. acidophilus* (Gurgan et al. 1996), from PH present in mouthwashes on *S. mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* and other microorganisms found in saliva (Moreira et al. 2009), 16% PC and 35% PH on *S. mutans* (Resende et al. 2007) and PH fungicidal activity on *C. albicans* (Matos et al. 2009).

However, *in vivo* studies have shown that the salivary microbiota did not change with tooth bleaching, only areas with direct contact with the bleaching agent (Franz-Montan et al. 2009; Zheng et al. 2011; Briso et al. 2017), where the 36% PH decreased the number of *S. mutans* during the period of application, but their levels normalized about 30 days after the end of the intervention (Zheng et al. 2011; Briso et al. 2017), and *Lactobacillus* did not change (Zheng et al. 2011).

Briso et al. (2017) showed that 10% PC did not cause significant difference in *S. mutans*, what was confirmed in our study.

Statistical analysis indicated that 10% PC and 4% PH did not cause significant changes in *S. mutans*, *Streptococcus*, *Enterococcus* and *Candida* species of the dental biofilm, except in *Lactobacillus*, that significantly reduced during bleaching application, but returned to the normal after a week.

However, a quantitative reduction of these microorganisms was clinically observed during the period of application of the bleaching agents, suggesting that their use should be properly controlled to avoid an oral microbiota imbalance. And, knowing that, regardless to the concentration and technique used, the final aesthetic result will be similar, and that there is a bleaching limit, where any additional treatment will not leave the tooth clearer, it is questioned the necessity of using products with high concentrations of peroxide for tooth bleaching, as the results showed effectiveness and safety in low concentrations.

## 5 CONCLUSION

In this study, 10% carbamide peroxide or 4% hydrogen peroxide used in at-home bleaching systems allowed to conclude that:

- they were effective;
- produced mild and transient tooth sensitivity;
- did not cause significant changes in *Streptococcus mutans*, *Streptococcus*, *Enterococcus* and *Candida* species;
- reduced the amount of *Lactobacillus* during its the application, which returned to normal within 7 days;
- there was no statistically significant difference between the two products.

## Acknowledgment

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001. We appreciate the support of FGM Produtos Odontológicos that kindly provided the bleaching gels used in this research; Unioeste and Unisep, which allowed physical structure and consumables; to the collaborators: Katiana Henning, Caroline Giane de Carli and Elaine Kerscher for the assistance in the microbiology laboratory; to Danilo Rodrigues Pereira da Silva for the statistical analysis; to the researcher participant João Vitor Schenatto Padoan Alves who contributed in the allocation, data collection and culture means. The authors state that there are no conflicts of interest regarding to the authorship or publication of this article.

## REFERENCES

- Aka B, Celik EU. 2017. Evaluation of the efficacy and color stability of two different at home bleaching systems on teeth of different shades: a randomized controlled clinical trial. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*. 29(5):325-338.
- [ANVISA] Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2015. Resolução da diretoria colegiada – RDC nº 06, de 06 de fevereiro de 2015. Brasília (Brasil).
- Baratieri LN, Monteiro Jr S e col. 2015. *Odontologia restauradora: fundamentos e possibilidades*. 2.ed. São Paulo: Santos.
- Bowen WG, Burne RA, Wu H, Koo H. 2017. Oral biofilms: pathogens, matrix and polymicrobial interactions in microenvironments. *Trends in Microbiology*, 0:1-14.
- Briso ALF, Silva UAE, Souza MBA, Rahal V, Jardim Junior EG, Cintra LTA. 2017. A clinical, randomized study on the influence of dental whitening on *Streptococcus* population. *Australian Dental Journal*, 0:1-5.
- Castro JDS. 2015. *Estudo dos efeitos do abuso de produtos de branqueamento no esmalte dentário*. [Dissertação].[Lisboa]. Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

- Coelho-de-Souza FH, Klein-Júnior CA, Reichert LA, Zago R, Braga GF, Pontes MS. 2010. Avaliação clínica da eficácia do clareamento dental pela técnica caseira utilizando moldeiras com e sem alívio. *Stomatos*. 16(30):33-39.
- Consolaro A, Francischone LA, Consolaro RB. mar./abr. 2011. O clareador dentário atua como co-carcinógeno na mucosa bucal, inclusive quando em dentifrícios e antissépticos. *Dental Press Journal of Orthodontics*. 16(2):28-35.
- De Lorenzo JL. 2010. Microbiologia, Ecologia e Imunologia aplicadas à clínica odontológica. São Paulo: Atheneu.
- Demarco FF, Conde MCM, Ely C, Torre EN, Costa JRS, Fernández MR, Tarquinio SBC. 2013. Preferences on vital and nonvital tooth bleaching: a survey among dentists from a city of southern Brazil. *Brazilian Dental Journal*, 24(5):527-531.
- Falseta ML, Klein MI, Colonne PM, Scott-Anne K, Gregoire S, Pai, CH, Begne MG, Watson G, Krysan DJ, Bowen WH, Koo H. may 2014. Symbiotic relationship between *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* synergizes virulence of plaque biofilms *in vivo*. *Infection and Immunity*, 82(5):1968-1981.
- Fernandes TV. 2013. Avaliação da efetividade de diferentes concentrações e composições de géis empregados no clareamento dentário caseiro: relato de caso. *Revista Dental Press Estética*, 10(2):48-55.
- Franz-Montan M, Ramaciato JC, Rodrigues JA, Marchi GM, Rosalen PL, Groppo FC. 2009. The effect of combined bleaching techniques on oral microbiota. *Indian Journal of Dental Research*. 20:304-307.
- Goldberg M, Grootveld M, Lynch E. 2010. Undesirable and adverse effects of tooth-whitening products: a review. *Clinical Oral Investigations*. 14:1-10.
- Gurgan S, Bolay S, Alagam R. 1996. Antibacterial activity of 10% carbamide peroxide bleaching agents. *Journal of Endodontic*. 22(7):356.
- Hasson H, Ismail A, Neiva G. 2006. Home-based chemically-induced whitening of teeth in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*.4.
- Kielbassa AM, Maier M, Gieren AK, Eliav E. 2015. Tooth sensitivity during and after vital tooth bleaching: a systematic review on an unsolved problem. *Quintessence International*. 46:881–897.
- Lee DK, Kastl C, Chan DCN. 2018. Bleachorexia - an addictive behavior to tooth bleaching: a case report. *Clinical Case Reports*, v. 6, n. 5, p. 910-914.
- Leites ACBR, Pinto MB, Sousa ERS. 2006. Aspectos microbiológicos da cárie dental. *Salusvita, Bauru*. 25(2):239-252.
- Luque-Martinez I, Reis A, Schroeder M, Muñoz MA, Loguercio AD, Masterson K, Maia LC. 2016. Comparison of efficacy of tray-delivered carbamide and hydrogen peroxide for at-home bleaching: a systematic review and meta-analysis. 20:1419–1433.
- Matos BM, Deco CP, Oliveira LD, Jorge AOC, Balducci I, Koga-Ito CY. abr./jun. 2009. Comparação da atividade antimicrobiana de soluções de peróxido de hidrogênio e malva sobre *Candida albicans*. *Ciência Odontológica Brasileira*. 12(2):24-28.
- Medeiros MCS, Lima KC. 2008. Effectiveness of nightguard vital bleaching with 10% carbamide peroxide: a clinical study. *Journal of the Canadian Dental Association*. 74(2):163a-163e.
- Metwalli KH, Khan AS, Krom BP, Jabra-Rizk MA. oct. 2013. *Streptococcus mutans*, *Candida albicans* and the human mouth: a sticky situation. *PLOS Pathogens*. 9(10):1-5(e1003616).

- Moreira ACA, Pereira MHQ, Porto MR, Rocha LAP, Nascimento BC, Andrade PM. maio/ago. 2009. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de antissépticos bucais. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*. Salvador. 8(2):153-161,
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. 2006. *Microbiologia médica*. Rio de Janeiro: Elsevier.
- Nie J, Tian FC, Wang ZH, Yap AU, Wang XY. 2017. Comparison of efficacy and outcome satisfaction between in-office and home teeth bleaching in Chinese patients. *Journal of Oral Science*. 59(4):527-432.
- Preidis GA, Versalovic J. 2009. Targeting the human microbiome with antibiotics, probiotics, and prebiotics: gastroenterology enters the metagenomics era. *Gastroenterology*. 136:2015–2031.
- Resende LG, Rosa EAR, Rosa RT, Lima AAS, Rached RN. nov./abr. 2007. Toxicidade de agentes clareadores sobre *Streptococcus mutans*. *Revista Dens*. 15(2).
- Ribeiro DA, Yujra V, Moura CFG, Handan BA, Viana MB, Yamauchi LY, Castelo PM, Aguiar Jr O. 2017. Genotoxicity induced by dental materials: a comprehensive review. *Anticancer Research*. 37:4017-4024.
- Riehl H, Nunes MF. 2007. As fontes de energia luminosa são necessárias na terapia de clareamento dental? In: 25º Congresso Internacional de Odontologia de São Paulo, 2007, e-book Jubileu de Ouro CIOSP, São Paulo, Associação Paulista de Cirurgiões Dentista, p.200-232.
- Rosier BT, Marsh PD, Mira A. 2017. Resilience of the oral microbiota in health: mechanisms that prevent dysbiosis. *Journal of Dental Research*, 00(0):1-10.
- Sever EK, Budimir Z, Cerovac M, Stambu M, Par M, Vranic DN, Tarle Z. 2018. Clinical and patient reported outcomes of bleaching effectiveness. *Acta Odontologica Scandinavica*. 76:30-38.
- Silva FMM, Nacano LG, Gava Pizi EC. 2012. Avaliação clínica de dois sistemas de clareamento dental. *Revista Odontológica do Brasil Central*. 21(56):473-479.
- Stamatova I, Meurman JH. 2009. Probiotics: health benefits in the mouth. *American Journal of Dentistry*. 22:329–338.
- Sztajer H, Szafranski SP, Tomasch J, Reck M, Nimtz M, Rohde M, Wagner-Döbler I. 2014. Cross-feeding and interkingdom communication in dual-species biofilms of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *The ISME Journal*. 8:2256–2271.
- Takeshita T, Kageyama S, Furuta M, Tsuboi H, Takeuchi K, Shibata Y, Shimazaki Y, Akifusa S, Ninomiya T, Kiyohara Y, Yamashita Y. 2016. Bacterial diversity in saliva and oral health-related conditions: the Hisayama Study. *Scientific Reports*. 6:1-11.
- Tanner ACR, Kressirer CA, Rothmiller S, Johansson I, Chalmers NI. 2018. The caries microbiome: implications for reversing dysbiosis. *Advances in Dental Research*. 29(1):78-85.
- [Wong-Baker FACES Foundation]. 2018. Wong-Baker FACES® dor Rating Scale. Consultado em 2018 com a permissão de <http://www.WongBakerFACES.org>.
- Zheng CY, Pan J, Wang L, Zhang CF. 2011. Effects of hydrogen peroxide-containing bleaching on cariogenic bacteria and plaque accumulation. *The Chinese Journal of Dental Research*. 14(1):47-52.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo *in vivo* de um produto/procedimento é importante por apresentar as variáveis particulares que podem interferir em cada caso. Neste estudo, apesar da análise estatística não mostrar significância nos resultados, verificamos que houve alteração clínica nos meios dos indivíduos que utilizaram os clareadores, com redução do número de microrganismos, demonstrando a importância do acompanhamento e orientação do odontólogo. Além disso, a sensibilidade apresentada por alguns voluntários pode ter sido influenciada pelo clima (inverno) em alguns momentos.

Estudos em relação aos efeitos dos clareadores sobre a estrutura dental são bem documentados na literatura, entretanto, os efeitos sobre os microrganismos bucais ainda são escassos e mais estudos são necessários para reforçar os cuidados com o uso destes medicamentos.

## 7. ANEXOS

Anexo 1 – Parecer Consubstanciado do CEP

Anexo 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Anexo 3 – Orientações para o voluntário sobre o clareamento dental caseiro

Anexo 4 – Instrumento de coleta de dados

Anexo 5 – Permissão para utilização da Escala de Faces Wong-Baker

Anexo 6 – Normas da Revista *Journal of Dental Research (JDR)*

Anexo 7 – e-mail de recebimento de submissão

## Anexo 1

UNIOESTE - CENTRO DE  
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA  
SAÚDE DA UNIVERSIDADE



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Clareamento dental caseiro: microbiota, sensibilidade e alteração de cor

**Pesquisador:** ERICA LURIKO HAMADA

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 87136518.4.0000.0107

**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANA

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.625.292

#### Apresentação do Projeto:

O projeto intitulado: Clareamento dental caseiro: microbiota, sensibilidade e alteração de cor refere-se a uma dissertação de mestrado

#### Objetivo da Pesquisa:

**Objetivo Primário:**

Avaliar os efeitos do peróxido de hidrogênio 6% e do peróxido de carbamida 10% no clareamento dental caseiro sobre a microbiota bucal e biofilme dental, e se houver desequilíbrio, se é revertido após finalização do tratamento, quais os microrganismos mais afetados e se há diferença na ação entre os produtos.

**Objetivo Secundário:**

Avaliar se peróxido de hidrogênio 6% e do peróxido de carbamida 10% no clareamento dental caseiro provocam sensibilidade e se alteram a cor dos dentes. Avaliar a satisfação do voluntário com o resultado final do tratamento.

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

**Riscos:**

Durante a execução do projeto podem ocorrer efeitos colaterais inerentes ao produto clareador, entre eles: sensibilidade dental, ardência gengival,

**Endereço:** UNIVERSITARIA

**Bairro:** UNIVERSITARIO

**UF:** PR

**Município:** CASCAVEL

**CEP:** 85.819-110

**Telefone:** (45)3220-3272

**E-mail:** cep.prppg@unioeste.br

Continuação do Parecer: 2.825.292

reação alérgica e não alteração de cor dos dentes (pode ocorrer do gel clareador não conseguir clarear os dentes). Se ocorrer sensibilidade dental ou ardência gengival, o voluntário será avaliado e poderá receber analgésicos, em caso de dor muito intensa será suspenso o uso do produto. Se houver reação alérgica, o tratamento será suspenso imediatamente. Há o risco de constrangimento caso não haja alteração de cor, nesta situação, o voluntário será orientado quanto às outras opções existentes, que não estão incluídas nesta pesquisa. Se necessário, o SAMU será acionado a qualquer momento para atendimento emergencial. Os pacientes receberão instruções verbais e por escrito dos cuidados necessários e riscos e efeitos colaterais mais comuns durante o tratamento. Além disso, há o risco de perda da confidencialidade e exposição de dados pessoais - para evitar este risco, os instrumentos de pesquisa e dados estarão sob a guarda da pesquisadora principal, sendo inutilizados após finalização da pesquisa.

**Benefícios:**

Clareamento dos dentes sem custo ao voluntário; Os resultados desta pesquisa contribuirão no aprimoramento do conhecimento da comunidade científica quanto à segurança, riscos e resultados estéticos do clareamento dental caseiro com peróxido de hidrogênio e peróxido de carbamida.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Todos os termos estão adequados

**Recomendações:**

.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

<b>Endereço:</b> UNIVERSITARIA	
<b>Bairro:</b> UNIVERSITARIO	<b>CEP:</b> 85.819-110
<b>UF:</b> PR	<b>Município:</b> CASCAVEL
<b>Telefone:</b> (45)3220-3272	<b>E-mail:</b> cep.prppg@unioeste.br

UNIOESTE - CENTRO DE  
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA  
SAÚDE DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.625.292

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1096301.pdf	08/04/2018 00:25:41		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_CLAREADORES.pdf	08/04/2018 00:18:15	ERICA LURIKO HAMADA	Aceito
Outros	QUESTIONARIO_CLAREADOR.pdf	07/04/2018 01:07:17	ERICA LURIKO HAMADA	Aceito
Outros	ORIENTACOES_CLAREADOR.pdf	07/04/2018 01:04:19	ERICA LURIKO HAMADA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TERMO_USO_DADOS_CLAREADOR.pdf	07/04/2018 01:02:06	ERICA LURIKO HAMADA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	TERMO_CIENCIA_CLAREADOR.pdf	07/04/2018 01:01:06	ERICA LURIKO HAMADA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DECLARACAO_NAO_INICIO_CLAREADORES.pdf	07/04/2018 01:00:19	ERICA LURIKO HAMADA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_CLAREADOR.pdf	07/04/2018 00:59:34	ERICA LURIKO HAMADA	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_ROSTO_CLAREADORES.pdf	07/04/2018 00:55:45	ERICA LURIKO HAMADA	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

CASCADEL, 27 de Abril de 2018

Assinado por:  
Dartel Ferrari de Lima  
(Coordenador)

Endereço: UNIVERSITARIA  
Bairro: UNIVERSITARIO CEP: 85.819-110  
UF: PR Município: CASCADEL  
Telefone: (45)3220-3272 E-mail: cep.prppg@unioeste.br

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

Título do Projeto: **Clareamento dental caseiro: microbiota, sensibilidade e alteração de cor**

Pesquisadores responsáveis: Érica Luriko Hamada (46 99919-8611), Cleide Viviane Buzanello Martins (31 987179581), Bruna Andreia Foltz Neves (45 998015215), Keila Bracker (46 999764621)

Convidamos você a participar de nossa pesquisa que tem o objetivo de avaliar o uso de clareadores dentais caseiros. Esperamos com este estudo analisar se o uso de clareadores caseiros tem efeito clareador, se provoca sensibilidade dental e se não interfere nos microrganismos que temos na boca e que nos protegem de muitas patologias. Para tanto, vamos realizar um clareamento dental caseiro em você e colher amostras de placa bacteriana antes do início do tratamento, no final, quinze dias e trinta dias após o término do procedimento. Serão realizados moldagem e fotografia dos seus dentes. O clareador será aplicado nos dentes com moldeiras por 21 dias, pelo tempo (horas diárias) recomendado pelo fabricante. Serão agendados retornos semanais para avaliação e coleta de amostras.

Haverá um grupo controle denominado placebo, que receberá um gel sem clareador, mas que é muito importante para avaliar o resultado final. Os voluntários não sabem a qual grupo pertencem. Mas ao final da pesquisa, o grupo placebo também receberá gel clareador por 21 dias, sendo beneficiado da mesma forma com o clareamento dental.

Durante a execução da pesquisa podem ocorrer efeitos colaterais inerentes ao produto clareador, entre eles: sensibilidade dental, ardência gengival, reação alérgica e não alteração de cor dos dentes (os dentes podem não clarear). Se ocorrer sensibilidade dental ou ardência gengival, você será avaliado e poderá receber analgésico ou será suspenso o uso do produto em caso de dor muito intensa. Se houver reação alérgica, o tratamento será suspenso imediatamente. Há o risco de constrangimento caso não haja alteração de cor, nesta situação, você será orientado quanto às outras opções existentes, que não estão incluídas nesta pesquisa. Se necessário, o SAMU será acionado a qualquer momento para atendimento emergencial. Qualquer anormalidade deverá ser informada aos pesquisadores.

Sua identidade não será divulgada e seus dados serão tratados de maneira sigilosa, sendo utilizados apenas para fins científicos. Você também não pagará nem receberá para participar do estudo. Além disso, você poderá cancelar sua participação na pesquisa a qualquer momento. No caso de dúvidas ou da necessidade de relatar algum acontecimento, você pode contatar os pesquisadores pelos telefones mencionados acima ou o Comitê de Ética pelo número 3220-3092.

Este documento será assinado em duas vias, sendo uma delas entregue ao sujeito da pesquisa.

Declaro estar ciente do exposto e desejo participar do projeto.

\_\_\_\_\_  
Assinatura

Eu, \_\_\_\_\_, declaro que forneci todas as informações do projeto ao participante e/ou responsável.

Francisco Beltrão, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.



### **ORIENTAÇÕES PARA O CLAREAMENTO DENTAL CASEIRO**

Leia as instruções com atenção:

1. Após escovar os dentes e fazer uso do fio dental, aplique o gel clareador na parte interna da moldeira. Uma pequena gota é suficiente para superfície de cada dente.
2. Encaixe a moldeira nos dentes e pressione levemente para envolvê-los com gel.
3. Com o dedo ou cotonete, remova o excesso de gel e enxágue a boca. O ideal é que não haja excesso de gel na moldeira.
4. Utilize o gel por \_\_ horas/dia.
5. Após a utilização, enxágue bem a boca.
6. Lavar a moldeira com água corrente e secá-la, evitando deixar resíduos do gel.
7. Não ingerir alimentos com a moldeira na boca.
8. Guardar a moldeira e o gel clareador em lugar fresco e seco. O gel, de preferência, guarde-o em geladeira.
9. Repetir a operação todos os dias.
10. Em caso de desconforto ou sensibilidade, nos comunique.
11. Pode ocorrer leve irritação na gengiva, garganta, língua ou lábios, geralmente em decorrência do uso excessivo de gel, ocorrendo qualquer desconforto nos comunique.
12. Bebidas e alimentos fortemente corados devem ser evitados. Consideramos bebidas coradas: refrigerantes, vinhos, sucos artificiais, chás, café... Alimentos a serem evitados: vinagre, beterraba, feijão, chocolate entre outros com excesso de corante.
13. Não fazer uso de batons com cores vibrantes como o vermelho.
14. Qualquer anormalidade ou dúvida entre em contato conosco.

### **ORIENTAÇÕES PARA A COLETA DE PLACA DENTAL**

1. Não comer, mascar chicletes ou escovar os dentes por no mínimo duas horas antes da consulta agendada.
2. Não utilizar enxaguantes bucais durante a pesquisa.
3. Não ingerir bebida alcoólica nem fumar durante a pesquisa.
4. Caso tome algum medicamento durante a pesquisa, comunicar ao pesquisador.

**Obs:** Você será agendado semanalmente para avaliação da cor, sensibilidade, coleta de amostras de placa bacteriana, reposição de clareador, recomendações e informações gerais. Sua participação e colaboração é muito importante.

Muito obrigada.

Contatos: Érica (46 999198611); Cleide (31 987179581); Bruna (45 998015215); Keila (46 999764621).

## INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS - CLAREADOR

**Título do projeto:** CLAREAMENTO DENTAL CASEIRO: MICROBIOTA, SENSIBILIDADE E ALTERAÇÃO DE COR

**Pesquisadores:** Érica Luriko Hamada, Cleide Viviane Buzanello Martins, Bruna Andreia Foltz Neves, Keila Bracker.

*\*Caro voluntário, sua identidade não será divulgada e seus dados serão tratados de maneira sigilosa, sendo utilizados apenas para fins científicos.*

Nome: \_\_\_\_\_ Nº \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Telefones para contato: \_\_\_\_\_

Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_

Escolaridade: \_\_\_\_\_ Profissão: \_\_\_\_\_

Deseja fazer clareamento em seus dentes? \_\_\_\_\_

Já fez clareamento dental? ( ) não ( ) sim, quando? \_\_\_\_\_ qual clareador utilizou? \_\_\_\_\_ Qual técnica? \_\_\_\_\_ Sentiu sensibilidade nos dentes? ( ) não ( ) sim, qual a intensidade? \_\_\_\_\_ Ficou satisfeito com o resultado? \_\_\_\_\_

Quando foi seu último tratamento odontológico? \_\_\_\_\_

Tem sensibilidade nos dentes? ( ) não ( ) sim, a quê? \_\_\_\_\_

Escova quantas vezes os dentes por dia? \_\_\_\_\_

Usa qual creme dental? ( ) não ( ) sim, qual? \_\_\_\_\_

Usa enxaguante bucal? ( ) não ( ) sim, qual? \_\_\_\_\_

Está tomando algum medicamento? ( ) não ( ) sim, qual(is)? \_\_\_\_\_, há quanto tempo? \_\_\_\_\_

Tem algum problema de saúde? \_\_\_\_\_

Está em tratamento médico? \_\_\_\_\_

É alérgico a algum produto? ( ) não ( ) sim, \_\_\_\_\_

Fuma? ( ) não ( ) sim, quantidade diária: \_\_\_\_\_

Consome com que frequência:

- café \_\_\_\_\_
- chimarrão \_\_\_\_\_
- chá preto \_\_\_\_\_
- refrigerante \_\_\_\_\_
- vinho tinto \_\_\_\_\_
- outra bebida alcoólica \_\_\_\_\_

Usa alguma prótese dentária? \_\_\_\_\_

Está com aparelho ortodôntico fixo (bráquetes)? \_\_\_\_\_

Declaro que as informações acima são verdadeiras e aceito participar da pesquisa,

Francisco Beltrão, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura



## ANEXO 5

----- Forwarded message -----

From: **Connie M Baker MS CHTP** <[ConnieBaker@wongbakerfaces.org](mailto:ConnieBaker@wongbakerfaces.org)>  
Date: qua, 31 de out de 2018 às 18:42  
Subject: Thank you for completing our Research Web Form  
To: <[brunafoltzneves@gmail.com](mailto:brunafoltzneves@gmail.com)>

Having trouble viewing this email? [Click here](#)



Dear Bruna andreia,

Thank you for contacting our foundation and completing the web form.

You have permission to use our scale in your research, without a licensing requirement or fee.

Please follow these four conditions:

- The information below is for your use only. We ask that you not share it with other unlicensed organizations.
- Use the authorized image of the scale provided below.
- Use the scale as the instructions indicate, without modifications.
- Do not use the scale for profit.

Here are the JPEGs of the Wong-Baker FACES<sup>®</sup> Pain Rating Scale in English for your use: [English\\_Blue](#), [English\\_Black](#)  
[Portuguese version](#)  
[Instructions for the use of the scale](#)

[Frequently Asked Questions](#)

When you have completed your study and are submitting your manuscript for publication, please use these images which include the necessary copyright and trademark information for publishing the research:

<https://mail.google.com/mail/u/0?ik=7969e4ae8a&view=pt&search=all&permthid=thread-f%3A1617233480329890200&simpl=msg-f%3A1619740...> 1/2

27/02/2019

Gmail - Fwd: Thank you for completing our Research Web Form

[Publication\\_English\\_Blue](#), [Publication\\_English\\_Black](#)

The following example bibliography citation may be helpful to you:

Wong-Baker FACES Foundation (2018). Wong-Baker FACES<sup>®</sup> Pain Rating Scale. Retrieved [Date] with permission from <http://www.WongBakerFACES.org>.

Please let me know if you need anything else, including language translations of the scale. We would love to hear about the results of your research.

Kind regards,  
Connie



**Connie M Baker MS CHTP**  
Executive Director  
Wong-Baker FACES Foundation  
[ConnieBaker@WongBakerFACES.org](mailto:ConnieBaker@WongBakerFACES.org)  
(405) 608-8083 - Work | (405) 249-2006 - Mobile  
[www.wongbakerfaces.org](http://www.wongbakerfaces.org)

## ANEXO 6

**The *Journal of Dental Research (JDR)* adheres to the CSE (8th Edition) editorial style. All submitted manuscripts should be formatted in this style**

The *Journal of Dental Research (JDR)* is a peer-reviewed scientific journal dedicated to the dissemination of new knowledge and information on all science relevant to dentistry and to the oral cavity and associated structures in health and disease. The *Journal of Dental Research's* primary readership consists of oral, dental and craniofacial researchers, clinical scientists, hard-tissue scientists, dentists, dental educators, and oral and dental policy-makers. The *Journal* is published monthly, allowing for frequent dissemination of its leading content. The *Journal of Dental Research* also offers OnlineFirst, by which forthcoming articles are published online before they are scheduled to appear in print.

Authors of all types of articles should be aware of the following guidelines when submitting to JDR.

### **ONLINE SUBMISSION**

Submissions to the *Journal of Dental Research* are only accepted for consideration via the SAGETrack online manuscript submission site at <http://mc.manuscriptcentral.com/jdr>. Authors who do not have an active account within the system are required to create a new account by clicking, "Create Account," on the log-in page. The system will prompt the authors through a step by step process to create their account. Once created authors can submit their manuscripts by entering their "Author Center" and clicking the button by "Click Here to Submit a New Manuscript."

If any difficulty is encountered at anytime during the account creation or submission process, authors are encouraged to contact the *Journal of Dental Research* at [jdr@iadr.org](mailto:jdr@iadr.org).

### **MANUSCRIPT REQUIREMENTS BY TYPE**

The *Journal of Dental Research* accepts the following types of manuscripts for consideration:

**Original Research Reports:** These manuscripts are based on clinical, biological, and biomaterials and bioengineering subject matter. Manuscripts submitted as research reports have a limit of 3,200 words (including introduction, materials, methods results, discussion and; excluding abstracts, acknowledgments, figure legends and references); a total of 5 figures or tables; 40 references; and must contain a 300 word abstract.

**Letters to the Editor\*:** Letters must include evidence to support a position about the scientific or editorial content of the *JDR*. Manuscripts submitted as a letter to editor have a limit of 250 words. No figures or tables are permitted. Letters on published articles must be submitted within 3 months of the article's print publication date.

**Guest Editorials\*:** A clear and substantiated position on issues of interest to the readership community can be considered for this manuscript type. Guest Editorials are limited to 1,000 words. No figures or tables are permitted.

**Discovery!:** Essays that explore seminal events and creative advances in the development of dental research are considered for the "Discovery!" section of the journal. Manuscripts submitted for "Discovery!" have a limit of 2,500 words and a total of 2 figures or tables. Manuscripts are to be submitted by invitation only.

**Critical Reviews in Oral Biology & Medicine:** These manuscripts should summarize information that is well known and emphasize recent developments over the last three years with a prominent focus on critical issues and concepts that add a sense of excitement to the topic being discussed. Manuscripts are to be submitted by invitation only. Authors interested in submitting to this section must contact the Editor of *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, Dr. Dana Graves, at [dgraves@iadr.org](mailto:dgraves@iadr.org) for submission approval and instructions. Manuscripts submitted as Critical Reviews have a limit of 4,000

words; a total of 6 figures or tables; 60 references; and must contain a 300 word abstract.

**Additional Instructions for Critical Reviews:**

-It is important to include several illustrations or diagrams to enhance clarity. Manuscripts that lack figures or diagrams typically receive a low priority score.

-Summarize important concepts in tables or flow charts or show critical data in the form of figures. NOTE: authors will need to obtain permission to reproduce a previously published figure or table.

-Due to the broad readership, abbreviations commonly recognized in one field may not be readily apparent to those in a different field. Keep abbreviation use to a minimum.

-The cover page, abstract, text, summary, figure legends, and tables should be combined into a single Word document. Figures should be submitted as a separate document.

**-To view examples of recent Critical Reviews in the Journal, please click the following links:**

<http://jdr.iadrjournals.org/cgi/content/full/86/9/800> or  
<http://jdr.iadrjournals.org/cgi/content/full/85/7/584>

**\*Brief responses to Letters to the Editor or Guest Editorials will be solicited for concurrent publication.**

**Clinical Reviews (formerly Concise Reviews):** These manuscripts are generally systematic reviews of topics of high clinical relevance to oral, dental and craniofacial research. Meta-analyses should be considered only when sufficient numbers of studies are available. Manuscripts that include investigations of limited study quality of understudied areas are typically not acceptable as topics for a clinical review. Although some systematic reviews may be well done, those that receive highest scientific priority will only be considered given the very limited space allowed for these reviews in the journal.

Manuscripts submitted as Clinical Reviews have a strict limit of 4,000 words (including introduction, materials, methods results, discussion and; excluding abstracts , acknowledgments, figure legends and references); a total of 6 figures or tables; up to a maximum of 60 references; and must contain a 300 word abstract. Manuscripts above the 4,000 word/6 figure or table limit may use supplemental appendices for other supporting information that would be available online only.

**Additional Instructions for Clinical Reviews:**

-It is important to include illustrations or diagrams to enhance clarity. Manuscripts that lack figures or diagrams typically receive a low priority score.

-Summarize important concepts in tables or flow charts or show critical data in the form of figures. NOTE: authors will need to obtain permission to reproduce a previously published figure or table.

-Due to the broad readership, abbreviations commonly recognized in one field may not be readily apparent to those in a different field. Keep abbreviation use to a minimum.

-The cover page, abstract, text, summary, figure legends, and table(s) should be combined into a single Word document. Figures should be submitted as a separate document.

-To view examples of recent Clinical Reviews in the Journal, please click the following links: <http://jdr.sagepub.com/content/90/3/304.full.pdf+html> or <http://jdr.sagepub.com/content/90/5/573.full.pdf+html>

All submissions must include a title page and be accompanied by a cover letter and list of suggested reviewers. Cover letters should certify the research is original, not under publication consideration elsewhere, and free of conflict of interest. Title pages should include: abstract word count, total word count (Abstract to Acknowledgments), total number of tables/figures, number of references, and a minimum of 6 keywords. Keywords cannot be words that have been included in the manuscript title. Key words should be selected from Medical Subject Headings (MeSH) to be used for indexing of articles. See: <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html> for information on the selection of key words.

Please submit the names and email addresses of four preferred reviewers when prompted by the SAGETrack system. Preferred reviewers cannot be colleagues at the contributors' institution or present or former collaborators.

### **TITLES**

Titles can consist of a maximum of 75 characters (including spaces). Titles do not normally include numbers, acronyms, abbreviations or punctuation. The title should include sufficient detail for indexing purposes but be general enough for readers outside the field to appreciate what the paper is about.

### **ACKNOWLEDGMENTS**

Authors are required to report all sources of support for their project or study, including but not limited to: grant funds, commercial sources, funds from a contributors' institution. Do not refer to a study being "partially funded by the cited sources." Consultancies and funds paid directly to investigators must also be listed. Authors are required to specify during the submission process if their paper received funding from NIH, NIDCR, or any other NIH Institute or Center and provide the grant number. To comply with the NIH Public Access Mandate, for qualifying NIH- funded papers, the *Journal of Dental Research* will deposit the final, copyedited paper to PubMed Central on behalf of the authors.

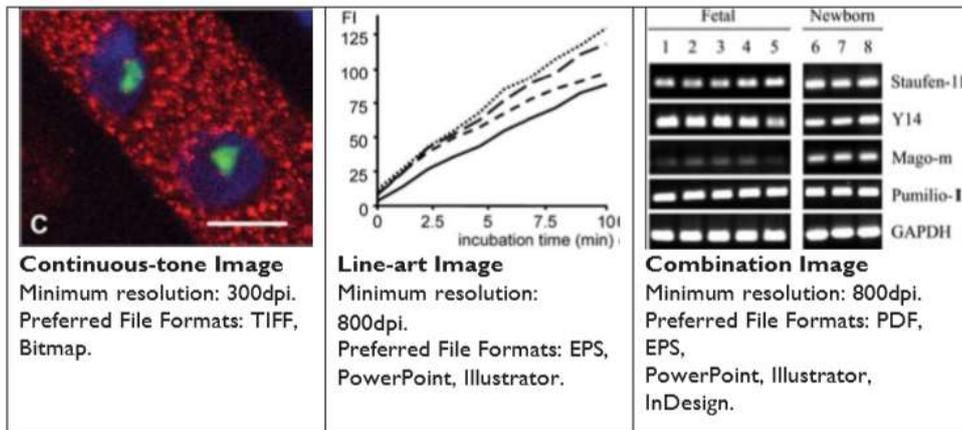
Any perceived or actual conflicts of interest need to be identified in the acknowledgments section. The *JDR* abides by the International Committee of Medical Journal Editors guidelines for the Ethical Considerations in the Conduct and Report of Research (<http://www.icmje.org>). Authors are requested to include this information in the acknowledgments section and the corresponding author must confirm that all co-authors have reported any potential conflicts.

### **FIGURE AND TABLE REQUIREMENTS**

These guidelines are intended to aid authors in providing figures that will reproduce well in both print and online media. Submitting digital image files that conform to these guidelines will prevent delays in the review and publication processes, and maximize the published quality of your figures.

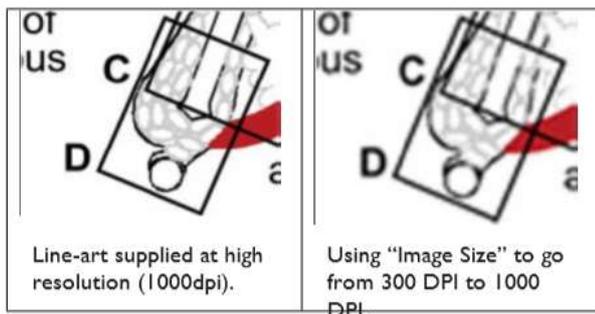
#### **Figure Types**

*JDR* figures can fall into one of three categories: **Continuous-tone images**, **Line-art images**, and **Combination images**. Each image type has specific requirements in terms of the resolution needed for publication and the file types best suited for the figure. See the following panels for examples and requirements.



### Resolution

In order for a figure to be used in publication, its Digital Image File must have the required resolution when it is created. The resolution cannot be raised *after* the original image is made. Attempting to do so (for example, with Adobe Photoshop's® "Image Size" command) results in the addition of artificial pixels that distort the image and lower its sharpness. The figures on the right show an example of this reduced sharpness.



### Image Integrity Guidelines

The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) recommendations note that scientific misconduct includes deceptive manipulation of images. Figures submitted to the *Journal of Dental Research* should be minimally processed and should reflect the integrity of the original data in the image(s). Adjustments to images in brightness, contrast, or color balance should be applied equally to the entire image, provided they do not distort any data in the figure, including the background. Selective adjustments and touch-up tools used on portions of a figure are not appropriate. Images should not be layered or combined into a single image unless it is stated that the figure is a product of time-averaged data. All adjustments to image data should be clearly disclosed in the figure legend. Images may be additionally screened to confirm faithfulness to the original data. Authors are expected to supply raw image data upon request. Authors should also list tools and software used to collect image data and should document settings and manipulations in the Methods section.

These guidelines were derived from those provided by the *Journal of Cell Biology* and *Nature*:

<http://jcb.rupress.org/editorial-policies#data-integrity>

<https://www.nature.com/authors/policies/image.html>

### Fonts

Limit fonts used in any figure to Times, Times New Roman, Arial, Frutiger, and Sabon. Other fonts cannot be guaranteed to reproduce properly.

Files containing figures and tables should be clearly labeled to indicate their placement in the text or appendix. Tables should be viewable in a portrait view. Tables that are created in a landscape view are more suitable for an appendix.

If the online version is in color and the printed version in black and white, please submit separate files for each version. Figures should be identical except in color or grayscale. The cost of color figures in the print version will be borne by the authors. Rates for color reproduction are \$300 per initial page of color and \$150 for each additional page of color. However, there are no charges for figures and diagrams printed in black and white. Color figures may be included in the online version of *JDR* with no extra charges.

## **REFERENCES**

The *Journal of Dental Research (JDR)* adheres to the CSE (8th Edition) editorial style. All submitted manuscripts should be formatted in this style: <http://www.scientificstyleandformat.org/Tools/SSF-Citation-Quick-Guide.html>.

## **SUPPLEMENTAL FILES**

Additional supporting data may be referenced as a supplemental appendix for publication online only. All supplemental appendix files must be submitted with the manuscript for review. Supplementary files will be subjected to peer-review alongside the article.

**Supplementary files will be uploaded as supplied. They will not be checked for accuracy, copyedited, typeset or proofread.** The responsibility for scientific accuracy and file functionality remains with the authors. A disclaimer will be displayed to this effect with any supplementary material published. Supplemental files may include additional figures or tables that exceed the Journal's limit. Material intended for the supplemental appendix must have "supplemental" or "appendix" in the file name upon upload. When formatting your supplemental files, please follow these instructions:

- Authors should provide a single Word file with all Appendix content. Figures and tables should be included in the main Appendix file so they can appear immediately alongside their captions. High resolution figures may also be supplied separately if authors wish, but they also must be copied into the Word file so everything can be kept together.
- Be sure to run spell check and proofread the text.
- Remove all highlighting/other colors. Use one font throughout.
- The Appendix should include the title of the article and all authors. Page numbers are recommended.
- Figures and Tables should be labeled Appendix Figure/Table 1, Appendix Figure/Table 2, etc. Avoid labeling as S1, S2, and so forth.
- All table footnotes and figure legends should be included.
- Preferably, authors shouldn't label separate parts as "Appendix 1", "Appendix 2", etc.; just use section heads as in a regular article.

**Language Editing:** Manuscripts submitted for publication consideration should be written in English. Prior to submission, if a manuscript would benefit from professional editing, authors may consider using a language-editing service. Suggestions for this type of service can be found at [www.iadr.org/EditingServices](http://www.iadr.org/EditingServices). The *Journal of Dental Research* does not take responsibility for, or endorse these services, and their use has no bearing on acceptance of a manuscript for publication.

## **GENERAL INFORMATION FOR AUTHORS SUBMITTING A MANUSCRIPT**

### **PRIOR PUBLICATION**

Manuscripts submitted to the *Journal of Dental Research* are accepted for consideration giving the understanding that it contains original material that has not been submitted for publication or has

been previously published elsewhere. Any form of publication other than an abstract only constitutes prior publication.

### **ICMJE COMPLIANCE STATEMENT**

Manuscript submission guidelines for the *Journal of Dental Research* follow the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" set forth by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). For additional information please visit the ICMJE web site at <http://www.icmje.org/>.

### **CONSORT 2010 CHECKLIST COMPLETION RANDOMIZED CLINICAL TRIALS POLICY**

Manuscripts reporting a randomized clinical trial are required to follow the CONSORT guidelines. The Journal requires authors of pre-clinical animal studies submit with their manuscript the Animal Research: Reporting In Vivo Experiments (ARRIVE) guidelines. Authors of human observations studies in epidemiology are required to review and submit a STROBE statement. When uploaded to the SAGETrack system, any checklists completed by authors should be given a supplementary file designation. Authors who have completed the ARRIVE guidelines or STROBE checklist should include as the last sentence in the Methods section a sentence stating compliance with the appropriate guidelines/checklist.

Additional guidance on compliance with various research guidelines can be found on the Guideline Information - Enhancing the Quality and Transparency of Health Research: [www.equator-network.org](http://www.equator-network.org).

The CONSORT checklist can be downloaded from: [mc.manuscriptcentral.com/societyimages/jdr/CONSORT+2010+checklist%5b1%5d.doc](http://mc.manuscriptcentral.com/societyimages/jdr/CONSORT+2010+checklist%5b1%5d.doc)

The ARRIVE guidelines can be found here: [www.nc3rs.org.uk/downloaddoc.asp?id=1206&page=1357&skin=0](http://www.nc3rs.org.uk/downloaddoc.asp?id=1206&page=1357&skin=0)

The STROBE checklists can be found here: [www.strobe-statement.org/index.php?id=strobe-home](http://www.strobe-statement.org/index.php?id=strobe-home)

The *Journal of Dental Research* requires authors to register their clinical trials in a public trials registry. Authors of manuscripts describing such studies are asked to submit the name of the registry and the study registration number prior to publication. Authors are asked to include their clinical trial registration number at the end of their abstracts. In accordance with the aforementioned "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals," clinical trials will only be considered for publication if they are registered.

### **INSTITUTIONAL REVIEW BOARD AND WRITTEN INFORMED CONSENT**

For protocols involving the use of human subjects, authors should indicate in their Methods section that subjects' rights have been protected by an appropriate Institutional Review Board and written informed consent was granted from all subjects. When laboratory animals are used, indicate the level of institutional review and assurance that the protocol ensured humane practices.

### **PUBLIC GENE DATA**

Prior to submission, the *Journal of Dental Research* asks that novel gene sequences be deposited in a public database and the accession number provided to the Journal. Authors may want to use the following Journal approved databases:

GenBank: [www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/submit.html](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/submit.html)

EMBL: [www.ebi.ac.uk/embl/Submission/index.html](http://www.ebi.ac.uk/embl/Submission/index.html)

DDBJ: [www.ddbj.nig.ac.jp/index-e.html](http://www.ddbj.nig.ac.jp/index-e.html)

Manuscript submissions including microarray data should include the information recommended by the MIAME guidelines in their submission, and/or identify the submission details for the experiments details to one of the publicly available databases such as Array Express or GEO. Information on MIAME, Array Express and GEO can be found by clicking on the corresponding links below:

MIAME: [www.mged.org/Workgroups/MIAME/miame.html](http://www.mged.org/Workgroups/MIAME/miame.html)

ArrayExpress: [www.ebi.ac.uk/arrayexpress](http://www.ebi.ac.uk/arrayexpress)

GEO: [www.ncbi.nlm.nih.gov/geo](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo)

## **FUNDING COMPLIANCE STATEMENT**

Effective April 7, 2008 the National Institutes of Health (NIH) Revised Policy on Enhancing Public Access to Archived Publications Resulting from NIH-Funded Research (Public Access Policy) requires all studies funded by NIH to submit or have submitted for them their final peer-reviewed manuscript upon acceptance for publication to the National Library of Medicine's PubMed Central (PMC) to be made publicly available no later than 12 months after the official date of publication. Only final, copyedited manuscripts are uploaded.

Manuscripts by authors whose work is funded by the Wellcome Trust may submit their final peer-reviewed manuscript upon acceptance for publication to Europe PMC to be made publicly available no later than 6 months after the official date of publication. Only final, copyedited manuscripts are uploaded.

Authors are required to specify during the submission process if their paper received funding from NIH, NIDCR, or the Wellcome Trust and provide the grant number.

The *Journal of Dental Research* will deposit final, copyedited papers to PubMed Central on behalf of the authors.

## **DEFINITION OF CONTRIBUTORSHIP IN JDR**

As stated in the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals, put forth by the ICMJE, the *Journal* considers the following as an accurate definition of contributorship:

### **Contributors Listed in Acknowledgments**

All contributors who do not meet the criteria for authorship should be listed in an acknowledgments section. Examples of those who might be acknowledged include a person who provided purely technical help, writing assistance, or a department chairperson who provided only general support. Editors should ask corresponding authors to declare whether they had assistance with study design, data collection, data analysis, or manuscript preparation. If such assistance was available, the authors should disclose the identity of the individuals who provided this assistance and the entity that supported it in the published article. Financial and material support should also be acknowledged.

Groups of persons who have contributed materially to the paper but whose contributions do not justify authorship may be listed under such headings as "clinical investigators" or "participating investigators," and their function or contribution should be described—for example, "served as scientific advisors," "critically reviewed the study proposal," "collected data," or "provided and cared for study patients." Because readers may infer their endorsement of the data and conclusions, these persons must give written permission to be acknowledged.

## **CONTRIBUTOR FORMS**

All rights to manuscripts will be transferred to the *Journal of Dental Research* upon submission. Submission of a manuscript will constitute each author's agreement that the *Journal* holds all proprietary rights in the manuscript submitted, including all copyrights. Upon acceptance, the corresponding author will be asked to sign a formal transfer of copyright. Only the corresponding author is required to complete a contributor form unless any co-authors are work-for-hire or government employees. If co-authors fall into either of these categories, the corresponding author should contact the editorial office at [jdr@iadr.org](mailto:jdr@iadr.org) for additional instruction.

Please note that the *Journal of Dental Research* secures completed contributor forms electronically via the SAGETrack online submission and review system.

Without the completion of the contributor form for all co-authors listed, accepted manuscripts cannot continue into production, delaying publication.

## **CHARGES ASSOCIATED WITH PUBLICATION**

### **Page Charges**

There is a charge of \$40 (U.S.) for every printed page in the *Journal of Dental Research*. You will receive an invoice with your page proofs.

### **Color Figure Charges**

The cost of color figures in the print version will be borne by the authors. Rates for color reproduction are \$300 per initial page of color and \$150 for each additional page of color. However, there are no charges for figures and diagrams printed in black and white. Color figures may be included in the online version of *JDR* with no extra charges.

### **Reprint Charges**

Reprints can be ordered for material printed in the *Journal of Dental Research* and online only appendices. Quantities of reprints can be purchased with the reprint order form sent with page proofs to the contributors. Pre-payment is required for reprints. Visa, MasterCard, American Express and check are all acceptable forms of payment. Authors must pay for color figures in reprints. Reprints will be mailed from 6 to 8 weeks after the article appears in the *Journal*. To contact SAGE for additional information or to order reprints, visit the SAGE site at [www.sagepub.com/journalsReprints.nav](http://www.sagepub.com/journalsReprints.nav).

## ANEXO 7

# Submission Confirmation

[Print](#)

---

Thank you for your submission

---

**Submitted to**  
Journal of Dental Research

**Manuscript ID**  
JDR-19-0211

**Title**  
At-home tooth bleaching: microbiota, sensitivity and effectiveness

**Authors**  
HAMADA, ERICA  
Buzanello Martins, Cloide  
Bracker, Keila  
Neves, Bruna

**Date Submitted**  
28-Feb-2019

Érica Hamada <ericalh@gmail.com>

---

**Manuscript JDR-19-0211 Submitted to the Journal of Dental Research**  
1 mensagem

---

**Journal of Dental Research** <onbehalf@manuscriptcentral.com> 28 de fevereiro de 2019 13:16  
Responder a: jdr@iadr.org  
Para: ericalh@gmail.com  
Cc: ericalh@gmail.com, cvbmartins@gmail.com, keilabracker@hotmail.com, brunafoltzneves@gmail.com

28-Feb-2019

Dear Mrs. HAMADA:

Your manuscript, "At-home tooth bleaching: microbiota, sensitivity and effectiveness," has been successfully submitted online to the Journal of Dental Research.

Your manuscript ID is JDR-19-0211.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your contact information, please log in to SAGETrack at <https://mc.manuscriptcentral.com/jdr> and edit your user information as needed. You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging into system.

Co-Authors: You are receiving this message because a manuscript has been submitted to Journal of Dental Research listing you as a co-author on JDR-19-0211, "At-home tooth bleaching: microbiota, sensitivity and effectiveness." If you feel you have received this notification in error, please contact the editorial office at [jdr@iadr.org](mailto:jdr@iadr.org).

As part of our commitment to ensuring an ethical, transparent and fair peer review process SAGE is a supporting member of ORCID, the Open Researcher and Contributor ID (<https://orcid.org/>). We encourage all authors and co-authors to use ORCID IDs during the peer review process. If you already have an ORCID ID you can link this to your account in ScholarOne just by logging in and editing your account information. If you do not already have an ORCID ID you may login to your ScholarOne account to create your unique identifier and automatically add it to your profile.

Thank you for submitting your manuscript to Journal of Dental Research.

Sincerely,

Editorial Staff  
Journal of Dental Research