



UNESP- Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Odontologia de Araraquara



VANESSA TORRACA PERARO VAZ

Comparação do efeito do bochecho de triclosan +
copolímero + flúor, com a clorexidina, sobre a taxa de
formação de placa dentária, retenção do antimicrobiano na
placa dentária e na saliva e redução de estreptococos do grupo
mutans na saliva. Estudo clínico randomizado, cruzado, duplo-
cego controlado.

Araraquara

2014



UNESP- Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Odontologia de Araraquara



VANESSA TORRACA PERARO VAZ

**Comparação do efeito do bochecho de triclosan +
copolímero + flúor, com a clorexidina, sobre a taxa de
formação de placa dentária, retenção do antimicrobiano na
placa dentária e na saliva e redução de estreptococos do grupo
mutans na saliva. Estudo clínico randomizado, cruzado, duplo-
cego controlado.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação
em Ciências Odontológicas área de Dentística, da
Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade
Estadual Paulista para título de Mestre em Ciências
Odontológicas.

**Orientador: Prof Dr Osmir Batista de Oliveira
Junior**

Araraquara

2014

Vaz, Vanessa Torraca Peraro

Comparação do efeito de bochecho de triclosan + copolímero+flúor, com a clorexidina, sobre a taxa de formação de placa dentária, retenção do antimicrobiano na placa dentária e na saliva e redução de estreptococos do grupo mutans na saliva. Estudo clínico randomizado, cruzado, duplo-cego controlado / Vanessa Torraca Peraro Vaz.-- Araraquara: [s.n.], 2014.

36 f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia

Orientador: Prof. Dr. Osmir Batista Oliveira Junior

1. Antissépticos bucais 2. Clorexidina 3. Triclosan 4. Placa
dentária 5. Cromatografia líquida de alta pressão I. Título

VANESSA TORRACA PERARO VAZ

“Comparação do efeito do bochecho de triclosan + copolímero + flúor, com a clorexidina, sobre a taxa de formação de placa dentária, retenção do antimicrobiano na placa dentária e na saliva e redução de estreptococos do grupo mutans na saliva. Estudo clínico randomizado, cruzado, duplo-cego controlado.

COMISSÃO JUGADORA

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE
MESTRE

Presidente e Orientador: Prof Dr Osmir Batista de Oliveira
Junior

2º examinador: Profa Dra Andréa Abi Rached Dantas

3º examinador: Prof Dr Sérgio Salvador

Araraquara

19/03/2014

DADOS CURRICULARES

VANESSA TORRACA PERARO VAZ

Nascimento

27/10/1977 Ribeirão Preto/SP

Filiação:

Edson Peraro

Maria de Lourdes Torraca Peraro

1995/1999

Graduada em Odontologia faculdade UNAERP/ Ribeirão Preto

2009/2011

Pós graduada , com nível de especialização em Dentística Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto FORP/USP

2012/2014

Pós graduada, com nível mestrado, em Dentística , pela Faculdade de Odontologia de Araraquara-FOAR/Unesp

Dedicatória

Dedico esse trabalho à minha filha Manuella e ao meu marido Alessandro, os quais com muita paciência suportaram minhas ausências, minhas angústias e meus momentos de crises....

Aos meus pais, Lurdinha e Edinho, que muito me ajudaram e torceram por mim..

E às minhas irmãs Renata e Daniela que são metade de mim, tanto sofreram como sorriram comigo.

Amo vocês!!!

Agradecimentos

Antes de tudo, devo agradecer a Deus, por me dar forças para chegar até a linha de chegada dessa maratona que vivi ao longo desses tres anos que se passaram...foram muitos obstáculos enfrentados, e sem Ele eu jamais teria conseguido.

Agradeço ao meu marido Alessandro pela prova de amor que me deu ao dizer : "vai lá...faça o seu melhor..deixa o resto comigo.." nessa hora eu consegui a coragem para realizar o maior sonho da minha vida..obrigada..TE AMO MUITO!!

À minha filha Manu, obrigada por ter alegrado meus dias...TE AMO MINHA BIJUZINHA...

Aos meus pais, que me ajudaram com todo apoio que puderam, cuidaram da minha filha quando eu não estava presente, rezaram por mim quando estava na estrada..Muito obrigada!

Às minhas irmãs Renata e Daniela, que foram as "mães" da minha filha por 3 anos..obrigadasso

À minha secretária Mayza, muito obrigada pela dedicação com que cuidou da minha agenda tão complicada, e à Milena que com seu jeitinho engraçado me tirou da tristeza várias vezes..valeu...

Ao meu orientador Osmir, obrigada por ter me guiado nesse caminho tão tumultuado que percorri, me dando as direções corretas, me dando apoio quando eu pensava em desistir, me encorajando quando eu tinha medo..obrigada por ter aceitado ser meu orientador, e o te-lo feito com muita dedicação..

Jamais me esquecerei da imensa dedicação dada pelo meu Co-orientador, Prof Dr Sérgio Salvador, que com sua grande sabedoria me ensinou muito sobre microbiologia, e confiou no meu trabalho. Aproveito ainda para agradecer a sua técnica de laboratório, Marina, pessoa espetacular, muito obrigada pela “mãozinha” que me deu durante os testes microbiológicos..com certeza eu posso dizer que sem sua ajuda eu também jamais teria conseguido.

Não poderia me esquecer das minhas colegas de aula: Keren, Marina, Renata, Mariana, Adriana e Héliida...vcs fizeram meus dias na faculdade bem mais divertidos ...nunca esquecerei do açaí com chocolate...muito obrigada..Adorei conhece-las...Keren obrigada pelas sessões de “Kerenterapias”..foram fundamentais para essa minha conquista...e Héliida muito obrigada pelo “galhos quebrados” ..sem sua ajuda não finalizaria a tempo minha tese.

Agradeço ao Ademir, da Química, pela imensa paciência que teve comigo durante as análises químicas, e pelas aulas que me deu sobre o tema...você foi realmente muito importante.

Não posso deixar de registrar meu profundo agradecimento aos voluntários dessa pesquisa, que tiveram paciência, e doaram parte de seu tempo para a realização desta.

A CAPES pelo financiamento da Bolsa de estudo que me auxiliou a finalizar essa etapa da minha vida.

Aos funcionários da FOAR, Creusa, Priscila, Dona Cida, a Tia do Cafézinho e ao pessoal do laboratório.

Enfim agradeço a todos que direta ou indiretamente estiveram comigo nesses anos de mestrado, onde cresci cientificamente e aprendi muito ..levo comigo uma frase que tenho que deixar aqui registrada:

“Pode ser difícil mas nunca é tarde para realizarmos nossos sonhos”

OBRIGADA A TODOS!!

“Veni, Vidi Vici”

Julio César

Resumo

Vaz VTP. Comparação do efeito do bochecho de triclosan + copolímero + flúor, com a clorexidina, sobre a taxa de formação de placa dentária, retenção do antimicrobiano na placa dentária e na saliva e redução de estreptococos do grupo mutans na saliva. Estudo clínico randomizado, cruzado, duplo-cego controlado (Dissertação de mestrado). Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2014.

Resumo:

O objetivo deste estudo foi avaliar comparativamente o efeito do bochecho diário com solução de digluconato de clorexidina à 0,12% (TA - controle) em relação à solução de 0,03% de triclosan, 1% copolímero (Gantrez[®]) e 0,05% de fluoreto de Sódio (TB - teste) em função da taxa de formação de placa dentária, retenção do antimicrobiano na placa dentária e saliva e redução de estreptococos do grupo mutans na saliva. **Material e Método:** Participaram deste estudo clínico randomizado, cruzado, com duplo cegamento e dois períodos de tratamento, 26 voluntários de ambos os gêneros e idade entre 18 e 30 anos (média de 24 anos), divididos em 2 grupo: G1(n=13) e G2 (n=13). Em cada período de tratamento os participantes realizaram 2 bochechos diários de 60 segundos cada, um ao se levantar e outro doze horas após, por sete dias. **Resultado:** A redução do índice de placa foi muito semelhante em ambos os grupos, já a análise por cromatografia líquida de alta eficiência não evidenciou traços dos antimicrobianos após 12 horas do uso dos enxaguatórios por 1 e 7 dias na placa dentária nem na saliva. A ação antimicrobiana evidenciou efeito estatisticamente significativo para tratamento (antes e após bochecho) com agente antimicrobiano (clorexidina e triclosan). A clorexidina foi mais eficaz que o triclosan (22,8% e 8,9% de redução, respectivamente). **Conclusão:** 1) Tanto o triclosan quanto a clorexidina, mostraram-se eficazes na redução da placa dentária dos voluntários. 2) Nenhum dos antimicrobianos permanecem na cavidade bucal após 12 horas do uso. 3) O uso de enxaguatórios bucais com clorexidina e triclosan,

complementa o controle mecânico da placa dentária por sua eficaz ação antimicrobiana sobre os estreptococos do grupo mutans, reduzindo o risco de cárie dos pacientes.

Palavra Chave: Antissépticos bucais, Clorexidina, Triclosan, Placa dentária, Cromatografia líquida de alta eficiência.

Abstract

Vaz VTP. Comparison of the effect of triclosan + copolymer + fluoride mouthwash, with chlorhexidine on the rate of formation of dental plaque, retention of the antimicrobial in dental plaque and saliva and reduction of mutans streptococci in saliva. Randomized, crossover study, double-blind controlled(dissertation of master). Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2014.

Abstract:

The aim of this study was to comparatively evaluate the effect of daily rinsing with a solution of chlorhexidine digluconate 0,12% (TA- control) with the solution 0,03% triclosan + 1% copolymer (Gantrez ®) + sodium fluoride 0,05% (TB- test) according of the rate of dental plaque formation, retention of antimicrobial agent in dental plaque and saliva by high performance liquid chromatography and reduction on mutans streptococci in saliva .**Material and Method:** In this randomized clinical study, crossover, double blinding with two treatment periods, 26 volunteers of both genders with between 18-30 years (average 24 years), was divide into 2 groups: G1 (n=13) and G2 (n=13). In each treatment period the volunteers realized two daily mouthwashes of 60 seconds each, the first to get up and other twelve hours later, for 7 days. **Results:** The reduction of rate of dental plaque formation was same in bouth groups; high performance liquid chromatography analysis wasn't show trace of antimicrobial after 12 hours use of mouthwashes by 1 or 7 days in dental plaque or in saliva .The antimicrobial action showed statistically significant effect for treatment (before and after rinsing) with antimicrobial agent (chlorhexidine x triclosan). The chlorexidine digluconate was more effective than triclosan (22,8% and 8,9 decrease, respectively). **Conclusion:** 1) As far as triclosan, chlorhexidine, were effective in reducing dental plaque volunteers. 2) None of the antimicrobial agents remain in the oral cavity after 12 hours of use. 3) The use of mouthwashes containing chlorhexidine and triclosan, complements the mechanical control of

dental plaque for their effective antimicrobial action on *mutans* streptococci, reducing caries risk patients

Keywords: Antimicrobial, Chlorhexidine, Triclosan, Dental Plaque, High performance liquid chromatographic.

Sumário

Sumário

1	Introdução.....	21
2	Revisão da Literatura.....	26
3	Proposição.....	36
4	Material e método.....	38
4.1	Delineamento experimental.....	39
4.2	Padronização da condição bucal dos participantes.....	41
4.3	Randomização	41
4.4	Tratamento e <i>washout</i>	41
4.5	Protocolo de utilização dos antissépticos bucais.....	42
4.6	Cegamento.....	42
4.7	Taxa de formação da placa dentária.....	43
4.8	Retenção dos antimicrobianos na placa dentária e na saliva.....	44
4.9	Determinação do número de unidades formadoras de colônias de estreptococos do grupo mutans na saliva.....	50
5	Resultado.....	54
5.1	Taxa de formação da placa dentária.....	55
5.2	Retenção dos antimicrobianos na placa dentária e na saliva por HPLC.....	56
5.3	Determinação do número de unidades formadoras de colônias de estreptococos do grupo mutans na saliva.....	58
6	Discussão.....	60
7	Conclusão.....	66
	Referências.....	68
	Anexo.....	75

Introdução

1 Introdução

Infelizmente a significativa redução na incidência de cárie observada entre crianças e adolescentes nas últimas décadas não tem se traduzido em menor incidência de lesões entre adultos e idosos ^{14,18,45}. O levantamento epidemiológico nacional realizado em 2010, pelo Ministério da Saúde, revelou que mesmo havendo diminuição no número de dentes cariados na população de 2003 a 2010, a média de dentes afetados por cárie entre adolescentes de 15 a 19 anos, é mais que o dobro do número médio encontrado entre as crianças de 12 anos. Refletindo assim nos adultos e idosos, onde a redução no ataque de cárie é ainda menos significativa, devido ao caráter cumulativo das sequelas da doença.

Estes fatos demonstram que os modelos tradicionais de prevenção da cárie dentária, centrados na promoção de higiene oral são pouco eficientes para eliminar a doença, pois muito embora seja senso comum que a limpeza mecânica dos dentes com escova e fio dental seja eficaz no combate da cárie dentaria, sendo considerada como “padrão ouro” da higienização bucal ^{3,8,25,26,57}, sabe-se que a escovação manual consegue somente reduzir a quantidade de biofilme dental reduzindo a velocidade da progressão das lesões ⁵⁰. Além do mais, a eficiência desse método está diretamente relacionada com a perfeita habilidade motora e psicológica do indivíduo, onde, estando uma vez afetadas, o mesmo não conseguirá exercer corretamente, levando ao acúmulo de placa entre os dentes ^{45,50}.

A cárie dentária é definida como uma doença multifatorial bacteriana específica, na qual bactérias cariogênicas se ligam aos receptores da película adquirida transformando o biofilme dental não específico em um biofilme cariogênico. Ao metabolizar carboidratos da dieta, estas bactérias excretam ácido lático, que por sua vez, desmineraliza a estrutura dentária dando origem as lesões de cárie ^{19,46,48,50,51,59}. Esta característica multifatorial é que diferencia a cárie dentária das outras doenças infecto contagiosas e reduz a eficiência das medidas profiláticas de limpeza dental ⁵⁰.

Vários fatores como a concentração de bactérias cariogênicas transmitida, o momento da transmissão/infecção da cavidade bucal, a presença ou ausência de bactérias concorrentes na placa dentária, o tipo e frequência de dieta dos indivíduos, o acesso e a capacidade de metabolização dos carboidratos da dieta pelas bactérias cariogênicas, a quantidade e concentração dos ácidos excretados, o tempo de permanência destes sobre a estrutura dental, a frequência do uso do flúor, o fluxo salivar e a capacidade tampão da saliva entre outros, vão determinar a severidade do dano causados à estrutura dental ³⁵.

Outra forma de combater a cárie dental é por meio do controle químico da placa dentária. Neste, agentes químicos com potencial bacteriostático e/ou bactericida, são utilizados para reduzir a taxa de formação e a quantidade de bactérias cariogênicas presentes na placa dentária, o que influencia diretamente na taxa de produção ácida e no dano causado na estrutura dental ^{8,20,22,31,36,40,50,57}.

Agentes químicos como: peróxidos, óleos essenciais, fenóis, composto de amônio quaternário, antibióticos, bisguaninas, íons metálicos e fitoterápicos, tem sido utilizados e estudados para este fim com efeitos variáveis ^{1,20,25,26}.

O digluconato de clorexidina - 1:6-Di 4'-clorofenol-diguaidohexano (CHX)²⁰ é um potente agente antimicrobiano usado contra as principais bactérias cariogênicas, Gram positivas e Gram negativas, reduzindo a concentração destes microorganismos na placa dentária devido à sua atividade bactericida e bacteriostática. A CHX atua contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, o que lhe confere um poder antimicrobiano de largo espectro, ela altera a permeabilidade da membrana celular, causando desequilíbrio osmótico e precipitados de coagulação no citoplasma¹⁹. A CHX em baixa concentração, tem ação bacteriostática, e em alta concentração, age como bactericida⁴⁵. Devido à adsorção das moléculas de CHX catiônicas pelas superfícies orais e pela sua liberação em níveis

bactericidas por período prolongado apresenta efeito antimicrobiano persistente o que é denominado de substantividade^{1,8,20,26,49}.

Apesar da CHX ser considerada o mais efetivo enxaguatório para controle químico da placa dentária^{1,3,5,16,22,24,25,31,32,36,45,54,58}, seus efeitos colaterais fazem com que a taxa de rejeição à sua utilização rotineira seja alta. O uso contínuo da CHX provoca manchamento nos dentes, sabor desagradável, alteração ou perda do paladar e descamação e irritação da mucosa oral e da língua^{20,31}.

Em função disso, vários estudos têm sido realizados com outros agentes antimicrobianos a fim de se encontrar o produto com alta eficácia e aceitação por parte dos pacientes.

O triclosan (TCN) é um éster tricloro-2-hidroxicidifenil não iônico que também apresenta efeito inibitório na formação de placa dentária^{6,9,21,23,31,39,40,53}. Por não ser catiônico o TCN apresenta baixa permanência no meio bucal, o que lhe confere também baixa substantividade. No entanto, esta limitação tem sido compensada pela associação do TCN com copolímeros, a fim de aumentar sua afinidade com as estruturas orais e potencializar seu efeito antimicrobiano pelo aumento da substantividade, sendo o ácido polivinilmaleico (MA/Gantrez®) o copolímero mais utilizado.^{6,21,23,39,40}

As principais vantagens da utilização do TCN como agente antimicrobiano para tratamento dos pacientes de alto risco de cárie é que este não tem sabor desagradável e não causa nenhum dos efeitos colaterais da CHX^{6,23,31,39,40,52}. Apesar destas vantagens, a literatura é unânime em afirmar que seu efeito antimicrobiano é inferior ao da CHX.

A ação de um agente antimicrobiano pode ser avaliada por sua capacidade de inibir a formação da placa dentária, por sua atividade antimicrobiana contra bactérias cariogênicas e por sua permanência na cavidade oral após o uso (substantividade). O agente antimicrobiano

ideal deve ter alta capacidade de inibição da formação de placa dentária, alto efeito antimicrobiano e alta substantividade^{20,22}.

Estudos prévios afirmam que a CHX é altamente eficiente e permanece na cavidade bucal por um período prolongado de tempo após seu uso ^{10,20,24,45,55}. Já o TCN apresenta adequado efeito antimicrobiano e substantividade relativa^{9,39,40,41}. No entanto, nestes estudos os antimicrobianos foram utilizados de forma idealizada e que não representam a rotina diária de uma pessoa comum. Em muitos estudos os voluntários permaneceram em jejum por 2 ou mais horas e sem higienizar seus dentes por mais de 12 horas para que os efeitos dos antimicrobianos pudessem ser cientificamente avaliados ^{24,30,58}.

É claro que os efeitos observados em condições experimentais idealizadas podem não se traduzir em benefícios reais no dia a dia dos pacientes. A fim de se conhecer o verdadeiro impacto da incorporação destes enxagatórios antimicrobianos na rotina de higiene oral de pacientes adultos jovens, e conhecermos os benefícios de suas recomendações, realizamos este presente estudo.

Revisão da Literatura

2 Revisão da Literatura.

Numa revisão de literatura para seu trabalho clínico, Gjermo et al.²⁴, em 1974, descobriu que cerca de 30% da CHX, introduzida na cavidade oral após o uso de um enxaguatório convencional, fica retida na boca, entretanto quando o pH da solução for baixo o efeito clínico fica diminuído. Estudos ainda mostraram que em pH 2,0 não houve atividade bactericida da CHX em relação aos *S mutans* na presença de sacarose, quando comparada a mesma situação mas em pH 6,4. Assim, Gjermo conduziu seu estudo afim e avaliar a quantidade de dissorção de CHX (liberação) aplicada previamente in vivo por enxaguatórios bucais em pH 3,0, e seus possíveis efeitos clínicos na formação da placa e dissorção. Selecionaram 5 voluntários e lhes forneceram 10mL da solução teste de CHX. Os voluntários fizeram bochecho por um minuto e expectoraram em seguida em copos plásticos, em seguida fizeram 3 bochechos com acido acético e expectoraram novamente. Após análises em Packard Tri-carb espectrometro cintilizador líquido, demonstrou que a retenção inicial da CHX variou de 3 a 7,1 mg (29%) e após o uso do acido acético a retenção caiu para aproximadamente 10%, o que demonstrou que o efeito de inibição da placa pela CHX foi quase totalmente eliminado quando o pH do enxaguatório baixou.

Em 1974, Bonesvoll et al.¹⁰, fizeram um estudo para investigar o quanto a CHX fica retida na cavidade oral após uso como enxaguatório bucal. Dividiu-se as avaliações em inter-individual e intra-individual. Para analisar a presença da CHX na cavidade oral as amostras foram contadas em um Packard Tri-carb espectrometro cintilizador liquido. A CHX pode ser detectada na saliva durante as 24 hs do período experimental.

Loesche³⁵ em 1986, informou que das 200 a 300 espécies de microorganismos presentes na placa dentária humana, apenas 2 delas podem ser consideradas específicas para causar a cárie: os *Streptococcus mutans* (EGM) e os *Lactobacillus*(LB) . Já a periodontite

abrange maior número de bactérias como as *espiroquetas*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Euobacterium* e *Wolinella sp.* Segundo o autor, para prevenir e tratar a cárie dental é necessário reduzir a concentração das bactérias cariogênicas na saliva e na placa dentária.

Gilbert, Williams²³ em 1987, selecionaram voluntários saudáveis e sem cáries, os quais utilizaram 2 pastas de dentes, onde a pasta teste continha 0,2% de TCN e 0,5% de citrato de zinco tri-hidratado enquanto a outra funcionava como placebo. Ambas foram diluídas em água, e utilizadas como enxaguatórios. Amostras de saliva e placa foram coletadas antes e após o uso das pastas, e foram avaliadas por medidas de radioatividade por cintilação. Observaram que o TCN fica retido na boca, particularmente na placa dentária, após sua administração pelo uso de dentifrícios, o que pode ser responsável pela sua eficácia no efeito anti-placa.

A fim de estabelecer as propriedades físico-químicas e microbiológicas do TCN, Bhargara, Leonard⁹ em 1996 realizaram uma revisão de literatura e constataram que o TCN é um antibacteriano de amplo espectro, que age principalmente na membrana citoplasmática da bactéria, agindo contra o RNA e na síntese protéica dessas. Quando formulado sozinho, o TCN apresentou-se como bom agente antimicrobiano, porém com baixa permanência na cavidade oral, entretanto quando associado à copolímeros, diminuiu a formação de cálculos e a formação de placa supragengival. O autor ainda afirma que o TCN não é tóxico nem cancerígeno, podendo ser utilizado tranquilamente como antisséptico bucal.

A partir de ampla revisão sobre os diferentes métodos para o controle químico da placa dentária, em 1997, Gaffar et al.²² afirmam que a significativa redução na concentração de bactérias obtida imediatamente após os procedimentos de higiene oral, permanece por apenas 6 horas, uma vez que a cavidade oral é um sistema aberto, onde ocorre contínua

reinfeção de mucosas, gengiva e dentes. Observando especificamente os resultados descritos para fluoreto estanhoso, agentes oxigenantes, agentes catiônicos (CHX, cloreto benzetonium e cloreto cetilperidinium) e agentes não catiônicos (TCN), concluíram que o fluoreto estanhoso é capaz de reduzir a placa e a gengivite tanto como enxaguatórios, gel ou na forma de pasta dental. Os agentes oxigenantes, mostraram eficácia a curto prazo que não foi confirmada em estudos a longo prazo. Afirmam que a CHX (agente catiônico) é o mais efetivo antimicrobiano e o que apresenta maior permanência nos tecidos orais, porém causa manchas dentárias e facilita a formação de cálculos. Informam que, o TCN (agente não catiônico) tem amplo espectro de ação antibacteriana, entretanto necessita da adição de copolímeros, como o éter polivinil metil (PVM) e o ácido maleico (MA) para aumentar sua substantividade na cavidade oral. Destacam que um dos aspectos mais interessantes do TCN é o seu efeito de dupla-barreira, onde não só age como antibacteriano como também neutraliza os produtos dessas bactérias que possam provocar inflamações, sendo assim o TCN é considerado um agente antibacteriano e também anti-inflamatório.

Tsuchiya et al.⁵² em 1999, utilizaram a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para quantificar a CHX na saliva. Utilizaram homens, de 45 e 46 anos, divididos em 2 grupos com 8 voluntários. Os dois grupos fizeram uso de CHX. Após o uso do enxaguatório um grupo manteve-se em jejum enquanto o outro grupo pode ingerir 300 ml de chá verde ou suco de laranja 1,25h após uso do enxaguatório. Foram realizadas avaliações por HPLC 2 e 4 horas após utilização da CHX. As amostras do grupo que manteve-se em jejum mostraram forte presença do antimicrobiano nos dois tempos testados. O grupo que ingeriu chá verde ou suco de laranja, mostrou sinal fraco e decrescente nos tempos de análise. Concluíram que a ingestão de alimentos reduz a presença e o efeito antimicrobiano da CHX.

Eley²⁰ em 1999, fez um estudo minucioso sobre a ação dos agentes antibacterianos no controle da placa dentária supragengival. Os agentes revistos foram: bisguanidas (CHX), amônia quaternária, fenólicos, hexetidine, iodo povidine, TCN, delmopinol, salifluor, íons metálicos, sanguíneos, própolis e agentes oxigenantes. Constataram que muitos dos agentes antimicrobianos testados apresentaram significativa atividade inibitória da placa dentária, quando comparados com placebo inativo. Muitos dos mais efetivos agentes compartilham o efeito colateral de produzir manchas nos dentes, quando utilizados por longo período de tempo. Um grupo das bisguanidas, a CHX foi considerada o agente antimicrobiano mais efetivo para o uso na cavidade oral, devido a sua alta seletividade, especificidade e substantividade. Apesar da excelente ação antimicrobiana, o TCN foi considerado inferior à CHX, mesmo quando associado a copolímero PVM/MA. Os demais agentes apresentaram atividade antibacteriana inferior a CHX e TCN e maiores limitações de uso.

Furuich²¹ em 1999, afim de comparar a formação de placa nova, e a concentração de flúor e TCN na placa interproximal, realizou um estudo clínico cruzado randomizado, com 10 estudantes. Utilizou como teste 3 produtos: A) um dentifrício contendo 1 ml de NaF / TCN/ Gantrez® misturado com 10 ml de água; B) um enxaguatório contendo 10 ml de NaF / TCN/Gantrez® e C) 10 ml de solução de NaF como enxaguatório. O estudo foi realizado num período de 14 dias, onde faziam 2 bochechos diários, e suspenderam a ingestão de alimentos e bebidas por 2 horas após realização dos bochechos. Foi feito o cruzamento das substancias em 3 períodos de tratamento e dois períodos de *wash out*. Amostras da placa interproximal foram colhidas antes e após os períodos de teste e congeladas , sendo descongeladas antes da análise. A concentração do flúor foi determinada com o uso de um eletrodo íon-específico, enquanto que a concentração do TCN foi determinada por HPLC. Quanto a formação da placa nova, os resultados foram semelhantes, porém o grupo do enxaguatório contendo NAF/TCN/Gantrez® apresentou índice de placa menor do que os outros 2 grupos nos dias 4, 7 e 14. Quanto á

concentração de flúor e TCN na placa, pode-se observar que os grupos que utilizaram NaF/TCN/Gantrez® como dentifrício e enxaguatório, apresentaram maior concentração de flúor na placa, tendo o grupo do dentifrício apresentado também maior concentração do TCN.

Moran et al.⁴⁰, em 2000, realizaram um estudo duplo-cego, cruzado, para determinar se uma nova formulação de enxaguatório contendo óleo triglicerídico era capaz de reduzir a formação de placa quando comparado com enxaguatório controle. Utilizando 24 voluntários, os quais passaram por profilaxias prévias ao tratamento e evidênciação de placa dentária das superfícies vestibulares e palatinas dos dentes. Os resultados finais mostraram que o enxaguatório de TCN/óleo não apresentou nenhum resultado de redução significativa no índice de placa. Tal fracasso pode ter ocorrido devido a falta do copolímero PVM/MA.

Paraskevas⁴⁵ em 2005, realizou uma revisão com estudos clínicos randomizados com duração maior ou igual a 6 meses, onde testaram agentes químicos no controle da placa dentária e da gengivite. Concluiu que a CHX é o agente químico mais estudado e o mais eficaz na cavidade oral. Entretanto os efeitos colaterais indesejáveis como sabor desagradável, alteração do paladar, aparecimento de manchas acastanhadas nos dentes e descamação oral, podem contraindicar seu uso prolongado.

Em 2006, Muller et al.⁴¹, fizeram um estudo longitudinal, randomizado, duplo-cego, onde testaram o efeito do uso de dentifrícios contendo TCN sobre o índice de sangramento gengival e da formação de placa dentária. Utilizaram 10 semanas para realização deste estudo, feito com 34 voluntários (19-28 anos) que fizeram uso do dentifrício com e sem TCN/copolímero. Após 6 semanas de uso do dentifrício contendo 0,3% de TCN + 2% de copolímero, o grupo teve atenuação na formação de placa e no sangramento gengival, enquanto no grupo sem o TCN não houve alteração, o que comprova mais uma vez a

eficiência do TCN/copolímero não só na atividade anti-placa como também na inflamação gengival, e ainda mostra as limitações do controle mecânico da placa dentária.

A revisão sistemática e meta-análise realizada por Gunsolley²⁵ em 2006, com o objetivo de estabelecer a evidência científica da ação dos agentes anti-gengivite e anti-placa, evidenciou que somente os dentifrícios continham TCN + copolímeros, mostraram tanto uma relevância clínica e significância estatística no combate a placa dentária e a gengivite. Esta revisão mostrou, também, fortes evidências do benefício do uso dos agentes químicos em adição aos métodos mecânicos da escovação e fio dental no controle da placa e da gengivite em adultos.

Mesmo sabendo que o uso da CHX para a prevenção da cárie dental tem sido um tópico controverso, Autio-Gold⁵ em 2008, descreveu o papel deste antimicrobiano na prevenção da cárie. Além de rever a eficácia dos diferentes modos de ação da CHX na prevenção da cárie, também forneceu diretrizes para o uso da CHX. Nessa revisão poucos artigos que descrevem o efeito do enxaguatório bucal de CHX no combate a cárie dentária, foram encontrados. Dos dez trabalhos considerados, apenas um não revelou significativa redução de cárie após uso de bochecho diário de CHX. Já na forma de gel para aplicação tópica, mais estudos foram encontrados, e estes apresentaram redução significativa de cárie variando de 26 a 68%. Para aumentar a substantividade da CHX, foram desenvolvidos vernizes, os quais apresentavam maior retenção das mesmas nas áreas colonizadas por *S mutans*, reduzindo seu número por até 5 meses. O uso da combinação da CHX com o flúor aumentou ainda mais a supressão dos *S mutans*, apresentando melhores resultados na prevenção da cárie. Concluíram então, que devido a atual falta de evidências clínicas de longo prazo para a prevenção de cárie e devido aos efeitos colaterais relatados, o bochecho de CHX não deve ser recomendado para a prevenção da cárie somente. O ideal, devido a cárie ser uma

doença multifatorial, é utilizar os métodos mais eficazes que são baseados em evidências, tais como as aplicações de flúor, modificação da dieta e boa prática de higiene oral.

Em 2009, Kraivaphan et al.³⁰, a fim de determinar a retenção do TCN na placa dental e seus efeitos antibacterianos na população da Tailândia, fizeram um estudo clínico duplo cego, randomizado, de 16 dias de duração, com 65 participantes de 18-65 anos. Utilizaram enxaguatórios contendo 0,03% de TCN e 1,5% copolímero PVM/MA e o outro, placebo, o qual continha 0,05% de fluoreto de sódio (sem TCN e sem copolímero). Dos 65 participantes, 61 completaram o estudo. A viabilidade da placa dentária e a retenção dos agentes antimicrobianos foram avaliadas pelo método de fluorescência e microscopia confocal. O grupo que utilizou o TCN + PVM/MA como enxaguatório, apresentou retenção do TCN após 6 e 12 horas do seu uso, com diminuição respectiva. Mediante resultados, os autores sugerem o uso dos enxaguantes como coadjuvantes da prática de escovação dentária.

Gunsolley²⁶ em 2010, com intuito de avaliar a eficácia anti-placa e anti-gengivite dos enxaguatórios e determinar a relevância clínica das evidências, realizou uma revisão de literatura baseada em artigos encontrados no MEDLINE, datados de 1983 a setembro de 2009. A revisão incluiu enxaguatórios com agentes ativos como a CHX óleos essenciais e cloreto de cetilperidinium assim como pastas com TCN e fluoreto estanhoso. Concluíram que os enxaguatórios com CHX e óleos essenciais tiveram fortes evidências na eficácia contra a placa e a gengivite, enquanto o cetilperidinium foi inconsistente e dependente da concentração usada no enxaguatório. A relevância clínica foi estimada pela redução percentual devido à atividade dos agentes e mudanças ao longo do tempo, comparados com o grupo placebo. Os enxaguatórios de CHX e óleos essenciais alcançaram ou excederam os resultados do grupo placebo, os quais tiveram apenas instrução de higiene oral e profilaxia.

Em 2011, Argawal, Nagesh ³ realizaram um estudo experimental tipo cruzado, empregando o quadrado latino, para avaliar e comparar o efeito do enxaguatório de 0,2% de CHX com o enxaguatório Listerine e com o enxaguatório de Tulsi 4%, sobre o nível de *Streptococcus mutans* salivar. Para isso selecionaram 45 crianças de 14-15 anos da cidade de Davangere (India) com pelo menos uma lesão de cárie presente, e contendo até 10⁵ CFU/ml de *Streptococcus mutans*. As amostras de saliva foram coletadas e analisadas por técnica de diluição e plaqueamento, sendo feita contagem das colônias usando contador eletrônico. Quando analisados, cada grupo de enxaguatório separado, todos apresentaram redução significativa do número de colônias de *S. mutans*, porém quando comparados entre si, não houve diferença estatística significativa.

De acordo com o trabalho in vitro de Corbin et al.¹³ em 2011, no qual foi avaliada a penetração e eficácia de 6 agentes antimicrobianos na placa dental por fluorescência confocal, nenhum dos antimicrobianos testados (CHX, etanol, laurel sulfato de sódio, TCN, cloreto de cetilperidinium e nisin) causou qualquer rompimento ou remoção do biofilme dental. Os autores comentam que algumas substâncias diminuíram a retenção do biofilme. Para esse estudo, foram utilizadas colônias de *Streptococcus oralis*, *Streptococcus gordonii* e *Actinomyces naeslundii* em suspensão planctônicas. Ainda demonstraram que a CHX se mostrou mais efetiva na intervenção do crescimento do biofilme após seu uso.

A fim de estabelecer uma metodologia confiável para medir o TCN e o triclocarbono presentes nos cosméticos, em 2012 Lui, Wu³³ fizeram um estudo utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). A condição cromatográfica para a separação e determinação desses agentes, foi otimizada durante a fase experimental enquanto investigavam as influências dos diferentes parâmetros da separação, incluindo o comprimento de onda analítico, tipo de coluna e da fase móvel utilizada. Assim concluíram que a fase

reversa do procedimento da HPLC foi desenvolvida para determinar se os produtos cosméticos continham TCN e triclocarbono. O método também foi validado nos termos de limite de detecção, limite de quantificação, repetitividade, reprodutibilidade e acurácia, exibindo ótimos resultados quando comparados com solução padrão.

Kumar et al³¹ em 2013, realizaram um estudo clínico randomizado duplo-cego, para avaliar a efetividade de três enxaguatórios diferentes: CHX; TCN + fluoreto de sódio e CHX + TCN+ fluoreto de sódio + cloreto de zinco; na formação da placa, do calculo, gengivite e pigmentações. Para isso utilizaram 48 voluntários que foram divididos em 3 grupos (A, B, C) onde cada um utilizou um enxaguatório diferente por 21 dias, e no final foram analisados por comparação entre os grupos. O grupo C, o qual utilizou um enxaguatório composto de 0,2% de CHX + 0,3% de TCN + 0,3% de NaF + 0,09% ZnCl₂, apresentou maior índice de gengivite e menor efetividade quanto a inibição da formação da placa dentária. A CHX foi o mais efetivo no controle da placa e da gengivite, porém apresentou grande pigmentação dentária. O grupo B do TCN + NaF apresentou menor deposição de cálculo supra gengival.

Proposição

3 Proposição

Comparar o efeito da incorporação de enxaguatório, na rotina diária de higiene oral, a base de CHX (0,12%) ou de TCN (0,03%) + de fluoreto de sódio (0,05%) + copolímero (1%) (Gantrez®) em função da taxa de formação da placa dental visível (IP), da retenção do antimicrobiano na saliva e na placa por HPLC e redução de EGM na saliva.

Material e método

4 Material e Método

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araraquara sob o número de protocolo 03576312.4.0000.5416(ANEXO 1). Participaram deste, 26 voluntários saudáveis, de ambos os gêneros, com idade de 18 a 30 anos, com presença de pelo menos 20 dentes permanentes hígidos ou adequadamente restaurados, alinhados e sem sinais de má formação dental, frequentadores da Clínica de Dentística da Faculdade de Odontologia de Araraquara-Unesp. O critério de exclusão aplicado foi: voluntários com histórico de uso recente de antibióticos (6 meses), uso frequente de antimicrobianos, gestantes, lactantes ou dependentes químicos (incluindo fumantes), histórico de alergia ou hipersensibilidade a alguns dos componentes dos enxaguatórios testados e portadores de doenças sistêmicas.

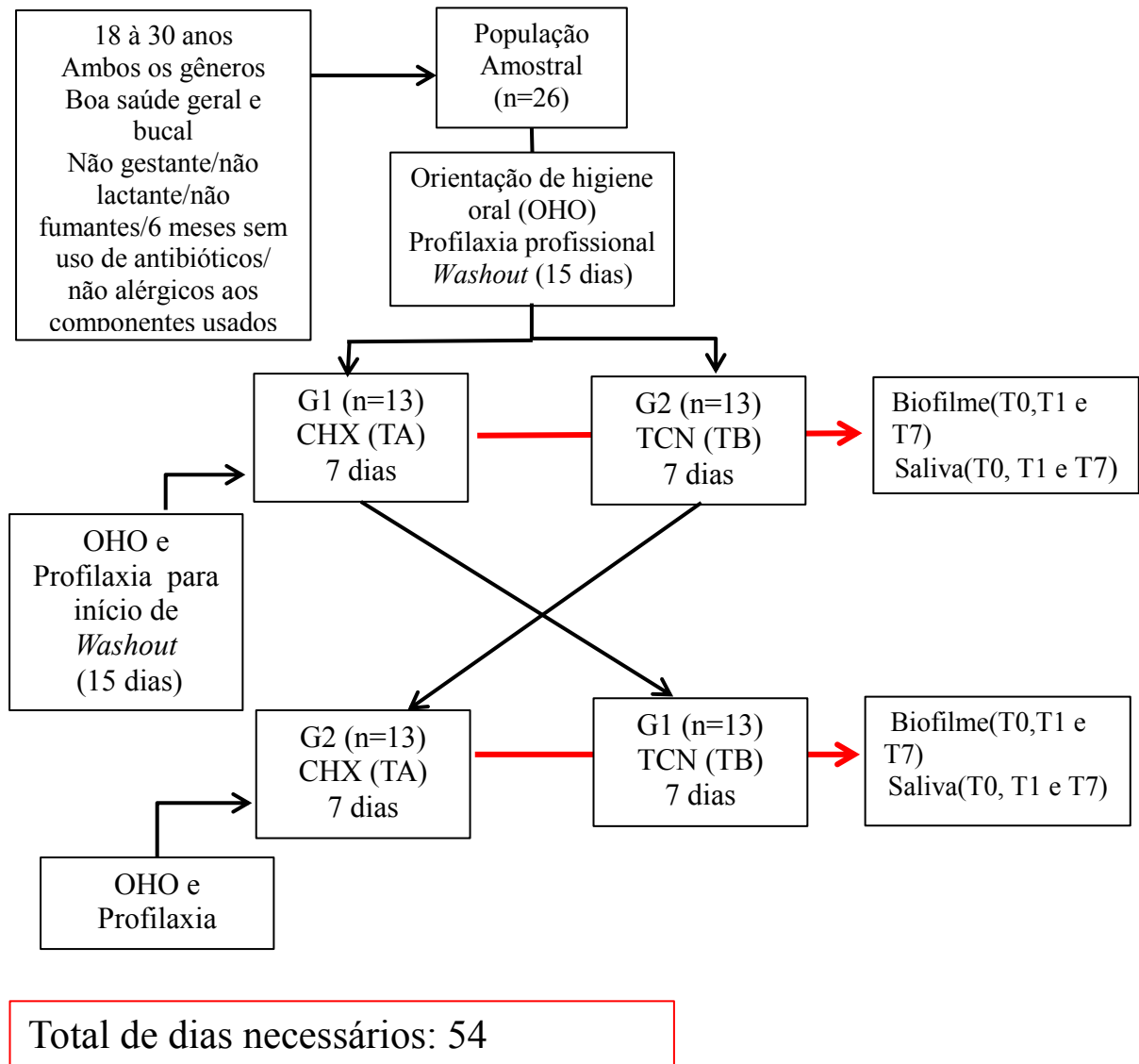
A população amostral foi dividida em dois grupos de 13 participantes cada. Todos os sujeitos foram informados sobre os objetivos, limitações e riscos deste estudo, e confirmaram sua adesão voluntariamente através da assinatura do termo de consentimento (TCLE) (ANEXO 2).

4.1 Delineamento experimental

Para avaliar comparativamente o efeito do bochecho diário com solução de CHX 0,12% (TA - controle) em relação à solução de TCN 0,03% + copolímero 1% (Gantrez[®]) + fluoreto de sódio 0,05% (TB - teste) em função da redução IP, retenção do antimicrobiano na placa dentária e na saliva e redução de EGM na saliva, foi realizado estudo clínico randomizado, cruzado, com duplo cegamento e dois períodos de tratamento conforme o

delineamento experimental apresentado na Figura 1, seguindo-se as diretrizes do grupo CONSORT/2010.

Figura 1 – Delineamento Experimental



4.2 Padronização da condição bucal dos participantes

Duas semanas antes do início do experimento todos os participantes receberam raspagem, profilaxia dental e orientação de higiene oral. Foi fornecido para cada participante dentifrício sem antimicrobiano, escova e fio dental para ser utilizado por todo o período do experimento. Os participantes foram instruídos a realizar higiene oral 3 vezes ao dia e manter seus hábitos alimentares rotineiros.

4.3 Randomização

Os voluntários foram randomicamente distribuídos em 2 grupos: G1(n=13) e G2 (n=13) por sorteio simples.

4.4 Tratamento e *Washout*

Os voluntários de G1 iniciaram o estudo utilizando CHX (TA) enquanto os de G2 utilizaram TCN + copolímero + flúor (TB). Esta sequência também foi determinada por sorteio simples.

Foram observados 2 períodos de *washout* de 15 dias cada, um antes da utilização da primeira, e outro antes da segunda sequência de tratamentos como descrito na Figura 01.

4.5 Protocolo de utilização dos antissépticos bucais

Para cada período de tratamento os voluntários receberam frascos sem identificação contendo 210 mL da respectiva solução antimicrobiana (TA ou TB) (Figura 2), segundo o grupo de estudo (G1 ou G2).

Figura 2- Enxaguatórios rotulados como TA e TB.



Os voluntários foram instruídos a realizar 2 bochechos diários, um ao acordar e o outro antes de dormir, com intervalo aproximado de 12 horas entre eles.

Estes bochechos foram realizados após escovação e uso de fio dental. Os voluntários realizaram bochechos de 1 minuto de duração, com 15 mL de solução e expectorando-o após seu uso.

Cada enxaguatório foi utilizado por 7 dias.

4.6 Cegamento

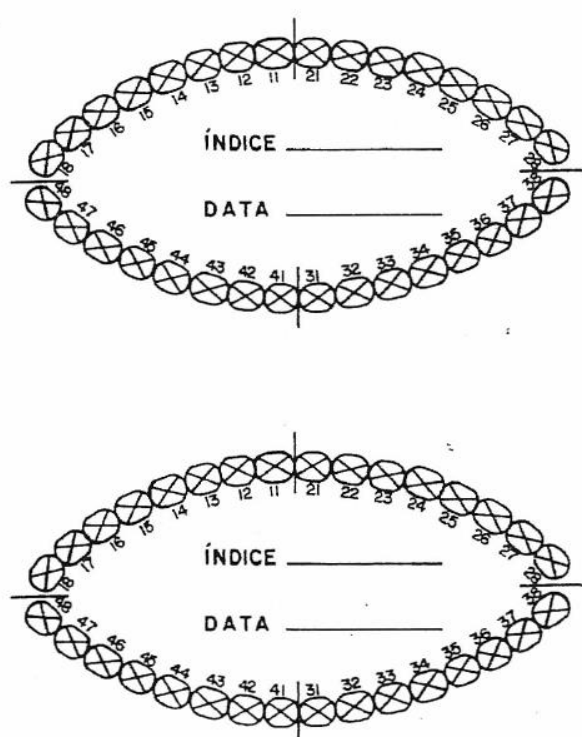
Este estudo teve duplo cegamento (voluntários e examinador) para os tratamentos (TA e TB).

4.7 Taxa de formação de Placa dentária (IP)

O IP foi determinado pelo método de O'Leary ⁴⁴, onde um examinador treinado, anotou em um esquema (Figura 3) o número de faces com presença de placa visível, e fez a proporção para determinar o IP. Essas anotações foram feitas antes do uso dos enxaguatórios bucais (T0) e ao final do período de tratamento de 7 dias (T7) (Figura 3).

Figura 3- Anotação do índice de placa antes e depois do tratamento, considerando a placa dentária visível.

Placa Visível:



Número de faces presentes-----100%

Número de faces com placa visível-----X

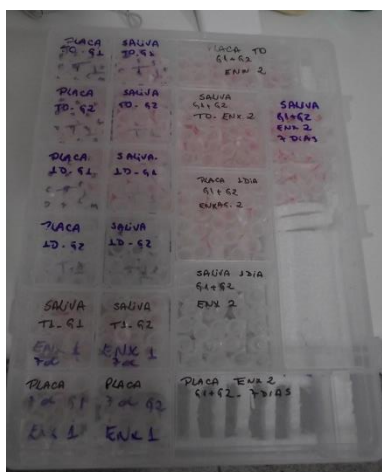
$X\% = IP$

4.8 Retenção dos antimicrobianos na placa dentária e na saliva

A retenção dos antimicrobianos na placa e na saliva foi avaliada por HPLC, o qual é um método físico-químico de separação, a qual está fundamentada na migração diferencial dos componentes de uma mistura, que ocorre devido as diferentes interações entre duas fases imiscíveis (fase móvel e fase estacionária). Estas interações tornam a técnica bastante eficiente quando utilizada para a identificação de compostos por comparação com padrões previamente existentes para a purificação dos compostos, separando-se as substancias indesejáveis ¹⁸.

As amostras de saliva foram obtidas por expectoração nos tempos T0 (baseline), T1 (após 12 hs) e T7 (após 7 dias) de uso do enxaguatório. Foi recolhido 5 mL de saliva em tubos estéreis tipo Falcons de 15 mL, sendo mantidos em geladeira até o final da colheita das amostras. Após o término, foi recolhido 1 mL de saliva em Eppendorfs, os quais eram armazenados em congelador até recolhimento dos 26 voluntários (Figura 4).

Figura 4- Amostras de salivas congeladas.

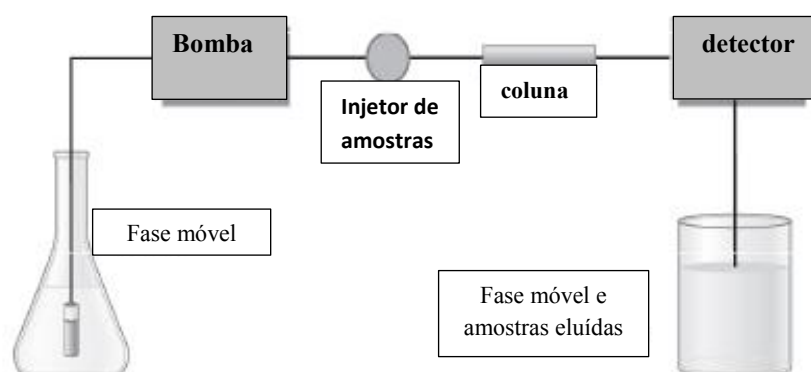


As amostras foram levadas ao laboratório de análises da Faculdade de Química da UNESP Araraquara, onde foram homogeneizadas em cubas ultrassônicas por 5 minutos e vórtex por 1 minuto, em seguida foram filtradas e levadas ao cromatógrafo (Figura 5 e 6).

Figura 5- Amostra de saliva sendo filtrada e inseridas em cromatógrafo com fase móvel.

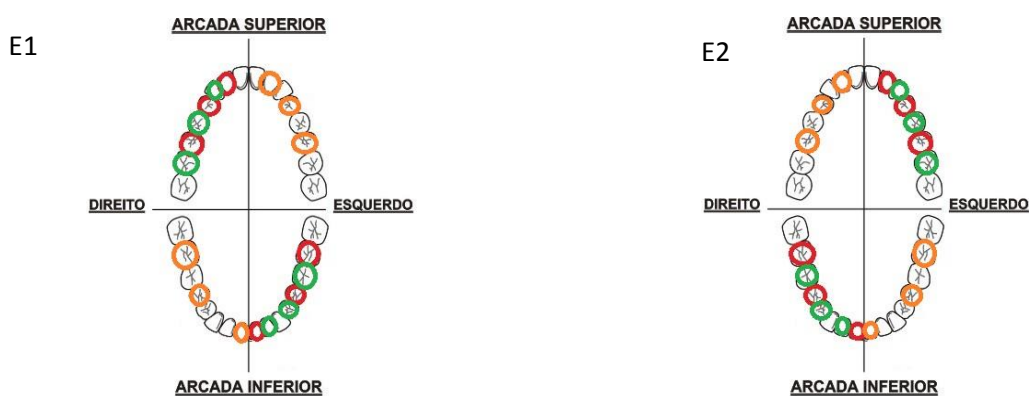


Figura 6- Funcionamento de um cromatógrafo com fase móvel



As amostras de placa dentária supragengival foram obtidas por raspagem da superfície dental com cureta periodontal estéril segundo o esquema de coleta (Figura 7), tal raspagem foi realizada 12 ± 1 hora após o bochecho noturno. Esta sequência foi aleatoriamente distribuída por sorteio entre os participantes, sendo a sequência utilizada no primeiro período de tratamento foi invertida no segundo período pra se evitar interferência do método de coleta nos resultados.

Figura 7- Esquema para coleta das amostras de placa dentária para análise cromatográfica (HPLC)



Legenda

- *Baseline* (antes do uso do enxaguatório)
- 1 dia após o uso do enxaguatório
- 7 dias após o uso do enxaguatório

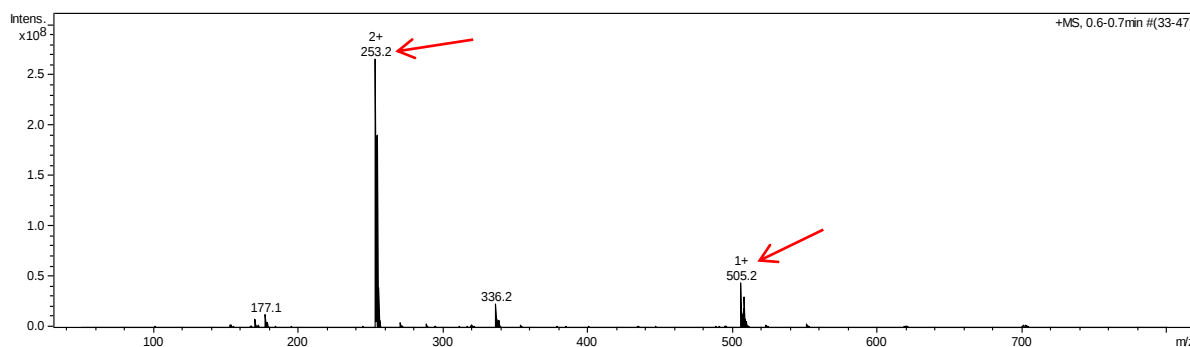
As amostras de placa foram diluídas em 10 mL de etanol (Figura 8), sonicadas por 20 segundos e posteriormente mantidas em repouso por 30 minutos. A seguir foram centrifugadas por 10 minutos e o sobrenadante foi recolhido e armazenado em congelador em frascos de coleta para posterior análise.

Figura 8- Amostra de placa armazenada em etanol.



Para determinação da presença do CHX, primeiro se estabeleceu o cromatograma de referência a partir de 1,0 μ g/mL da solução padrão fornecido. Esta solução foi analisada por espectrometria de massa por meio de injeção direta desse padrão. O perfil de massa da CHX pode ser observado na Figura 9.

Figura 9- Espectro de massa (TIC – íons totais) obtido para amostra padrão de CHX, por injeção direta.

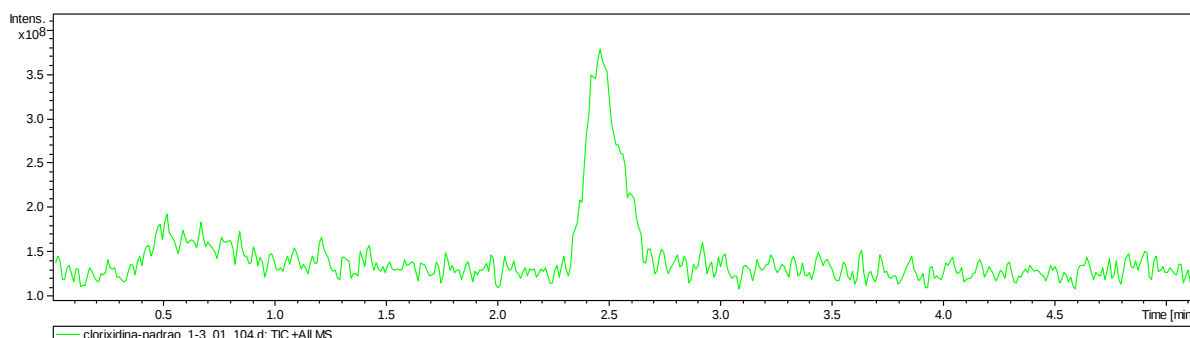


No espectro acima apresentado (Figura 9), não foi observado o pico de massa referente a CHX, a qual apresenta massa de 701,6g/mol, e sim verificou-se a presença de 2 picos, os quais correspondem aos espectros massa de 253,2 e 505,2 g/mol. Tais picos referem-se ao íon positivo da CHX, o primeiro com carga +2 e o segundo com carga +1. Os demais picos são

referentes às quebras da molécula de CHX. O volume de injeção de cada amostra foi padronizado para 1,0 μ L e o tempo de análise padronizado foi de 5 minutos.

O resultado da análise de uma amostra padrão de CHX pode ser observado na Figura 10.

Figura 10- Cromatograma de massa (TIC – íons totais) obtido para amostra padrão de CHX via LC-MS.

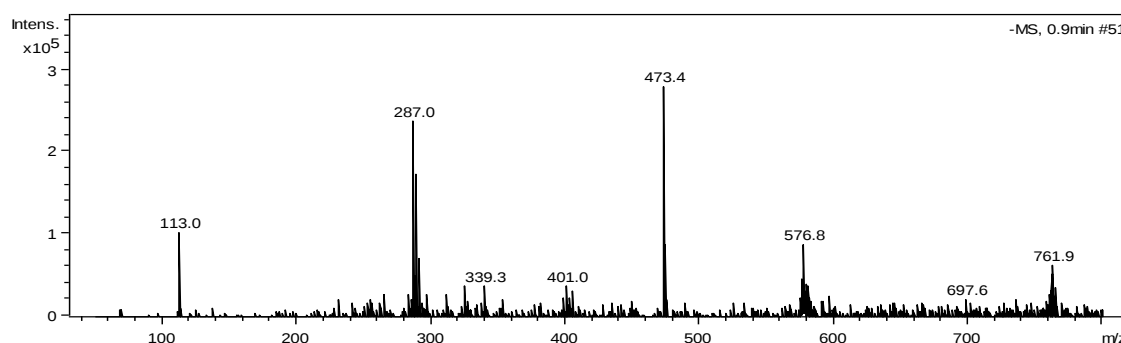


Na Figura 10, observou-se um pico com tempo de retenção de 2,5 minutos. Para certificar-se que esse pico correspondeu ao padrão de massas da CHX, extraiu-se, desse cromatograma de íons totais, cromatogramas específicos com as massas referentes à CHX.

Para verificar a presença do TCN (TB), também foi realizado um cromatograma padrão de massas desse composto por injeção. Esse estudo foi feito tanto em modo positivo como em modo negativo para obtenção do respectivo espectro de massa. O TCN em solução apresenta-se na forma de íon negativo com massa de 289,1 g/mol. No modo positivo não foi observado nenhum fragmento de massa em torno desse valor de massa. No modo negativo foi detectado o padrão de massa em torno de 289, 0 g/mol espectro de massa em modo negativo foi então obtido e usado para componentes eluídos por cromatografia líquida.

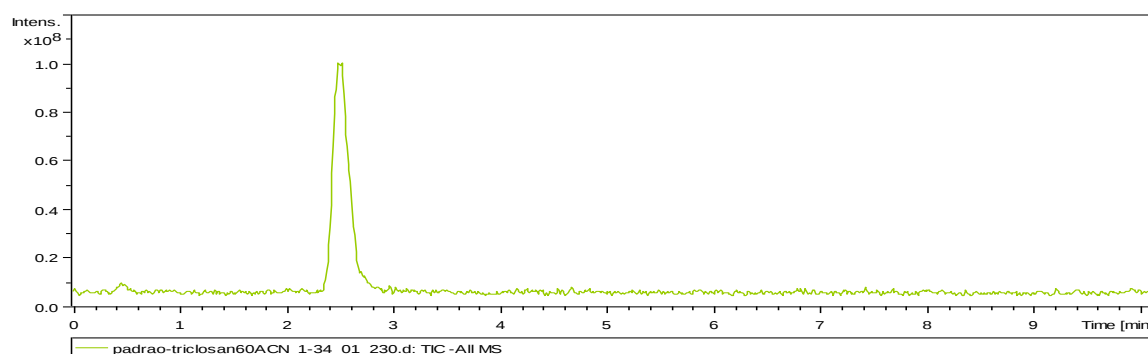
Na Figura 11 observa-se o espectro de massa obtido. A metodologia para obtenção dos cromatogramas foi estabelecida utilizando-se como referência uma solução de TCN a partir do 1,0 μ g/ml do padrão fornecido, no tempo de 10 minutos.

Figura 11- Espectro de massa (TIC – íons totais) obtido para amostra padrão de TCN (TB), por injeção direta.



O resultado da análise de uma amostra padrão de TCN pode ser observado abaixo na figura (Figura 12).

Figura 12- Cromatograma de massa (TIC – íons totais) obtido para amostra padrão de solução de TCN 1 μ g/mL via LC-MS em modo negativo. Volume de injeção de 1 μ L.



4.9 Determinação do número de estreptococos do grupo mutans na saliva.

A atividade antimicrobiana dos antissépticos bucais (controle e teste) sobre os EGM na saliva foi verificada por meio de exame microbiológico utilizando-se meio de cultura seletivo para estes- Agar Sacarose Bacitracina (SB₂₀)

Para tal finalidade os participantes expectoravam as amostras de saliva em tubos cônicos estéreis tipo Falcons de 15 mL (Figura 13). Os tubos eram mantidos em geladeira até finalizar todos os participantes.

Figura 13- Amostra de saliva colhida em Falcons e armazenada em geladeira.



As amostras foram embaladas em caixas térmicas com gelo e levadas para a Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (USP). Lá, foram inseridas pérolas de vidro nos tubos com as amostras (Figura 14), e estes foram mantidos por 5 minutos em cuba ultrassônica e depois por mais 1 minuto em vórtex para completa homogeneização da saliva (Figura 15).

Figura 14- Pérolas de vidro sendo adicionadas à saliva.

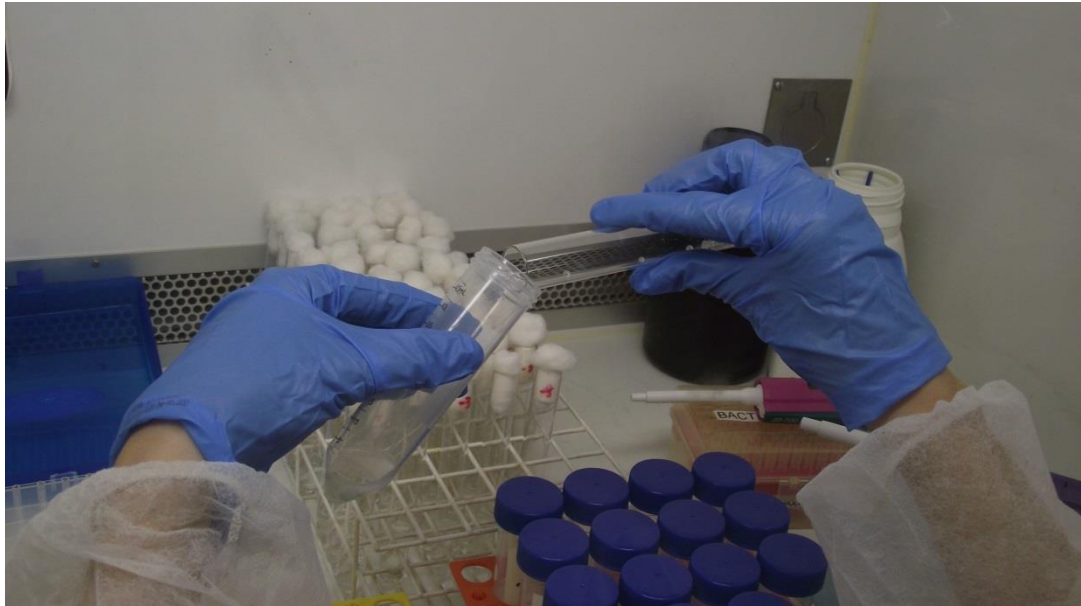
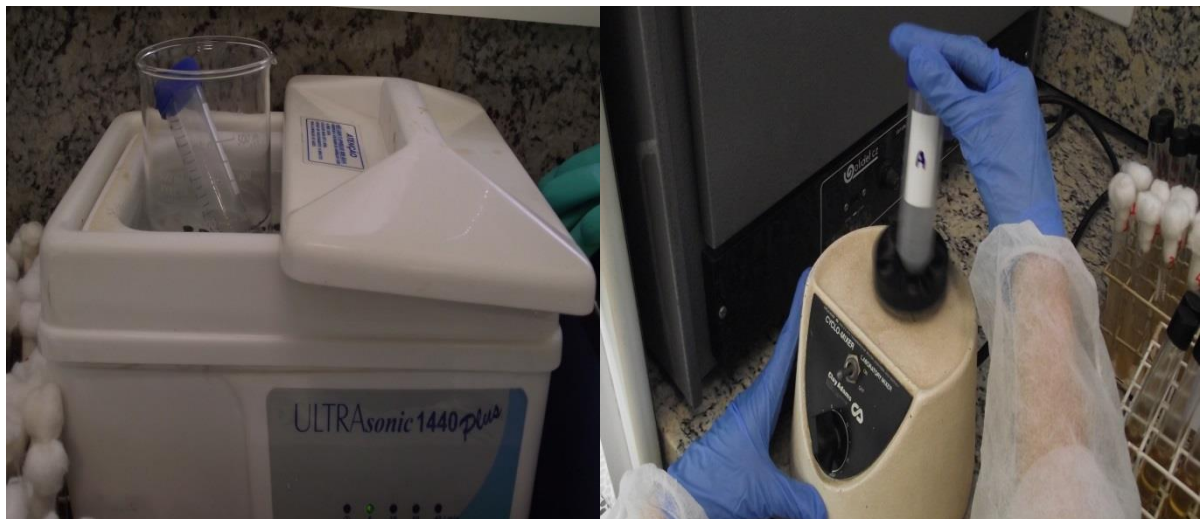


Figura 15- homogeneização das amostras em cuba ultrassônica e vórtex.



Em seguida, 0,5 mL de saliva pura foi diluído em tubo de ensaio com 4,5 mL de solução RTF, repetindo essa sequencia até 10^{-10} (Figura 16). Logo após foram plaqueadas em Agar Sacarose Bacitracina (SB20)(Figura 17). As placas foram mantidas em estufa por 48 horas e em seguida feita a contagem a olho nu por um examinador treinado.

Figura 16- Sequencia de diluição da saliva seguida.

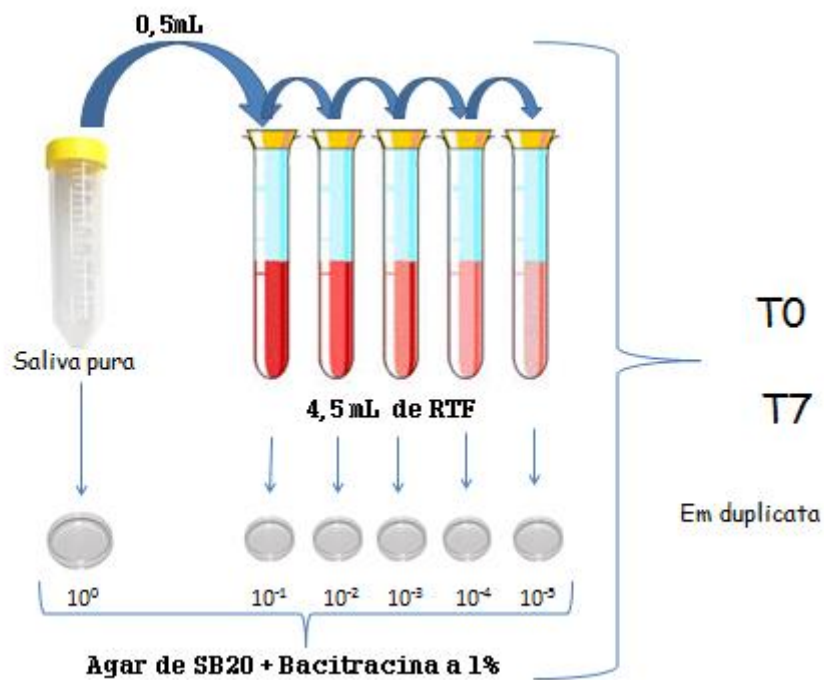


Figura 17- Plaqueamento das amostras diluídas.



Estes passos foram realizados no baseline (T0) e após 7 dias de uso dos enxaguatórios (T7). Dessa forma pode-se comparar, em função da contagem de unidades formadoras de colônias de EGM por mililitro de saliva (UFC/mL-1)⁴⁰, se houve ou não diminuição desse número, determinando a eficácia do antimicrobiano.

Resultados

5 Resultados:

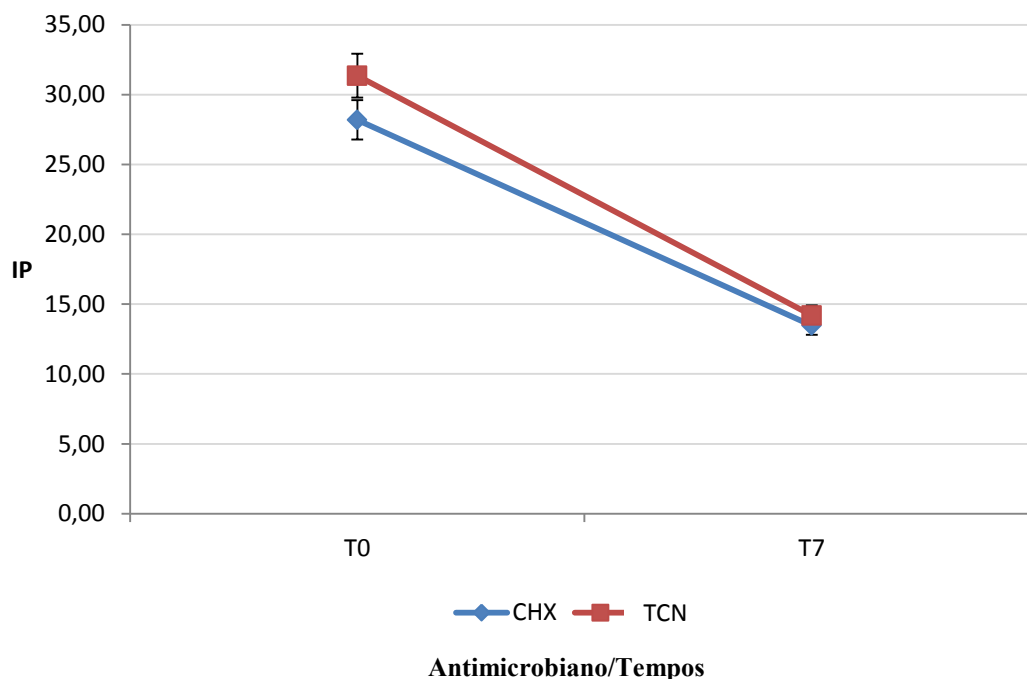
5.1 Taxa de formação de Placa Dentária (IP)

Para análise dos dados foi utilizado análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas mista com 5% de significância. A normalidade da distribuição dos dados foi analisada pelo teste de Shapiro-Wilk devido ao tamanho amostral ($n=26$). A normalidade não foi comprovada apenas para CHX no tempo T7 ($p=0,004$). O teste de Levene comprovou a homogeneidade das variâncias para todos os tempos e enxaguatórios ($p>0,05$). O teste de esfericidade de Mauchly indicou a necessidade de se utilizar o Épsilon de Greenhouse-Geisser para o cálculo da estatística F .

O IP antes da utilização dos enxaguatórios (T0) foi significativamente maior ($\mu=38,19$; $\sigma= 14,11$ com $n = 26$ para CHX e $\mu =31,35$; $\sigma = 15,06$; $n = 26$ para TCN) que o observado após o uso dos antimicrobianos ($\mu =13,47$; $\sigma = 10,22$; $n = 26$ para CHX e $\mu=14,19$; $\sigma 8,92$; $n = 26$ para TCN).

Pode-se comprovar que o uso do enxaguatório bucal antimicrobiano reduz significativamente a taxa de formação de placa dental ($p = 0,0001$). A dimensão deste efeito é muito elevada ($\eta^2_p = 0,73$) e o poder discriminatório do teste para este fator foi alto ($\pi = 1,00$). No entanto, esta redução não foi afetada pelo tipo de antimicrobiano utilizado, uma vez que não se observou diferença estatisticamente significativa para a interação tempos x antimicrobianos ($p=0,37$), a dimensão desta interação foi pequena ($\eta^2_p = 0,016$) e o poder do teste para esta relação foi reduzido ($\pi = 0,14$). Estes resultados podem ser visualizados no Gráfico 1.

Gráfico 1 – Média(μ) e desvio padrão(σ) do IP para tratamentos realizados com CHX (TA) e TCN+copolímero+flúor - (TB), nos tempos T0 e T7.



A média do IP no baseline da CHX foi de 28,2, e do TCN de 31,5, e após 7 dias de tratamento o IP da CHX foi de 13,48 e do TCN de 14,2, o que representa, percentualmente, que o uso de enxaguatório bucal com CHX (TA) reduziu a taxa de formação de placa dental em 45,09% e TCN + copolímero + flúor (TB) em 44,68%, além do que foi obtido pelo controle mecânico da placa após instrução e treinamento dos participantes (T0).

5.2 Retenção dos antimicrobianos na placa dentária e na saliva analisada por HPLC.

Através da análise de HPLC das amostras padrões de CHX e TCN, foi possível detectar sinais gráficos das substâncias, entretanto quando analisadas as amostras de saliva e placa, em HPLC, colhidas após 12 horas e 07 dias de uso do enxaguatório, não foi possível detectar sinais gráficos de ambas substâncias tanto na saliva quanto na placa (Quadro 1).

5.3 Determinação do número EGM na saliva.

Os resultados da contagem microbiana de EGM em UFC./mL⁻¹ para cada solução foram analisados estatisticamente pelo programa IBM SPSS[®] versão 19.0. Foi utilizado o teste ANOVA de medidas repetidas mista. O nível de significância estatística adotado foi $p = 0,05$.

Os dados originais foram transformados (log10) a fim de normalizar sua distribuição, e inseridos na Tabela 1.

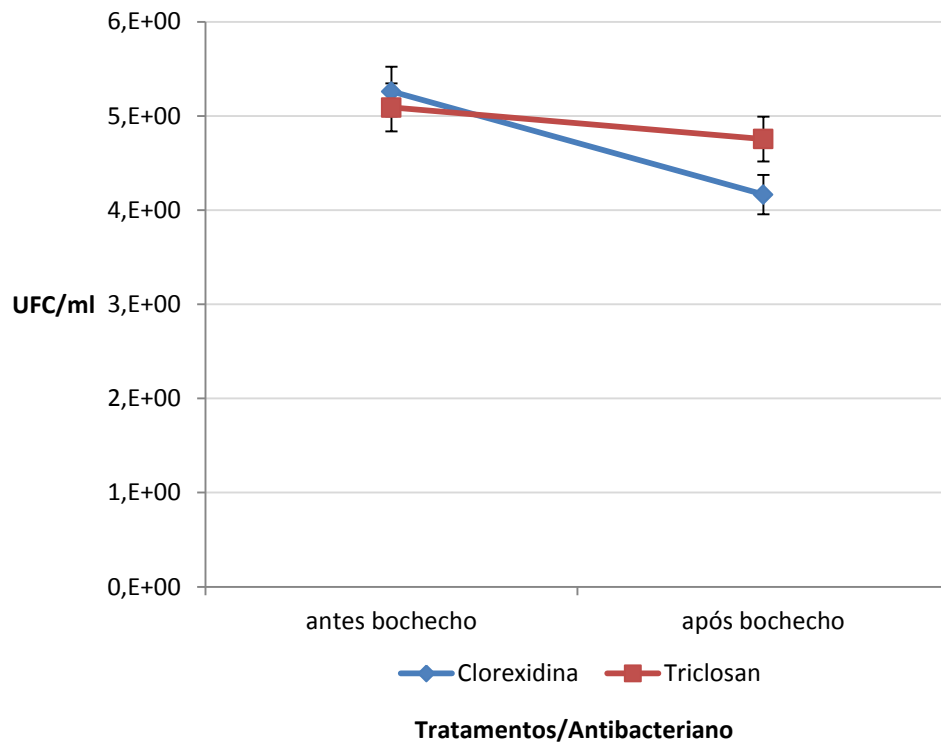
Tabela 1 – Média (%), desvio padrão (σ) de UFC/ml de EGM antes e após o uso dos antimicrobianos

Fatores	Tratamentos			% de Redução CHX	% de Redução TCN
	Baseline	CHX	TCN		
S. mutans (LogUFC/mL) (σ)	5,47 ($\pm 0,85$)	4,23 ($\pm 0,80$)	4,82 ($\pm 0,72$)	22,67	11,88
IP(%) (σ)	27,42 ($\pm 16,66$)	13,34 ($\pm 10,49$)	14,37 ($\pm 9,28$)	51,35	47,59

O uso de bochecho antimicrobiano diário (tratamento) apresenta efeito significativo e de elevada dimensão ($p < 0,001$; $\eta^2_p = 0,47$; potência (π) = 1,00) na redução da concentração de EGM na saliva.

A interação antimicrobiano/tratamento também apresentou diferença estatística, porém, com dimensão mediana ($p < 0,001$; $\eta^2_p = 0,19$; potência (π) = 0,92), demonstrando que o tipo de antimicrobiano influencia na eficácia da redução de estreptococos do grupo mutans. O padrão ouro, CHX, apresenta maior eficácia que a solução de TCN + copolímero + flúor como demonstrado no Gráfico 2.

Gráfico 2 - Redução de EGM antes e após o uso dos antimicrobianos (CHX e TCN) por 1 semana / 2 vezes ao dia



A média do número de UFC/mL de EGM no baseline foi de $1,4 \cdot 10^6$ UFC/mL, e após o uso do bochecho diário de CHX, reduziu para $5 \cdot 10^4$ UFC/mL, uma redução de 22,7% na contagem de EGM na saliva enquanto TCN + copolímero + flúor reduziu para $20 \cdot 10^4$ UFC/mL, ou seja 11,9% de redução do número de colônias de EGM, além do já obtido com o controle mecânico da placa após instrução e treinamento dos participantes.

Discussão

6 Discussão.

Neste estudo clínico randomizado, cruzado com dois tempos de tratamento, avaliamos comparativamente o efeito antiplaca (IP), taxa de retenção em saliva e em placa dentária e a ação antimicrobiana contra os EGM, de dois enxaguatórios bucais, sendo um composto por CHX 0,12% (TA) e outro de TCN 0,03% + 1% copolímero PVM/MA (Gantrez[®]) + Fluoreto de sódio 0,05% (TB), a fim de determinar seus potenciais como medida preventiva de cárie dentária em adultos jovens. Participaram deste estudo 26 voluntários (sendo 24 mulheres) com idade entre 18 e 35 anos, frequentadores da clínica odontológica da Faculdade de Odontologia de Araraquara- UNESP/SP.

No período que antecede a utilização dos enxaguatórios, os voluntários receberam profilaxia dental profissional e orientação de higiene oral, afim de uniformizar e padronizar a amostra. Após quinze dias IP e a ação antimicrobiana contra os EGM foram determinados. Após instrução de higiene oral para os voluntários, somente realizando controle mecânico da placa dentária, obteve-se um IP do grupo da CHX com $\mu=38,19$ e $\sigma=14,11$ e para o TCN teve-se $\mu=31,35$ e $\sigma=15,06$ e o número de unidade formadoras de colônias de EGM médio de $1,4 \cdot 10^6$ UFC/mL, o que demonstra que mesmo após orientação de higiene oral e profilaxia, os pacientes apresentaram em média, risco de cárie alto, de acordo com o trabalho de Wennwerholm⁵⁶ de 2013, segundo o qual $3,6 \cdot 10^6$ UFC/mL de EGM representa alto e $2,8 \cdot 10^4$ UFC/mL baixo índice de cárie.

Sócio-demograficamente todos os voluntários podem ser classificados como pertencentes a classe C, com escolaridade média, e com conhecimento, compreensão e acesso às orientações de higiene, porém, mesmo assim continuaram a apresentar alto risco de cárie após profilaxia e instruções padronizadas, pois apresentaram alto EGM, uma vez que a formação da placa bacteriana dental é o primeiro passo para a instalação da doença cárie^{35,50}

A utilização dos antimicrobianos como método complementar da escovação dentária, foi proposta por Paraskevas⁴⁶ em 2005, o qual afirma que a escovação dentária sozinha não remove totalmente a placa dentária, sendo necessária a adição de um método químico para seu total controle. Este fato foi também comprovado no presente estudo, onde observou-se uma redução significativa no IP dos voluntários sete dias após o uso dos enxaguatórios.

A redução no IP promovida pela CHX foi de 45,09% ($\mu= 13,47$ e $\sigma= 10,22$) e 44,68% foi a do TCN ($\mu= 14,19$ e $\sigma= 8,92$). Como nesse estudo, cada voluntário foi controle dele mesmo, onde todos utilizaram os dois enxaguatórios em tempos diferentes e com *washout* de 15 dias entre os períodos de tratamento, pode-se afirmar que esta significativa redução do IP basal deve-se única e exclusivamente ao efeito dos enxaguatórios bucais utilizados, e não à variações individuais de capacidade motora e motivações para realização de higiene oral, como poderia ocorrer se os antimicrobianos fossem testados em grupos independentes de voluntários.

Surpreendentemente, não houve diferença estatística significativa entre os resultados de IP após o uso da CHX e após o uso do TCN, o que contradiz Kumar et al.³¹, os quais mostraram em seu trabalho clínico que a CHX é mais efetiva que o TCN no controle da placa bacteriana, Teles³² em 2009, também demonstrou que a CHX é a mais eficaz no controle da placa. Como no presente trabalho, ambos os grupos tiveram resultados semelhantes de redução de IP, entende-se que ambos enxaguatórios foram eficientes para esse fim. Tal desempenho semelhante deve-se, provavelmente, ao fato da formulação do TCN utilizada conter em sua composição também copolímero PVM/MA (Gantrez®) e fluoreto de sódio, o que, segundo Nabi et al.^{42,43} em 1989,1996, potencializa o efeito antiplaca do enxaguatório testado, uma vez que a função do copolímero é aumentar a retenção do TCN nas células epiteliais e na saliva, aumentando consequentemente a retenção do flúor na placa⁵⁰, o qual,

por sua vez, interfere na formação da placa dentária e na agregação de bactérias na mesma^{26,35,50}. Outra hipótese está relacionada ao método utilizado para determinar o IP dos voluntários, Van Strydonck⁵⁷ 2004 e de Kumar et al.³¹ em 2013, utilizaram o método modificado de Quigley-Hein por Turesky⁵³ para determinar o IP de seus voluntários. Neste método a placa dentária é evidenciada por um corante orgânico com afinidade por bactérias, o que conclui que os autores observaram o efeito antimicrobiano e não o efeito antiplaca dos enxaguatórios. O método de O'Leary⁴⁴ por nós utilizado, evidencia com maior propriedade o efeito antiplaca dos enxaguatórios e demonstra que ambos os produtos testados apresentaram maior magnitude de efeito. Entretanto, para confirmação de tais hipóteses, mais estudos devem ser realizados.

A avaliação do efeito antimicrobiano dos agentes, neste presente trabalho, deu-se por análise microbiológica da saliva dos voluntários, o que apresentou resultados estatisticamente diferentes, uma vez que a CHX promoveu uma redução de 22,8% na contagem de EGM, enquanto que o resultado obtido após uso de TCN/PVM/MA/Flúor reduziu apenas 8,9% de EGM nos mesmos indivíduos. Assim, nossos resultados concordam com os de Bhargava, Leonard⁹ o qual descreve as propriedades do TCN como agente antimicrobiano, e mostra que a ação antimicrobiana da CHX é mais significativa do que do TCN; e de Agarwal, Nagesh³ que também demonstraram o grande poder antimicrobiano da CHX em relação aos EGM.

Diante esses dados podemos afirmar que o uso de um agente químico antimicrobiano pode ser importante na complementação da higiene bucal, pois esses irão agir em locais onde as cerdas das escovas não atingem, como as fissuras e as faces interproximais, locais normalmente mais colonizados por bactérias específicas da cárie dentária³⁵. A ação dos agentes antimicrobianos é maior nas bactérias planctônicas do que nos biofilmes, devido á maior dificuldade de penetração dos agentes antimicrobianos nesses substratos²⁴, mediante

isso alguns pesquisadores demonstram que a inclusão de copolímeros como o Gantrez® pode auxiliar nessa interação do agente químico com o biofilme^{6,21,23,39,40}. Estudos como de Jenkins et al.²⁹, Lobene et al.³⁴ e Rustogi et al.⁵¹, demonstraram que o dentifrício e enxaguatórios contendo TCN, quando adicionado copolímero PVM/MA (Gantrez®) torna-se mais eficiente na ação antimicrobiana. O copolímero contribui, também para o aumento do tempo de ação desse agente na cavidade bucal.

Furuichi²¹ 1999, também confirma esse fato. Em seu trabalho testou duas soluções de enxaguatório bucal contendo TCN/Gantrez®/NaF e uma sem o copolímero, e observou por HPLC maior quantidade de flúor nos grupos que fizeram uso das soluções com o Gantrez®, sugerindo ser ele o responsável pela maior retenção do flúor na placa dentária.

No presente trabalho não foram observados traços de permanência de CHX e TCN na placa dentária e na saliva, após 12 horas do uso dos enxaguatórios, muito embora seja senso comum que as substâncias aqui testadas, em especial a CHX, tenha uma permanência ou substantividade de 12 horas nesses meios.

A literatura que relata longos períodos de retenção de CHX e TCN utiliza outros métodos de análise, como a microscopia confocal^{13,30}, isótopos radioativos²³ e por Packard Tri-carb^{10,24} não utilizando a HPLC. Tais autores relatam longa permanência de CHX e TCN a partir do efeito antimicrobiano dessas substâncias e não da presença desses componentes na saliva ou na placa dentária.

O trabalho de Tsuchiya et al.⁵² corrobora nossos resultados e demonstra por HPLC que a ingestão de alimentos reduz ou elimina a CHX da saliva. Esses autores observaram que a CHX manteve-se presente na saliva até 8 horas após seu uso quando não houve a ingestão de comida ou bebida por até 1h e 25 depois da realização do bochecho com antimicrobiano e

quando se realizou a ingestão de alimentos antes desse tempo, foram observados sinais mais fracos dos agentes antimicrobianos no período testado.

A análise por cromatografia gasosa realizada por Kraivaphan et al.³⁰ mostrou sinais gradualmente menores de TCN/PVM/MA após 12 horas do uso. Nesse estudo porém, os voluntários fizeram somente uma escovação seguida do uso do enxaguatório, e ficaram 2 horas sem ingerir alimentos e 12 horas sem realizar outra forma de higienização. No presente trabalho, os voluntários incorporaram o uso dos enxaguatórios em sua rotina habitual de dieta e higienização bucal, a fim de avaliarmos a real contribuição dos enxaguatórios antimicrobianos em relação ao índice de cárie dos participantes.

A retenção dos antimicrobianos pode ter sido prejudicada por essa característica desse estudo, pois a utilização do último bochecho diário foi realizada por volta das 20:00 hs, o que pode ter favorecido a ingestão de alimentos posteriormente ao uso dos antimicrobianos, o que segundo Kraivaphan et al.³⁰ pode ter contribuído para a redução do tempo de retenção dos antimicrobianos para tempos menores que 12 horas. Além disso, como o uso dos mesmos foi incorporado à rotina diária, o uso de dentifrícios durante os intervalos dos enxaguatórios, pode também explicar a redução da eficácia observada para a CHX, quando comparada ao TCN.

Ao considerarmos os resultados de taxa de redução do índice de placa, retenção dos antimicrobianos na saliva e na placa dentária e ação antimicrobiana contra os estreptococcus do grupo *mutans*, de forma geral e suas possíveis influências no padrão de risco de cárie dos voluntários, podemos afirmar que a CHX mostra maior efeito antimicrobiano, mas a incorporação de ambos os antimicrobianos na rotina diária dos voluntários adultos jovens contribui significativamente para a redução do IP dos indivíduos e para a redução do risco de cárie dos mesmos.

Conclusão

7 Conclusão

A partir dos resultados obtidos, podemos concluir que:

- 1) A incorporação do uso de enxaguatórios antimicrobianos de CHX ou TCN na rotina diária de higiene oral deve ser recomendada e estimulada pois os benefícios desta prática para a redução do risco de cárie foram evidentes, em especial para a CHX em função do IP.
- 2) Os hábitos de dieta e higienização típicos da rotina diária reduzem a permanência da CHX e do TCN na saliva e na placa dentária para menos de 12 horas.

Referências

Referências

- 1 Addy M. Chlorhexidine compared with other locally delivered antimicrobials. A short review. *J Clin Periodontol*. 1986; 13(10): 957-64.
- 2 Addy M, Slayne MA, Wade WG. The formation and control of dental plaque- an overview. *J Appl Bacteriol*. 1992; 73(4): 269-78.
- 3 Agarwal P, Nagesh L. Comparative evaluation of efficacy of 0,2% Chlorhexidine, Listerine and Tulsi extract mouth rinses on salivary *Streptococcus mutans* count of high school children-RCT. *Contemp Clin Trials*. 2011; 32(6):802-8
- 4 Amornchat C, Kraivaphan P, Dhanabhumi C, Tandhachoon K, Trirattana T, Choonhareongdej S. Effect of Cha-em Thai mouthwash on salivary levels of mutans streptococci and total IgA. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2006; 37(3): 528-31.
- 5 Autio-Gold J. The role of clhorhexidine in caries prevention. *Oper Dent*. 2008; 33(6): 710-6.
- 6 Ayad F, Stewart B, Zhang YP, Proskin HM. A comparison of the efficacy of a triclosan/copolymer/sodium fluoride dentifrice, a stannous fluoride/ sodium hexametaphosphate/ zinc lactate dentifrice, and a sodium fluoride dentifrice for the control of established supragingival plaque and gingivitis: a six-week clinical study. *J Clin Dent*. 2010; 21(4): 111-6.
- 7 Balakrishnan M, Simmonds RS, Tagg JR. Dental caries is a preventable infectious disease. *Aust Dent J*. 2000; 45(4): 235-45.
- 8 Berchier CE, Slot DE, Haps S, Van der Weijden GA. The efficacy of dental floss in addition to a toothbrush on plaque and parameters of gingival inflammation: a systematic review. *Int J Dent Hyg*. 2008; 6(4): 265-79.

*De acordo com o manual da FOAr/UNESP, adaptadas das normas Vancouver. Disponível no site: <http://www.foar.unesp.br/#!/biblioteca/manual>

- 9 Bhargava HN, Leonard PA. Triclosan: applications and safety. *Am J Infect Control*. 1996; 24(3): 209-18.
- 10 Bonesvoll P, Lokken P, Rølla G, Paus PN. Retention of chlorhexidine in the human oral cavity after mouth rinses. *Arch Oral Biol*. 1974; 19(3): 209-12.
- 11 Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária em Saúde. SB Brasil 2010: Pesquisa Nacional de Saúde Bucal: resultados principais/ Brasília: Ministério da Saúde; 2012.
- 12 Brex M, Theilade J. Effect of chlorhexidine rinses on the morphology of early dental plaque formed on plastic films. *J Clin Periodontol*. 1984; 11(9): 553-64.
- 13 Corbin A, Pitts B, Parker A, Stewart PS. Antimicrobial penetration and efficacy in an *in vitro* oral biofilm model. *Antimicrob Agents and Chemother*. 2011;55(7): 3338-44.
- 14 Costa SM, Vasconcelos M, Abreu MHNG. High dental caries among adults aged 35 to 44 years: case-control study of distal and proximal factors. *Int J Environ Res Public Health*. 2013; 10(6): 2401-11.
- 15 Davies A. The mode of action of chlorhexidine. *J Periodont Res Suppl*. 1973;12: 68-75.
- 16 Davies RM, Ellwood RP, Davies GM. The effectiveness of a toothpaste containing triclosan and polyvinyl-methyl ether maleic acid copolymer in improving plaque control and gingival health: a systematic review. *J Clin Periodontol*. 2004; 31(12): 1029-33.
- 17 Degani ALG, Cass QB, Vieira PC. Cromatografia um breve ensaio. *Quim Nova*. 1998; 7: 21-5.
- 18 Ditmyer M, Dounis G, Mobley C, Schwarz E. A case-control study of determinants for high and low dental caries prevalence in Nevada youth. *BMC Oral Health*. 2010; 10(24): 1-8.

- 19 Eley BM. Antibacterial agents in the control of supragingival plaque-a review. *Br Dent J*. 1999; 186 (6): 286-96.
- 20 Furuichi Y, Birked D. Retention of fluoride/triclosan in plaque following different modes of administration. *J Clin Periodontol*. 1999; 26(1): 14-8.
- 21 Gaffar A, Afflitto J, Nabi N. Chemical agents for the control of plaque and plaque microflora: an overview. *Eur J Oral Sci*. 1997; 105(5 pt 2): 502-7.
- 22 Gilbert RJ, Williams PEO. The oral retention and antiplaque of triclosan in human volunteers. *Br J Clin Pharmacol*. 1987; 23(5): 579-83.
- 23 Gjermo P, Bonesvoll P, Rølla G. Relationship between plaque-inhibiting effect and retention of chlorhexidine in the human oral cavity. *Arch Oral Biol*. 1974; 19(11): 1031-4.
- 24 Gunsolley JC. A meta-analysis of six-month studies of antiplaque and antigingivitis agents. *J Am Dent Assoc*. 2006; 137(12): 1649-57.
- 25 Gunsolley JC. Clinical efficacy of antimicrobial mouthrinses. *J Dent*. 2010; 38 (S1): S6-10.
- 26 Jenkins GN. Recent changes in dental caries. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1985; 291(6505): 1297-8.
- 27 Jenkins S, Addy M, Newcombe R. Triclosan and sodium lauryl sulphate mouthwashes (I). Effects on salivary bacterial counts. *J Clin Periodontol*. 1991; 18(2):140-4.
- 28 Kraivaphan P, Amornchat C, Laothumthut T, Triratana T. Investigation of triclosan retention and dental plaque viability with a triclosan/ PVM/ MA copolymer mouthrinse in a Thai population. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2009; 40(4): 840-7.
- 29 Kumar S, Patel S, Tadakamadla J, Tibdewal H, Duraiswamy P, Kulkarni S. Effectiveness of a mouthrinse containing active ingredients in addition to chlorhexidine and triclosan compared with chlorhexidine and triclosan rinses on plaque, gingivitis, supragingival calculus and extrinsic staining. *Int J Dent Hyg*. 2013; 11(1): 35-40.

- 30 Liu T, Wu D. High- performance liquid chromatographic determination of triclosan and triclocarban in cosmetic products. *Int J Cosmet Sci.* 2012; 34(5): 489-94.
- 31 Lobene RR, Battista GW, Petrone DM, Volpe AR, Petrone ME. Clinical efficacy of an anticalculus fluoride dentifrice containing triclosan and copolymer: a 6- month study. *Am J Dent.* 1991; 4(2): 83-5.
- 32 Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev.* 1986; 50(4): 353-80.
- 33 Mandel ID. Chemotherapeutic agents for controlling plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol.* 1988; 15(8): 488-98.
- 34 Marinho VC. Cochrane reviews of randomized trials of fluoride therapies for preventing dental caries. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2009; 10(3): 183-91.
- 35 Marsh PD. Dental plaque as a biofilm and a microbial community-implications for health and disease. *BMC Oral Health.* 2006; 6 (S1): 1-14.
- 36 Moran J, Addy M, Newcomb R. A 4-day plaque regrowth study comparing an essential oil mouthrinse with a triclosan mouthrinse. *J Clin Periodontol.* 1997; 24(9): 636-9.
- 37 Moran J, Addy M, Newcombe RG, Marlow I. A study to assess the plaque inhibitory activity of a new triclosan mouthrinse formulation. *J Clin Periodontol.* 2000; 27(11): 806-9.
- 38 Muller HP, Barrieshi-Nusair KM, Kononen E, Yang M. Effect of triclosan/ copolymer-containing toothpaste on the association between plaque and gingival bleeding: a randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2006; 33(11): 811-8.
- 39 Nabi N, Kashuba B, Lucchesi S, Afflitto J, Furuichi Y, Gaffar A. In vitro and in vivo studies on salifluor/PVM/MA/copolymer/NaF combination as an antiplaque agent. *J Clin Periodontol.* 1996; 23(12): 1084-92.

- 40 Nabi N, Mukerjee C, Schmid R, Gaffar A. In vitro and in vivo studies on triclosan/PVM/MA copolymer/NaF combination as an anti-plaque agent. *Am J Dent.* 1989; 2(Spec No): 197-206.
- 41 O'Leary TJ. A study of periodontal examination systems. *Paradontol Acad Rev.* 1967; 1(1): 7-12.
- 42 Paraskevas S. Randomized controlled clinical trials on agents used for chemical plaque control. *Int J Dent Hyg.* 2005; 3(4): 162-78.
- 43 Petersson GH, Isberg PE, Twetman S. Carie risk assessment in school children using a reduced cariogram model without saliva tests. *BMC Oral Health.* 2010;10(5):1-6.
- 44 Petersen PE, Bourgeois D, Ogawa H, Estupinan-Day S, Ndiaye C. The global burden of oral diseases and risk to oral health. *Bull World Health Organ.* 2005; 83 (9): 661-9.
- 45 Prasanth M. Antimicrobial efficacy of different toothpastes and mouthrinses an in vitro study. *Dent Res J (Isfahan).* 2011; 8(2): 85-94.
- 46 Reisine ST, Psoter W. Socioeconomic status and selected behavioral determinants as risk factors for dental caries. *J Dent Educ.* 2001; 65(10): 1009-16.
- 47 Rolla G, L  e H, Schiot C. Retention of chlorhexidine in the human oral cavity. *Arch Oral Biol.* 1971; 16(9): 1109-16.
- 48 Rugg-Gunn A. Dental caries strategies to control this preventable disease. *Acta Med Acad.* 2013; 42(2): 117-30.
- 49 Rustogi KM, Petrone DM, Singh SM. Clinical study of a pre-brush rinse and a triclosan/copolymer mouthrinse: effect on plaque formation. *Am J Dent.* 1990; 3(Spec No): S67-9.
- 50 Sheen S, Owens J, Addy M. The effect of toothpaste on the propensity of chlorhexidine and cetyl pyridinium chloride to produce staining *in vitro*: a possible predictor of inactivation. *J Clin Periodontol.* 2001; 28(1): 46-51.

- 51 Steinberg D, Tal T, Friedman M. Sustained-release delivery systems of triclosan for treatment of *Streptococcus mutans* biofilm. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2006; 77(2): 282-6.
- 52 Teles RP, Teles FRF. Antimicrobial agents used in the control of periodontal biofilms: effective adjuncts to mechanical plaque control? *Braz Oral Res*. 2009; 23(1): 39-48.
- 53 Tsuchiya H, Miyazaki T, Ohmoto S. High-performance liquid chromatographic analysis of chlorhexidine in saliva after mouthrinsing. *Caries Res*. 1999; 33(2): 156-63.
- 54 Turesky S, Gilmore ND, Glickman I. Reduced plaque formation by the chloromethyl analogue of vitamin C. *J Periodontol*. 1970; 41(1): 41-3.
- 55 Van der Weijden GA, Hioe KP. A systematic review of the effectiveness of self-performed mechanical plaque removal in adults with gingivitis using a manual toothbrush. *J Clin Periodontol*. 2005; 32Suppl 6: 214-28.
- 56 Van Strydonck DAC, Timmerman MF, Van der Velden U, Van der Weijden GA. The anti-plaque efficacy of a chlorhexidine mouthrinse used in combination with toothbrushing with dentifrice. *J Clin Periodontol*. 2004; 31(8): 691-5.
- 57 Wennerholm K, Emilson CG. Comparison of saliva-check mutans and saliva-check IgA mutans with the cariogram for caries risk assessment. *Eur J Oral Sci*. 2013; 121(5): 389-93.
- 58 Wilson M. Susceptibility of oral bacterial biofilms to antimicrobial agents. *J Med Microbiol*. 1996; 44(2): 79-87.

Anexos

Anexo 1- Comprovante de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araraquara- UNESP.

Você está em: Pesquisador > Gerir Pesquisa > Detalhar Projeto de Pesquisa

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

Dados do Projeto de Pesquisa

Título da Pesquisa: Efeito de bochecho de Triclosan e copolímero sobre a taxa de formação de placa dental, retenção de antimicrobiano no biofilme e redução de estreptococos do grupo mutans na saliva. Estudo cruzado, duplo-cego controlado.

Pesquisador: Osmir Batista de Oliveira Junior

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 03576312.4.0000.5416

Submetido em: 28/06/2012

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

Situação: Aprovado

Localização atual do Projeto: Pesquisador Responsável



Documentos Postados do Projeto

Tipo Documento	Situação	Arquivo	Postagem
Parecer Consubstanciado do CEP	A	 PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_50754.pdf	05/07/2012 11:44:53
Interface REBEC	A	 PB_XML_INTERFACE_REBEC.xml	28/06/2012 10:54:49

Anexo 2- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)**TERMO DE ESCLARECIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Projeto de Pesquisa: Comparação do efeito de bochecho de triclosan e copolímero com a clorexidina, sobre a taxa de formação de placa dentária, retenção de antimicrobiano no placa dentária e na saliva e redução de estreptococos do grupo mutans na saliva. Estudo cruzado, duplo-cego controlado.

Pesquisador Responsável: Prof. Dr. Osmir Batista de Oliveira Júnior

Pesquisador(a) responsável pelo recrutamento: Vanessa Torraca Vaz

Eu, _____,
nacionalidade, _____, estado civil, _____,
Profissão, _____, R.G no: _____,
CIC/CPF no: _____, endereço, _____
_____.

Declaro que, entendi claramente os objetivos e a importância desta pesquisa que é analisar o efeito dos bochechos com antimicrobianos sobre os microrganismos presentes em meus dentes e saliva.

Em função disso, declaro que concordo, de livre e espontânea vontade, em colaborar como voluntário desta pesquisa, **sem nenhum ônus financeiro** para mim, para a equipe de pesquisadores ou para a Faculdade de Odontologia de Araraquara – Unesp.

Permito a divulgação dos resultados obtidos e das fotografias de documentação, para fins científicos e de ensino em artigos, revistas e palestras, **tendo garantia que minha identidade será preservada.**

Estou ciente **que poderei deixar de participar desta pesquisa a qualquer momento e por qualquer razão, sem nenhum risco ou prejuízo** para minha vida acadêmica e/ou no tratamento odontológico oferecido pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – Unesp.

Estou ciente que os únicos **riscos que terei são possível manchamento de meus dentes, alteração de paladar e gosto amargo**. Estes riscos são passageiros e receberei limpeza profissional ao final do estudo para remoção de possíveis manchas que ainda restarem. Fui informado que as soluções para bochecho que estão sendo testadas já foram registradas na ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) o que me garante segurança e tranquilidade.

Alem disso, estou ciente que **tenho toda liberdade para consultar o Comitê de Ética em Pesquisa**, para obter informação adicional ou esclarecimentos em relação a esta pesquisa pelos telefones (16)3301-6432 ou (16)3301-6434.

Caso necessite ou deseje quaisquer esclarecimentos ou atendimento odontológico em decorrência ou complementar ao tratamento realizado sei que poderei contatar o pesquisador responsável por esta pesquisa pelo telefone (16) 33016393 e (16) 92339623.

Desta forma, após ser devidamente instruído e esclarecido sobre os objetivos, riscos e benefícios que terei em participar voluntariamente desta pesquisa, concordo em participar, dato e assino este termo de consentimento livre e esclarecido.

_____, Araraquara, ____/____/2012
(NOME DO PACIENTE/RESPONSÁVEL)

Prof. Dr. Osmir Batista de Oliveira Júnior

Pesquisador Responsável

**AUTORIZO A REPRODUÇÃO DESTE TRABALHO
(DIREITOS DE PUBLICAÇÃO RESERVADOS AO AUTOR)**

Araraquara 19 de março de 2014

VANESSA TORRACA PERARO VAZ