

FERNANDA SEBBA DE SOUZA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN*
VIVO E IN VITRO DE DOIS
ANTISSÉPTICOS BUCAIS**

Trabalho Final do Mestrado Profissional,
apresentado à Universidade do Vale do
Sapucaí, para obtenção do título de Mestre
em Ciências aplicadas à Saúde.

Pouso Alegre - MG

2015

FERNANDA SEBBA DE SOUZA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN*
VIVO E IN VITRO DE DOIS
ANTISSÉPTICOS BUCAIS**

Trabalho Final do Mestrado Profissional,
apresentado à Universidade do Vale do
Sapucaí, para obtenção do título de Mestre
em Ciências aplicadas à Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Daniela Francescato Veiga

Coorientadores: Profa. Dra. Ana Beatriz Alkmim Teixeira Loyola

Prof. Dr. Carlos Américo Veiga Damasceno

Pouso Alegre - MG

2015

UNIVERSIDADE DO VALE DO SAPUCAÍ

**MESTRADO PROFISSIONAL EM
CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE**

COORDENADOR: PROF. DR. TAYLOR BRANDÃO SCHNAIDER

Linha de Atuação Científico-Tecnológica:

Padronização de procedimentos e inovações em feridas

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho

A quem tudo pertence: Deus, pela chance de aprender e evoluir através dessa vida.

*Aos meus pais, **José Sebastião e Silvia Regina**, por tudo que sou, pelo amor incondicional,
pelo exemplo de vida, de valores.*

*Ao meu irmão, **José Luiz**, pessoa de quem muito me orgulho, pela humildade, inteligência,
por todo amor, cuidado e carinho comigo.*

*Ao meu futuro marido **Rodrigo**, pelo amor, carinho, apoio e paciência nessa jornada
acadêmica e profissional. Minha admiração e meu amor por você são infinitos.*

*Ao meu “cãopanheiro” **Badhã**, por me fazer rir todos os dias e por me mostrar a mais pura
forma de amar.*

*Aos meus tios (**Lydia, Wandemberg, Diba, Virgínio e Nadja**), primos (**Lydia, Cláudia, Elisa,
Gabriela, Livia, Daniela, Virgínio, Wandemberg**), minha cunhada **Mariah**, meus avós
(**Maria, João, Farjala, Irma**).*

Agradeço as orações e o carinho. Eu amo fazer parte dessa família.

AGRADECIMENTOS

PROF^a. DR^a. DANIELA FRANCESCATO VEIGA, PROFESSORA ORIENTADORA DO MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DA UNIVERSIDADE DO VALE DO SAPUCAÍ, minha orientadora, pelo exemplo de pesquisadora, pelo incentivo à pesquisa, por assumir com tanto carinho e dedicação a minha orientação.

PROF. DR. CARLOS AMÉRICO VEIGA DAMASCENO, PROFESSOR DE MICROBIOLOGIA E IMUNOLOGIA, meu primeiro orientador, pela sabedoria incontestável em microbiologia, pelo carinho e atenção a mim dedicados.

PROF^a. DR^a. ANA BEATRIZ ALKMIM TEIXEIRA LOYOLA, PROFESSORA ORIENTADORA DO MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DA UNIVERSIDADE DO VALE DO SAPUCAÍ, pela coorientação, pelos ensinamentos na microbiologia, pela assistência e dedicação durante esta trajetória.

PROF^a. DR^a. LYDIA MASAKO FERREIRA, COORDENADORA DA MEDICINA III DA CAPES, pelos ensinamentos científicos e acadêmicos.

PROF. DR. ANDY PETROIANU, pelos ensinamentos no começo do curso.

Aos **PROFESSORES** DO MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DA UNIVERSIDADE DO VALE DO SAPUCAÍ, pelos ensinamentos e convivência.

PROF^a. DR^a. DIBA MARIA SEBBA TOSTA DE SOUZA, PROFESSORA ORIENTADORA DO MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DA UNIVERSIDADE DO VALE DO SAPUCAÍ, pelo incentivo nessa trajetória e por todo amor durante toda minha vida.

PROF^a. DR^a. LYDIA SEBBA SOUZA MARIOSA, pela amizade, carinho e atenção nas correções desse trabalho.

Aos **COLEGAS DE PÓS-GRADUAÇÃO**, pelo companheirismo e motivação nessa caminhada.

Aos **PROFs. DRs. YARA JULIANO e NEIL FERREIRA NOVO**, PROFESSORES TITULARES DE BIOESTATÍSTICA DA UNIVERSIDADE DO VALE DO SAPUCAÍ, pelos ensinamentos na disciplina e lições de vida.

Ao **SANDRO JOSÉ FERREIRA DOS PASSOS**, TÉCNICO DE ESTATÍSTICA da UNIVERSIDADE DO VALE DO SAPUCAÍ, pela disponibilidade e atenção.

Ao **LUIZ FRANSCILEY DE PAIVA**, BIÓLOGO E TÉCNICO DO LABORATÓRIO DE PESQUISAS BÁSICAS DA FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVÁS, pelo auxílio, ensinamento e ótima convivência no laboratório.

À **RAYSSA DE ANDRADE SILVA**, DISCENTE DO CURSO DE MEDICINA E DO PROGRAMA DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA FAPEMIG- PROBIC-UNIVÁS, pela colaboração na pesquisa *in vitro*.

À **LUCILENE MARQUES**, BIBLIOTECÁRIA da Universidade do Vale do Sapucaí, pelo carinho e atenção.

Aos **ALUNOS DE GRADUAÇÃO** que participaram voluntariamente da pesquisa.

A **UNIVERSIDADE DO VALE DO SAPUCAÍ** e a **COORDENAÇÃO DO CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE**, na pessoa do **PROF. DR. TAYLOR BRANDÃO SCHNAIDER**.

Ao **PROF. DR. CARLOS EDUARDO FRANCCI**, PROFESSOR DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, DEPARTAMENTO DE BIOMATERIAIS E BIOLOGIA ORAL, pelo apoio, incentivo e inspiração na Odontologia.

A **ANDRÉA, PRISCILA, TEREZINHA e LETÍCIA**, FUNCIONÁRIAS DO INSTITUTO DE GASTROENTEROLOGIA E ODONTOLOGIA ESPECIALIZADO, pelo carinho, incentivo e apoio no dia a dia.

“O maior inimigo do conhecimento não é a ignorância, mas a ilusão do conhecimento.”

Stephen Hawking

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	i
AGRADECIMENTOS.....	ii
LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. CONTEXTO.....	1
2. OBJETIVOS.....	6
3. MÉTODOS.....	7
4. RESULTADOS.....	15
5. APLICABILIDADE.....	34
6. CONCLUSÕES.....	39
7. IMPACTO SOCIAL.....	40
8. REFERÊNCIAS.....	41
NORMAS ADOTADAS.....	51
APÊNDICE.....	52
ANEXOS.....	54
FONTES CONSULTADAS.....	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Imagem ilustrativa da coleta de dados.....	11
Figura 2. Diagrama CONSORT – Fluxo de pacientes no estudo.....	15
Figura 3 - Valores medianos de Unidades Formadoras de Colônias em ágar <i>Mitis Salivarius</i> – análise de variância de Friedman.....	19
Figura 4 - Valores medianos de Unidades Formadoras de Colônias em ágar eosina azul de metileno – análise de variância de Friedman.....	19
Figura 5 - Valores medianos de Unidades Formadoras de Colônias em ágar manitol hipertônico – análise de variância de Friedman.....	20
Figura 6 - Valores medianos de Unidades Formadoras de Colônias em ágar <i>Mitis Salivarius</i> em 30 minutos – análise de variância de kruskal-Wallis.....	22
Figura 7 - Valores medianos de Unidades Formadoras de Colônias em ágar Manitol hipertônico em 90 minutos – análise de variância de kruskal-Wallis.....	23
Figura 8 - Valores medianos de Unidades Formadoras de Colônias em ágar <i>Mitis Salivarius</i> em 180 minutos – análise de variância de kruskal-Wallis.....	23
Figura 9 - Valores medianos de Unidades Formadoras de Colônias em ágar eosina azul de metileno em 180 minutos – análise de variância de kruskal-Wallis.....	24
Figura 10 - Placa de teste de <i>S. aureus</i> com clorexidina.....	25
Figura 11 - Placa de teste de <i>S. aureus</i> com clorexidina e polihexametileno, respectivamente.....	25
Figura 12 - Placa de teste de <i>S. aureus</i> com polihexametileno.....	25
Figura 13 - Placa de teste de <i>E.coli</i> com clorexidina.....	26
Figura 14 - Placa de teste de <i>E.coli</i> com clorexidina e polihexametileno, respectivamente...26	
Figura 15 - Placa de teste de <i>E.coli</i> com polihexametileno.....	27
Figura 16 - Placa de teste de <i>P. aeruginosa</i> com clorexidina.....	27
Figura 17 - Placa de teste de <i>P. aeruginosa</i> com clorexidina e polihexametileno, respectivamente.....	28
Figura 18 - Placa de teste de <i>P. aeruginosa</i> com polihexametileno.....	28
Figura 19 - Placa de teste de <i>C. albicans</i> em meio ágar <i>Sabouraud</i> com clorexidina.....	29

Figura 20 - Placa de teste de <i>C. albicans</i> em meio ágar <i>Sabouraud</i> com clorexidina e polihexametileno, respectivamente.....	29
Figura 21 - Placa de teste de <i>C. albicans</i> em meio ágar <i>Sabouraud</i> com polihexametileno...30	30
Figura 22 - Placa de teste de <i>C. albicans</i> em meio ágar <i>Mueller- Hinton</i> com clorexidina....30	30
Figura 23 - Placa de teste de <i>C. albicans</i> em meio ágar <i>Mueller- Hinton</i> com clorexidina e polihexametileno, respectivamente.....	30
Figura 24 - Placa de teste de <i>C. albicans</i> em meio ágar <i>Mueller- Hinton</i> com polihexametileno.....	31
Figura 25 - Placa de teste de <i>C. parapsilosis</i> em meio ágar <i>Sabouraud</i> com clorexidina.....	32
Figura 26 - Placa de teste de <i>C. parapsilosis</i> em meio ágar <i>Sabouraud</i> com clorexidina e polihexametileno, respectivamente.....	32
Figura 27 - Placa de teste de <i>C. parapsilosis</i> em meio ágar <i>Sabouraud</i> com polihexametileno.....	32
Figura 28 - Placa de teste de <i>C. parapsilosis</i> em meio ágar <i>Mueller- Hinton</i> com clorexidina.....	33
Figura 29 - Placa de teste de <i>C. parapsilosis</i> em meio ágar <i>Mueller- Hinton</i> com clorexidina e polihexametileno, respectivamente.....	33
Figura 30 - Placa de teste de <i>C. parapsilosis</i> em meio ágar <i>Mueller- Hinton</i> com polihexametileno.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Unidades formadoras de colônias contadas no grupo Controle (Análise de variância de Friedman).....	16
Tabela 2. Unidades formadoras de colônias contadas no grupo Clorexidina (Análise de variância de Friedman).....	17
Tabela 3. Unidades formadoras de colônias contadas no grupo Polihexametileno (Análise de variância de Friedman).....	18
Tabela 4. Valores medianos do número de UFC nos três grupos (Controle, Clorexidina, Polihexametileno) no momento inicial , para cada meio de cultura e comparação intergrupos (Teste de Kruskal-Wallis).....	20
Tabela 5. Valores medianos dos números de UFC nos três grupos (Controle, Clorexidina, Polihexametileno) após 30 minutos , para cada meio de cultura e comparação intergrupos (Teste de Kruskal-Wallis).....	21
Tabela 6. Valores medianos dos números de UFC nos três grupos (Controle, Clorexidina, Polihexametileno) após 90 minutos , para cada meio de cultura, e comparação intergrupos (Teste de Kruskal-Wallis).....	21
Tabela 7. Valores medianos dos números de UFC nos três grupos (Controle, Clorexidina, Polihexametileno) após 180 minutos , para cada meio de cultura, e comparação intergrupos (Teste de Kruskal-Wallis).....	22
Tabela 8. Halos de inibição de crescimento de <i>Staphylococcus aureus</i>	24
Tabela 9. Halos de inibição de crescimento de <i>Escherichia Coli</i>	26
Tabela 10. Halos de inibição de crescimento de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27
Tabela 11. Halos de inibição de crescimento de <i>Candida albicans</i>	28
Tabela 12. Halos de inibição de crescimento de <i>Candida parapsilosis</i>	31

LISTA DE ABREVIATURAS

µl	Microlitro
AAOS	<i>American Academy Of Orthopedic Surgeons</i>
ADA	<i>American Dental Association</i>
ADS	Sistema Anti-Descoloração
AHA	<i>American Heart Association</i>
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CHX	Clorexidina
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
cm	Centímetro
EMB	Azul de Metileno Eosina
FDA	Food and Drug Administration
HM	Manitol Hipertônico
min	minuto
ml	Mililitro
mm	Milímetro
MST	Mitis Salivarius com Telurito
NaCl	Cloreto de Sódio
° C	Grau Celsius
PAV	Pneumonia associada à ventilação mecânica
PHMB	Polihexametileno
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UNIVÁS	Universidade do Vale do Sapucaí
UTI	Unidade de Terapia Intensiva

RESUMO

Introdução: O uso de antissépticos no controle químico da microbiota da cavidade oral, como um adjuvante para a higiene oral mecânica, pode reduzir riscos de doenças orais.

Objetivo: Comparar *in vivo* e *in vitro* a atividade antimicrobiana dos antissépticos bucais clorexidina e polihexametileno.

Método: Ensaio clínico, aleatorizado e controlado. Foram avaliados 30 voluntários saudáveis, alocados para os grupos Controle (GC, n=10), que usaram solução de cloreto de sódio 0,9% estéril, Clorexidina (GCL, n=10), usaram clorexidina 0,12% e Polihexametileno (GPH, n=10), polihexametileno 0,07%. Os voluntários bochecharam 10ml da respectiva solução, durante um minuto. Coletou-se a saliva para culturas quantitativas em diferentes meios de cultura, antes do uso dos antissépticos e após 30, 90 e 180 minutos. Para o teste *in vitro* os antissépticos foram analisados frente a diferentes micro-organismos, por meio do teste de difusão em ágar.

Resultados: Na comparação intra-grupos, observou-se menor crescimento após 30 minutos no GCL ($p=0,0018$; $p=0,0070$ e $p=0,015$ para os meios ágar MST, EMB e HM, respectivamente). GPH teve diminuição significativa após 30 minutos apenas para o meio MST. Na comparação inter-grupos, após 30 min, houve menor crescimento no meio MST no GPH ($p=0,031$) e no meio HM no GCL ($p=0,0077$); após 90 minutos no GCL no meio HM ($p=0,0458$); e após 180 minutos no GCL no meio EMB ($p=0,0337$). No teste *in vitro*, Clorexidina causou maior inibição dos micro-organismos testados.

Conclusão: A maior ação dos dois antissépticos se dá em 30 minutos. A clorexidina tem um espectro de ação mais amplo do que o polihexametileno.

Palavras-chave: Antisséptico Bucal; Clorexidina; Cirurgia Bucal; Prevenção de Doenças; Infecção.

ABSTRACT

Introduction: The use of antiseptics on chemical control of the flora of the oral cavity as an adjunct to mechanical oral hygiene can reduce the risk of oral diseases. **Objective:** To compare in vivo and in vitro antimicrobial activity of chlorhexidine mouthwash and polyhexamethylene. **Method:** Clinical trial, randomized and controlled. A total of 30 healthy volunteers allocated to groups Control group (n = 10), used sodium chloride solution sterile 0.9%, chlorhexidine (GCL, n = 10), used 0.12% chlorhexidine and polyhexamethylene (GPH, n = 10), polyhexamethylene 0.07%. Volunteers mouthwash 10ml of respective solution for one minute. Saliva was collected for quantitative-cultures in different culture media, before use of antiseptic and after 30, 90 and 180 minutes. For the in vitro test antiseptics were analyzed against different microorganisms, using the agar diffusion test. **Results:** In the intra-group comparison, there was less growth after 30 minutes in the GCL ($p = 0.0018$; $p = 0.0070$ and 0.015 for MST agar, EMB and HM, respectively). GPH had significant decrease after 30 minutes only to the MST. In comparison between groups, after 30 min, there was less growth on MST in GPH ($p = 0.031$) and HM through the GCL ($p = 0.0077$); after 90 minutes in the GCL MS ($p = 0.0458$); and after 180 minutes in the GCL in the EMB ($p = 0.0337$). In in vitro tests, Chlorhexidine caused greater inhibition of the tested microorganisms. **Conclusion:** Most of the two antiseptic action takes place in 30 minutes. Chlorhexidine has a broader spectrum of action than polyhexamethylene.

Key words: Mouthwashes; Chlorhexidine; Surgery Oral; Disease Prevention; Infection.

1. CONTEXTO

A microbiota da cavidade oral é colonizada por cerca de 400 a 500 diferentes tipos de micro-organismos, distribuídos no epitélio bucal, dorso da língua, superfície dental e epitélio do sulco gengival. Entre os micro-organismos podem ser encontrados aeróbios, anaeróbios, facultativos e microaerofílicos. A presença desses micro-organismos em toda a cavidade oral é normal e essencial para o desenvolvimento da fisiologia oral. A microflora residente contribui para a saúde do hospedeiro, por prevenir micro-organismos potencialmente patogênicos de se instalarem na boca e por regular a resposta inflamatória do hospedeiro às bactérias comensais oral (MARSH, 2010). Algumas destas bactérias implicam em doenças orais, como cárie, periodontite, estomatite, periimplantite e alveolite. Além disso, as espécies bacterianas orais têm mostrado relação com várias doenças sistêmicas, tais como endocardite bacteriana, pneumonia por aspiração e doenças cardiovasculares. Surpreendentemente, pouco se sabe sobre a microflora da cavidade oral saudável (AAS *et al.*, 2005; DEWHIRST *et al.*, 2010; MARSH, 2010).

As campanhas de saúde bucal trouxeram uma melhoria significativa na higiene bucal da população em geral. Apesar disso, a percentagem do edentulismo total em adultos brasileiros com mais de 65 anos de idade é ainda muito alta (VARONI *et al.*, 2012). Medidas preventivas da cárie, uma boa higiene oral, dieta não cariogênica e regular suplementação de flúor são frequentemente insuficientes na prevenção da ocorrência de novas lesões de cárie em pacientes com atividade elevada de cárie. Em pacientes que fazem uso de aparelho ortodôntico fixo, há um acúmulo maior de placa bacteriana nos locais adjacentes aos *brackets*, com desmineralização do esmalte e aumento do número de lesões cariosas. Os esforços preventivos nesses grupos de risco têm sido focados na supressão direta da microflora cariogênica por substâncias químicas como complementos para otimizar a higiene oral (FARD *et al.*, 2011).

O biofilme (placa bacteriana) implica no estabelecimento de doenças na cavidade oral, pois é uma estrutura complexa, densa, composta por micro-organismos organizados envolvidos numa matriz rica em polissacarídeos extracelulares bacterianos e glicoproteínas salivares, firmemente aderida aos dentes, cálculos e outras superfícies da cavidade bucal. Na maioria das vezes a placa se desenvolve sobre a película adquirida, que é um biofilme derivado da saliva que reveste toda a cavidade bucal. O acúmulo de bactérias da microbiota bucal sobre a superfície dos dentes é fator determinante para que ocorram doenças na cavidade oral (FREIRES *et al.*, 2015). O controle químico do biofilme, como um adjuvante

para a higiene oral mecânica, é plenamente justificado pela sua simplicidade e eficácia comprovada por estudos baseados em evidências clínicas (ELKERBOUT *et al.*, 2015).

Substâncias antissépticas são usadas em várias situações clínicas com propósito tanto profilático como terapêutico.

A prática de enxaguar a boca é usada por humanos há mais de 2000 anos, sendo que a mesma foi atribuída pela primeira vez aos chineses (WEINBERGER, 1948). Em 1950, os compostos catiônicos biguanídicos (incluindo o polihexametileno e a clorexidina) foram descobertos na Inglaterra e reconhecidos como antissépticos tópicos e desinfetantes (DAVIES *et al.*, 1954). Estes fármacos seguiram então por vias comerciais distintas, com o polihexametileno sendo mais utilizado na desinfecção de piscinas, lentes de contato, cicatrização de feridas e, só a partir de 1990, na descontaminação oral. A clorexidina, ao contrário, já vinha sendo testada e empregada na promoção da saúde gengival há 40 anos (LOE *et al.*, 1976). O uso de enxaguatórios bucais para prevenir e controlar as doenças orais tem sido recomendado durante as últimas décadas e vários parâmetros distintos foram empregados para investigar o efeito dessas substâncias (TANZER *et al.*, 1977; LORENZ *et al.*, 2009^{a,b}).

Desde os primeiros resultados relatados por SCHIOTT *et al.*, em 1970, numerosos estudos avaliaram a ação da clorexidina na flora salivar. Porém, seu uso prolongado mostrou quadros de pigmentação dos dentes, descamação reversível da mucosa, alteração do paladar e aumento dos depósitos calcificados supragengivais. Estudos evidenciam a diminuição da eficácia da clorexidina no biofilme supra gengival formado, o que reforça a necessidade de uma remoção prévia da placa à sua utilização para potencializar seu efeito preventivo na formação da placa e gengivite, bem como diminuir seus efeitos adversos de pigmentação e formação de cálculo (ZANATA *et al.*, 2007; GARCIA, 2008; ADDY, 2008; TELES e TELES, 2009; RAMAGE *et al.*, 2010; KRAYER *et al.*, 2010; LESZCZYNSKA *et al.*, 2011; VAN STRYDONCK *et al.*, 2012; HERRERA, 2013; OSSO e KANANI, 2013). Somado a isso, a eficácia de qualquer bochecho antisséptico não depende apenas das suas propriedades antimicrobianas demonstradas *in vitro*, mas também da sua capacidade de penetrar no biofilme organizado sobre os dentes (GERA, 2008).

O uso de antissépticos no pré e pós-operatório mostrou reduzir riscos de infecção no sítio cirúrgico nas extrações dentárias e manter o processo de osseointegração a longo prazo nas cirurgias de implante dental. Estes dados são relevantes, já que a incidência de complicações (como osteíte alveolar) em remoção de terceiros molares retidos varia de 20 a 30% (BLUM, 2002; NOROOZI e PHILBERT, 2009; MÍNGUEZ-SERRA *et al.* 2009; CARDOSO *et al.*, 2010). Além da chance de insucesso do implante e das complicações após

extrações dentárias, o conhecimento científico atual oferece claras evidências da influência de procedimentos que manipulem os tecidos orais no desenvolvimento de bacteremia e conseqüentemente no risco de endocardite infecciosa (PEDRAZZI *et al.*, 2014). A utilização de antibióticos sistêmicos é o método tradicionalmente recomendado para o controle de bacteremia de origem oral, entretanto, alguns estudos recentes sugeriram a prevenção por meio da utilização de antissépticos bucais como método adjunto importante (TUNA *et al.*, 2012; SHEIK *et al.*, 2013).

O uso de antissépticos orais também pode ser relevante em outros contextos, como em pacientes intubados, contribuindo na prevenção da pneumonia associada à ventilação mecânica, a incidência de outras infecções, menor tempo de internação e menor mortalidade (CHAN *et al.*, 2007; LOKKEN *et al.*, 2010; LAM *et al.*, 2011, 2012^{a,b}; SHI *et al.*, 2013; PRICE *et al.*, 2014; NICOLOSI *et al.*, 2014; KLOMPAS *et al.*, 2014). Além disso, os antissépticos auxiliam no controle do número de micro-organismos nas superfícies protéticas, evitando a ocorrência de lesões locais, tais como estomatite protética e na cavidade oral edêntula, considerada também um reservatório microbiano. Usuários de próteses tendem a ser idosos, têm maior dificuldade no controle mecânico do biofilme e, conseqüentemente, maior risco de desenvolver doenças na cavidade oral (ULUDAMAR *et al.*, 2011; CORTELLI *et al.*, 2014).

Antissépticos à base de clorexidina têm sido utilizados em odontologia há muitos anos como padrão-ouro de controle químico da placa bacteriana. No entanto, o composto tem efeitos colaterais indesejáveis, que são muitas vezes ignorados por causa de benefício terapêutico antimicrobiano (CASTILHO *et al.*, 2013). É um antisséptico usado como alternativo aos procedimentos mecânicos de higiene, particularmente nos casos em que os pacientes estão impossibilitados de fazer um controle efetivo da placa dental, tais como em pacientes internados ou com desordem física/mental. Também é usado como uma opção terapêutica complementar nas doenças periodontais, no pré e pós-operatório de cirurgias de extração de terceiros molares e cirurgias de implante dental, em pacientes que fazem uso de prótese parcial removível ou prótese total, aparelhos ortodônticos, e na redução na incidência de cárie dental (GIL-MONTOYA *et al.*, 2006; RETHMAN *et al.*, 2011; FARD *et al.*, 2011; CORTELLI *et al.*, 2014). BARNETT (2003) demonstrou que a clorexidina reduziu o biofilme em aproximadamente 60% e a gengivite severa em 50% a 80% dos casos. A presença ou não de álcool na composição da clorexidina não interferiu na redução da placa e na inflamação gengival (TODKAR *et al.*, 2012), e nenhuma associação foi encontrada entre o uso de antisséptico bucal que contém álcool e o risco de câncer bucal (GANDINI *et al.*, 2012; LACHENMEIER, 2012).

A clorexidina é uma bisguanidina dicatiônica monomérica (nome químico: 1,1-bis hexametileno, 5-p-clorofenil biguanida, di-D-Gluconato), com amplo espectro bacteriano, ativa contra bactérias gram- positivas, gram-negativas, fungos e leveduras. Seu efeito ocorre pelo aumento da permeabilidade e lise da parede celular bacteriana, apresentando substantividade de até 12 horas. Pode ser utilizada, profilática e/ou terapeuticamente, em concentrações de 0,12%, 0,2% e 2%, sendo a clorexidina a 0,12% a mais indicada, devido à associação da eficácia contra os micro-organismos e a diminuição dos efeitos adversos, quando comparada com soluções mais concentradas (LIM e KAM, 2008; GARCIA-CABALLERO *et al.*, 2009; COUSIDO *et al.*, 2010; NAJAFI *et al.*, 2012; RATH e SINGH, 2013; ENNIBI *et al.*, 2013; CHARONE *et al.*, 2014).

Substantividade é definida como aderência prolongada do antisséptico às faces dos dentes e mucosas e liberação lenta da dose efetiva que garanta a atividade antimicrobiana. Vários autores demonstraram que a clorexidina tem, *in vivo*, efeito antimicrobiano e maior substantividade do que outros antissépticos utilizados na cavidade oral (COUSIDO *et al.*, 2010).

Há algumas décadas, a determinação da contagem bacteriana na saliva tem sido um teste aceito pela comunidade científica para investigar o efeito antibacteriano *in vivo* da clorexidina e é considerada como sendo preditiva da sua substantividade e da sua atividade anti-placa (GARCIA-CABALLERO *et al.*, 2009; TOMAS *et al.*, 2010; NAJAFI *et al.*, 2012; RATH e SINGH, 2013).

O polihexametileno é uma bisguanidina dicatiônica polimérica com amplo espectro bacteriano diante de bactérias gram positivas e gram negativas, e tem sido usado há anos na medicina como um agente antisséptico. O polihexametileno é um análogo estrutural da clorexidina, com a vantagem de não ter registros na literatura até o momento de casos de pigmentação nos dentes e restaurações após o bochecho com esta substância e ter o custo reduzido quando comparado à clorexidina. Alguns autores ressaltaram o polihexametileno como antisséptico de escolha, por ter um espectro antibacteriano semelhante à clorexidina, mas estar associado a menos efeitos adversos, menor toxicidade e menor frequência de reação alérgica (ROHRER *et al.*, 2010; KOBURGER *et al.*, 2010; AFENNICH *et al.*, 2011). Existem evidências que a efetividade do polihexametileno é semelhante à da clorexidina na ação sobre cepas orais, outras nem tanto, porém ambos compartilham da vantagem microbiológica de lise celular e inexistência de resistência, se usados em dosagens adequadas, em meio líquido, ionizado e com acesso direto aos biofilmes (ROSIN *et al.*, 2001; ROSIN *et al.*, 2002; NASCIMENTO *et al.*, 2008; KOCAK *et al.*, 2009; ROHRER *et al.*, 2010).

Desta forma, este estudo justifica-se pela importância de avaliar a efetividade do polihexametileno em relação à clorexidina, visto que o primeiro tem um custo menor, é uma realidade em outros países e seu uso poderia contribuir para a padronização de protocolos de antissepsia da cavidade oral como meio alternativo e economicamente viável para complementar a remoção mecânica, facilitando o acesso das populações de baixa renda.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Primário

Comparar, *in vivo*, a atividade antimicrobiana dos antissépticos bucais clorexidina e polihexametileno na cavidade oral.

2.2. Objetivo Secundário

Verificar a suscetibilidade antimicrobiana à clorexidina e polihexametileno, *in vitro*.

3. MÉTODOS

3.1 Estudo *in vivo*

3.1.1 Delineamento do estudo

Foi realizado um ensaio clínico, controlado e aleatorizado, com voluntários saudáveis, na Universidade do Vale do Sapucaí.

Tratou-se de um estudo de efetividade, pois avaliou o efeito das substâncias em condições “reais” da população como um todo, ao contrário do que é feito em estudos de eficácia, em que os pacientes envolvidos são rigorosamente controlados (MARLEY, 2000).

O protocolo do estudo foi registrado no ClinicalTrials.gov: NCT02375178 (Anexo 1).

3.1.2 Aspectos éticos

Na condução deste projeto foram observadas e seguidas as determinações da Resolução 466/12, do Conselho Nacional de Saúde, que dispõe sobre diretrizes e normas que regulamentam a pesquisa envolvendo seres humanos.

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da UNIVÁS, parecer número 330.958, em 08/07/2013 (Anexo 2).

3.1.3 Cálculo amostral

Para o cálculo do tamanho da casuística foram utilizados dados do estudo de COUSIDO *et al.* (2010), e foi utilizado o teste *t* de *Student*, bicaudal. Considerando um desvio padrão de 15% de viabilidade bacteriana, e significativa uma diferença de 20 pontos percentuais, o número calculado de pacientes, por grupo, foi de 10, com nível de significância de 5% e poder do teste de 85%.

3.1.4 Critérios de elegibilidade

Critérios de Inclusão: voluntários sadios com idade entre 18 a 30 anos, de ambos os sexos.

Critérios de não inclusão: voluntários com hipersensibilidade ou resposta alérgica a algum componente da fórmula dos antissépticos, gestantes, lactantes, portadores de doenças sistêmicas, tabagismo, tratamento quimioterápico e/ou radioterápico, transplantes, utilização de antibióticos nos últimos 30 dias, imunossuppressores, imunoestimulantes, histórico de doenças orais que pudessem interferir no uso dos antissépticos testados, histórico de doença periodontal, cárie não tratada, portadores de prótese dentária, aparelho ortodôntico, drogas que influenciassem na salivagem e voluntários que se recusassem a participar da pesquisa, não assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE, apêndice 1).

Critérios de exclusão: voluntários que ingerissem alimentos ou bebidas de qualquer tipo durante o período da coleta de dados, ou que retirassem seu consentimento em qualquer momento da pesquisa.

3.1.5 Alocação

Os voluntários foram recrutados entre os alunos de graduação dos cursos de Medicina e Psicologia da UNIVÁS, Pouso Alegre, MG. As coletas de amostras foram realizadas na própria universidade, no período da manhã, durante os horários de aula.

Para alocação dos voluntários nos grupos foi gerada sequência aleatória pelo *software* Bioestat 5.4 (Instituto Mamirauá, Brasil) e o sigilo de alocação foi garantido por envelopes opacos selados abertos imediatamente antes da coleta.

Os voluntários foram aleatoriamente alocados para os grupos:

- Grupo Controle (GC, n=10): realizaram bochechos com solução de cloreto de sódio 0,9% estéril;
- Grupo Clorexidina (GCL, n=10): realizaram bochechos com digluconato de clorexidina 0,12% (Periogard[®], Colgate-Palmolive Company, São Paulo, Brasil);
- Grupo Polihexametileno (GPH, n=10): realizaram bochechos com cloridrato de polihexametileno 0,07% (Perio Premium[®] - Sanifill Hipermercado, São Paulo, Brasil).

3.1.6 Procedimentos para coleta de dados

Após a assinatura do TCLE, os voluntários foram instruídos a realizar procedimento de higiene bucal de rotina, hidratação com 400 ml de água mineral e foram alocados para um dos três grupos. Os voluntários ficaram em ambiente com temperatura controlada e não puderam ingerir água e alimentos durante o período de coleta.

Coleta inicial:

Todos os voluntários fizeram inicialmente um bochecho com solução salina estéril por 30 segundos. Aguardou-se um minuto e em seguida foi coletada a saliva não estimulada em um coletor Universal Estéril (J Prolab Ind. e Com. de produtos para laboratório Lta, São José dos Pinhais, PR, Brasil) para avaliar a microbiota oral antes do uso do antisséptico (saliva basal). Os coletores foram imediatamente conduzidos em isopor com gelo ao laboratório de Pesquisas Básicas da Faculdade de Ciências da Saúde da UNIVÁS.

Após o bochecho com solução salina estéril, foi recomendado bochechar 10 ml de clorexidina, ou polihexametileno ou cloreto de sódio 0,9% estéril, de acordo com a alocação em cada grupo, durante um minuto.

Tempo 30:

Foi coletada a saliva do voluntário, seguindo o mesmo procedimento da coleta inicial, após 30 minutos do bochecho com a substância determinada para o grupo de alocação.

Tempo 90:

Foi coletada a saliva do voluntário após 90 minutos do bochecho com a substância determinada para o grupo de alocação.

Tempo 180:

Foi coletada a saliva do voluntário após 180 minutos do bochecho com a substância determinada para o grupo de alocação.

A saliva foi escolhida como nicho representativo da contaminação oral visto que a contagem de seus micro-organismos foi apontada como principal método utilizado para a quantificação de *S. mutans*, existindo uma relação direta entre seu número e o número de sítios intra orais colonizados (DASANAYAKE *et al.*, 1995; TOGELIUS *et al.*, 1984). Assim, a redução do número de micro-organismos proporcionada por cada tratamento poderia indicar a redução do biofilme bacteriano.

3.1.7 Isolamento dos micro-organismos

Visando à contagem e à identificação dos micro-organismos, o material obtido (saliva) foi submetido à diluição decimal e semeado nos meios de cultura Ágar *Mitis salivarius* (MST) com telurito de potássio 1%, Ágar *Sabouraud* Dextrose com clorafenicol, Agar Sal Manitol hipertônico (HM) e Ágar eosina azul de metileno (EMB/Teague). O meio sólido permitiu o isolamento de micro-organismos em colônias, a obtenção de cultura pura, e, subsequente, a sua caracterização morfológica, fisiológica e bioquímica.

Cada amostra foi homogeneizada em agitador Vortex por um minuto e submetida a uma diluição seriada até 10^5 . Pipetou-se 0,5 ml da amostra com ponteira descartável estéril de 1ml em um tubo de ensaio de 130x100mm com tampa no primeiro tubo com 4,5 ml de NaCl 0,9%; repetiu-se o processo transferindo uma alíquota de 0,5 ml para um segundo tubo, também com 4,5 ml de NaCl 0,9%, onde a diluição ficou 10^2 , e assim sucessivamente, até que se chegou à diluição 10^5 .

Para a realização das análises, uma alíquota de 100 μ L de cada diluição foi semeada em placa de Petri descartável estéril, com auxílio de alça de Drigalski (bastão de vidro em L) nos meios de cultura. As placas foram incubadas a 37°C por um período de 72 a 96 horas, em estufa bacteriológica.

Após o tempo de incubação, fez-se a leitura das placas, sendo os micro-organismos contados. Considerou-se o número de colônias viável para contagem uma faixa entre 30 e 300 colônias. Valores acima do limite não foram utilizados, sendo indicado como incontável.

Cada placa contada teve seu valor corrigido de acordo com a sua diluição e plaqueamento, ou seja, o valor encontrado foi multiplicado por 10 para corrigir o plaqueamento (100 μ L para 1 ml) e depois multiplicado pelo fator de diluição, sendo o valor encontrado como a unidade de medida UFC/ml.

O meio de cultura Ágar *Mitis Salivarius* é seletivo para *Streptococcus sp.*, facilitando o isolamento e contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) do *S. mitis*, *S. viridans*, *S. salivarius* (*Streptococcus sp.* não hemolíticos) e *Enterococcus sp.* de culturas mistas. Sua incubação foi realizada em anaerobiose pelo método da vela por 72 a 96 horas.

No método da “chama de vela” as placas semeadas foram colocadas no interior de jarras ou dissecadores com uma vela acesa e vedados hermeticamente. O ambiente microaerófilo é adequado para o desenvolvimento de anaeróbios facultativos como

Streptococcus do grupo *mutans*, lactobacilos, *A. actinomycetemcomitans* e muitas outras espécies bucais.

O meio de cultura *Ágar Sabouraud* acrescido de Cloranfenicol é seletivo para fungos e leveduras. Neste meio foi semeado 100 µL da amostra (saliva) pura.

O *Ágar Sal Manitol* hipertônico é seletivo para bactérias Gram positivas e diferencia cepas de *Staphylococcus* sp. pela fermentação da manita (o meio de cultura fica amarelo).

O *Ágar azul de metileno eosina (EMB /Teague)* é um meio de cultura seletivo para bactérias Gram negativas.

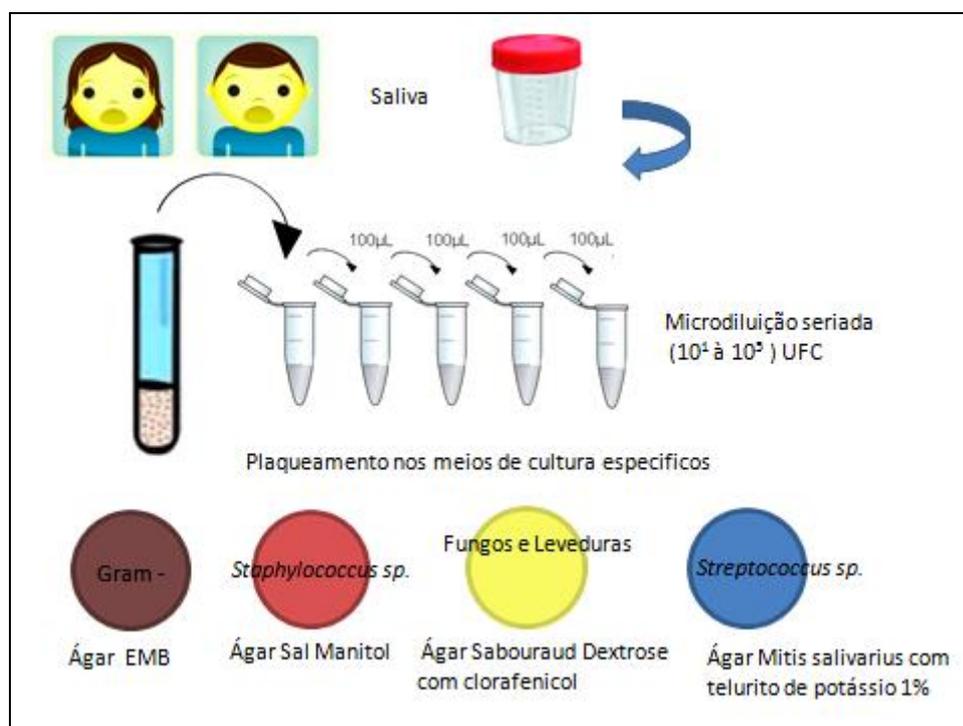


Figura 1 - Imagem ilustrativa da coleta de dados.

3.1.8 Identificação dos micro-organismos

A identificação dos micro-organismos foi realizada de acordo com metodologia clássica, utilizando a combinação de características macroscópicas, micromorfológicas e provas bioquímicas.

3.1.9 Análise estatística

A versão 19.0 do *software* SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*, Inc., Chicago, USA) para *Windows* e o *software* Bioestat 5.0 (Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Belém, PA, Brasil) foram utilizados para realização da análise estatística.

A variável categórica foi descrita como porcentagem e foi utilizado o teste do Qui-Quadrado para comparar os grupos. As variáveis numéricas foram apresentadas como mediana e variação (valores mínimos e máximos). O teste Kolmogorov-Smirnov foi aplicado para verificar a normalidade da distribuição da amostra, evidenciando que a distribuição dos dados não foi normal. Para análise dos resultados foram aplicados os seguintes testes não paramétricos:

- 1) Análise de variância de Friedman, para comparar os momentos de avaliação de cada grupo, para cada variável estudada;
- 2) Análise de variância de Kruskal-Wallis, para comparar os grupos em cada momento de coleta.

A análise estatística inferencial utilizou um limite de confiança de 95%, de modo que os valores de $p \geq 0,05$ não foram considerados estatisticamente significantes. Os resultados foram tabulados em um banco de dados construído no programa Microsoft Excel.

3.2 Estudo *in vitro*

Foi realizado um estudo experimental, longitudinal, desenvolvido no Laboratório de Pesquisas Básicas da Unidade Central da Universidade do Vale do Sapucaí.

Foram analisados dois enxaguatórios bucais com os antissépticos clorexidina e polihexametileno frente a cepas ATCC de micro-organismos comumente isolados da cavidade oral: *Escheria coli* (ATCC 25922), *Pseudomona aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (MSSA 25423), *Candida albicans* (ATCC 10231) e *Candida parapsilosis* (ATCC 22019). Todos os produtos foram avaliados quanto à sua atividade antimicrobiana sem diluição, conforme a indicação de uso.

3.2.1 Teste de sensibilidade antimicrobiana das substâncias (teste de difusão em Ágar)

Para o teste de difusão em ágar, constituiu-se um teste realizado em placa de Petri contendo meio de cultura sólido, sobre o qual semeou-se uniformemente em toda superfície uma quantidade conhecida do micro-organismo indicador. Concentrações conhecidas dos agentes antissépticos estudados, impregnadas em discos de papel filtro, foram colocadas sobre a superfície do meio de cultura na placa. O processo de incubação foi realizado em estufa bacteriológica a 37° por 24 horas.

Decorrido o tempo de incubação, com uma régua milimetrada e uma fonte de luz refletida, realizou-se a mensuração do diâmetro da zona de inibição de crescimento microbiano ao redor de cada disco. Para tanto, utilizou-se duas medidas perpendiculares entre si (vertical e horizontal), sendo obtida a média de seus tamanhos. O diâmetro da zona de inibição adjacente aos discos que contem o antisséptico expressa a difusão do agente antimicrobiano. Entretanto, o tamanho da zona de inibição não necessariamente determina o poder antimicrobiano. Deve-se lembrar que a atividade *in vitro* não se correlaciona diretamente com a atividade *in vivo*.

Em todas as etapas experimentais, sem exceção, a técnica asséptica foi observada.

3.2.2 Atividade antifúngica dos enxaguatórios

A atividade antifúngica dos enxaguatórios foi realizada pela técnica de disco difusão de acordo com a metodologia de Kirby-Bauer. Nessa técnica foram utilizados discos de papel de filtro *Wathman* N°1, de 6 mm de diâmetro, estéreis. Os meios de cultura utilizados foram o Ágar *Müeller-Hinton* com 2% de glicose e 0,5 µg/ml de azul de metileno e o meio Ágar *Sabouraud*, segundo CLSI (M44-A2).

A cultura fúngica utilizada foi padronizada em 1 a 5×10^6 células/ml, estimadas por comparação ao tubo 0,5 da Escala de McFarland. Com auxílio de um *swab* estéril, a cultura foi semeada por toda a placa, e depois foram colocados os discos. Em cada disco foram colocados 10µl dos agentes a serem testados. As placas foram incubadas a 35°C por 24-48h, e após esse período os halos foram medidos com auxílio de um paquímetro. O experimento foi realizado em três repetições (triplicata).

3.2.3 Atividade antibacteriana dos enxaguatórios

A atividade antibacteriana dos enxaguatórios também foi realizada pela técnica de disco difusão de acordo com a metodologia de *Kirby-Bauer*. Foram utilizados discos de papel de filtro *Wathman* N°1 de 6 mm de diâmetro estéreis. O meio de cultura utilizado foi o Ágar *Müller-Hinton* segundo CLSI (M2-A8). A cultura bacteriana utilizada foi padronizada em 1 a 2×10^8 células/ml, estimadas por comparação ao tubo 0,5 da Escala de *McFarland*. Com auxílio de um *swab* estéril, a cultura padronizada foi semeada por toda a placa e depois foram colocados os discos. Em cada disco foi colocado 10µl dos agentes a serem testados. As placas foram incubadas a 35°C por 24 à 48h; após esse período os halos foram medidos com auxílio de um paquímetro. O experimento foi realizado em três repetições (triplicata).

4. RESULTADOS

4.1 Resultados do estudo *in vivo*

Dentre os 30 voluntários incluídos no estudo, um foi excluído, permaneceram 29 voluntários, 10 no Grupo Controle, 10 no Grupo Clorexidina e nove no Grupo Polihexametileno (Figura 1).

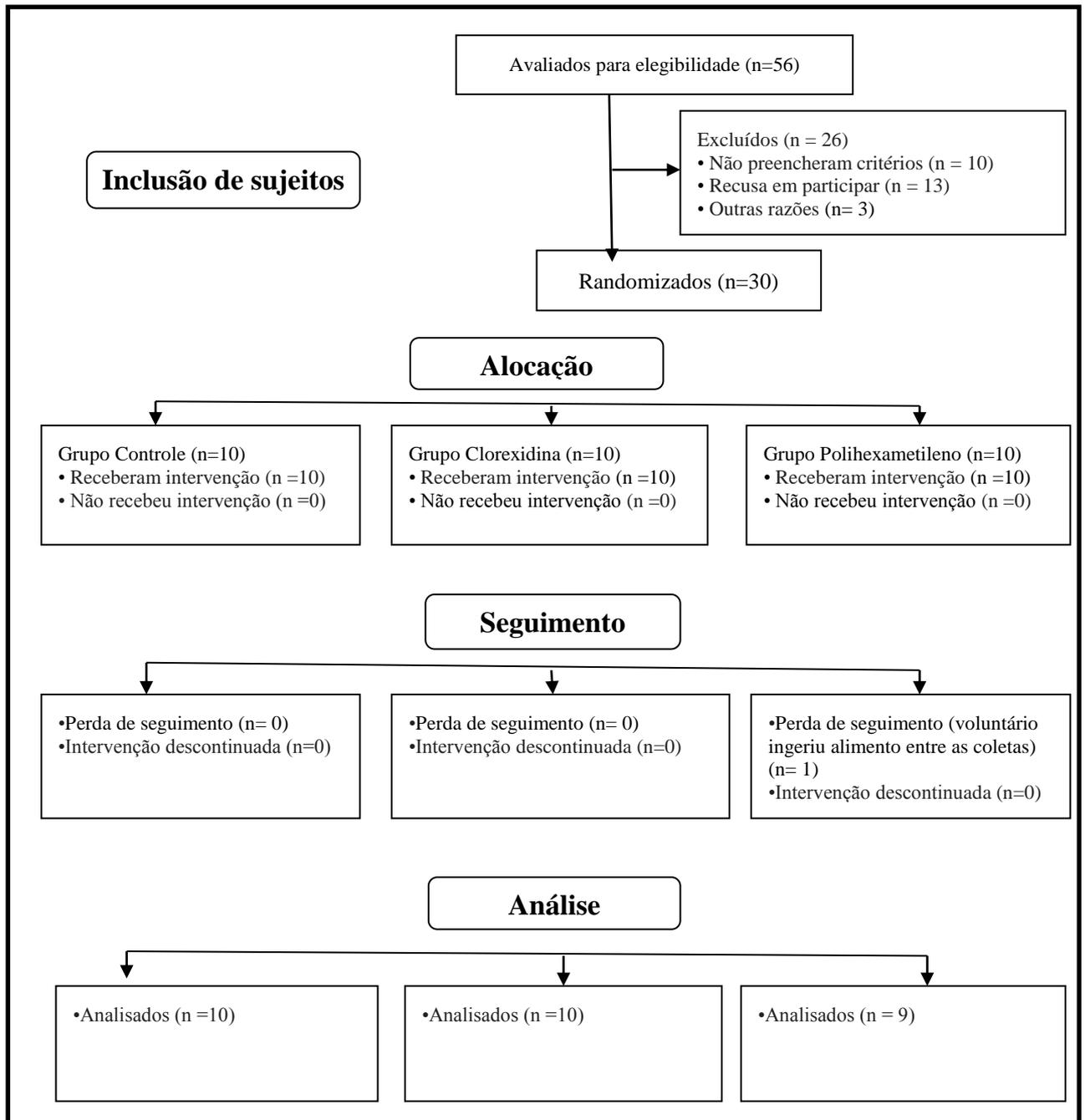


Figura 2 - Diagrama CONSORT – Fluxo de pacientes no estudo.

A idade dos sujeitos no grupo Controle variou de 19 a 26 anos (mediana 21 anos), no grupo Clorexidina variou de 18 a 28 anos (mediana: 19,5 anos) e no grupo Polihexametileno variou de 18 a 30 anos (mediana: 24 anos). Não houve diferença entre os grupos ($\rho = 0,1948$). Quanto ao gênero, a maioria dos voluntários era mulheres: 50% no Grupo Controle, 70% no Grupo Clorexidina e 89% no grupo Polihexametileno, sem diferença entre os grupos ($\rho = 0,342$).

As tabelas 1, 2 e 3 apresentam a comparação intra-grupo quanto às unidades formadoras de colônias obtidas nos quatros meios de cultura (comparação entre os momentos inicial, 30, 90 e 180 minutos, para cada grupo).

Tabela 1. Unidades formadoras de colônias contadas no grupo Controle (Análise de variância de Friedman)

Número de unidades formadoras de colônias UFC/ml				
GRUPO	MST^a ágar	EMB^b ágar	HM^c ágar	Sabouraud ágar
CONTROLE				
Inicial				
Variação	6,1x10 ⁶ – 172x10 ⁶	4x10 ³ - 2460x10 ³	1x10 ² - 122x10 ²	0 -1560
Mediana	23,1x10 ⁶	265x10 ³	38x10 ²	15
30 minutos				
Variação	2,6x10 ⁶ – 124x10 ⁶	22x10 ³ -1800x10 ³	1x10 ² - 100x10 ²	0 – 380
Mediana	49,5x10 ⁶	193,5x10 ³	15x10 ²	10
90 minutos				
Variação	4,2x10 ⁶ – 372x10 ⁶	4 x10 ³ - 3940x10 ³	1x10 ² - 132x10 ²	0 – 860
Mediana	59,3x10 ⁶	1050 x10 ³	32x10 ²	5
180 minutos				
Variação	6,2 x10 ⁶ - 402 x10 ⁶	14x10 ³ - 4460x10 ³	1x10 ² - 444x10 ²	0 – 910
Mediana	164 x10 ⁶	796,5x10 ³	4x10 ²	60
inicial vs. 30min vs.	$\rho = 0,0364^*$	$\rho = 0,5892$	$\rho = 0,753$	$\rho = 0,5703$
90min vs. 180 min (Friedman)	inicial < 30, 90 e 180min			

^aMST: Ágar *Mitis Salivarius* com telurito; ^bEMB: Ágar eosina azul de metileno; ^cHM: Ágar manitol hipertônico

Tabela 2. Unidades formadoras de colônias contadas no grupo Clorexidina (Análise de variância de Friedman)

Número de unidades formadoras de colônias UFC/ml				
GRUPO	MST^a agar	EMB^b agar	HM^c Agar	Sabouraud agar
CLOREXIDINA				
Inicial				
Variação	4,4x10 ⁶ - 488x10 ⁶	10x10 ³ – 680x10 ³	1x10 ² - 568x10 ²	0 – 1460
Mediana	40,4x10 ⁶	113,5x10 ³	28x10 ²	15
30 minutos				
Variação	0,4x10 ⁶ - 88x10 ⁶	10 x10 ³ -411 x10 ³	1x10 ² - 18x10 ²	0 – 740
Mediana	9,6x10 ⁶	48,5 x10 ³	1x10 ²	0
90 minutos				
Variação	1,4x10 ⁶ – 44,4x10 ⁶	2 x10 ³ - 680 x10 ³	1x10 ² - 32x10 ²	0 – 390
Mediana	13,7x10 ⁶	100 x10 ³	1x10 ²	0
180 minutos				
Variação	3x10 ⁶ – 46,2x10 ⁶	23x10 ³ - 2220 x10 ³	1x10 ² - 104x10 ²	0 – 320
Mediana	21,4x10 ⁶	344,5x10 ³	4x10 ²	0
Inicial vs. 30 min	$\rho = 0,0018^*$	$\rho = 0,0079^*$	$\rho = 0,015^*$	$\rho = 0,2261$
vs. 90 min vs.	30min < inicial	30min < 180min	30min < inicial	
180 min				
(Friedman)				

^aMST: Ágar *Mitis Salivarius* com telurito; ^bEMB: Ágar eosina azul de metileno; ^cHM: Ágar manitol hipertônico

Tabela 3. Unidades formadoras de colônias contadas no grupo Polihexametileno (Análise de variância de Friedman)

Número de unidades formadoras de colônias UFC/ml				
GRUPO	MST ^a agar	EMB ^b agar	HM ^c agar	Sabouraud agar
POLIHEXAMETILENO				
Inicial				
Variação	1,2x10 ⁶ - 132x10 ⁶	2x10 ³ - 183x10 ³	1x10 ² - 44x10 ²	0 - 1220
Mediana	19,8 x10 ⁶	29x10 ³	12x10 ²	0
30 minutos				
Variação	0,8x10 ⁶ - 48,3x10 ⁶	2x10 ³ - 183x10 ³	1x10 ² - 50x10 ²	0 - 1320
Mediana	5,7 x10 ⁶	29x10 ³	6x10 ²	0
90 minutos				
Variação	2,1x10 ⁶ - 118x10 ⁶	4x10 ³ - 488x10 ³	1x10 ² - 90x10 ²	0 - 1600
Mediana	27,9x10 ⁶	105x10 ³	14x10 ²	0
180 minutos				
Variação	8,5x10 ⁶ - 270x10 ⁶	12x10 ³ - 205x10 ³	1x10 ² - 68x10 ²	0 - 1430
Mediana	67,5x10 ⁶	74x10 ³	4x10 ²	0
Inicial vs. 30 min vs.	$\rho = 0,0012^*$	$\rho = 0,2957$	$\rho = 0,947$	$\rho = 0,9402$
90 min vs. 180 min	180min < 30min			
(Friedman)				

^aMST: Ágar *Mitis Salivarius* com telurito; ^bEMB: Ágar eosina azul de metileno; ^cHM: Ágar manitol hipertônico

As figuras 3, 4 e 5 apresentam a comparação intra-grupo quanto às unidades formadoras de colônias obtidas nos meios de cultura (comparação entre os momentos inicial, 30, 90 e 180 minutos, para cada grupo), onde houve diferença estatística.

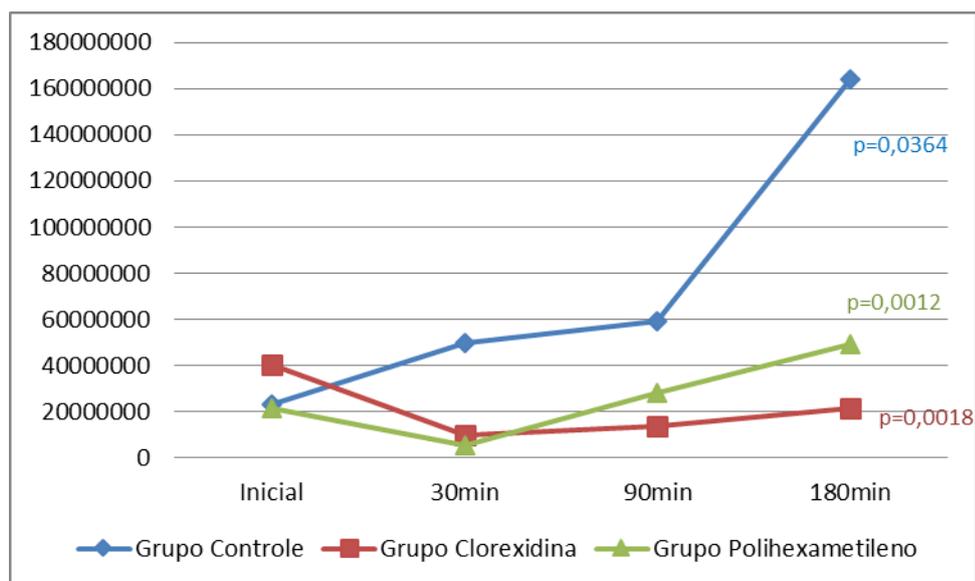


Figura 3 - Valores medianos de Unidades Formadoras de Colônias em ágar *Mitis Salivarius* – análise de variância de Friedman.

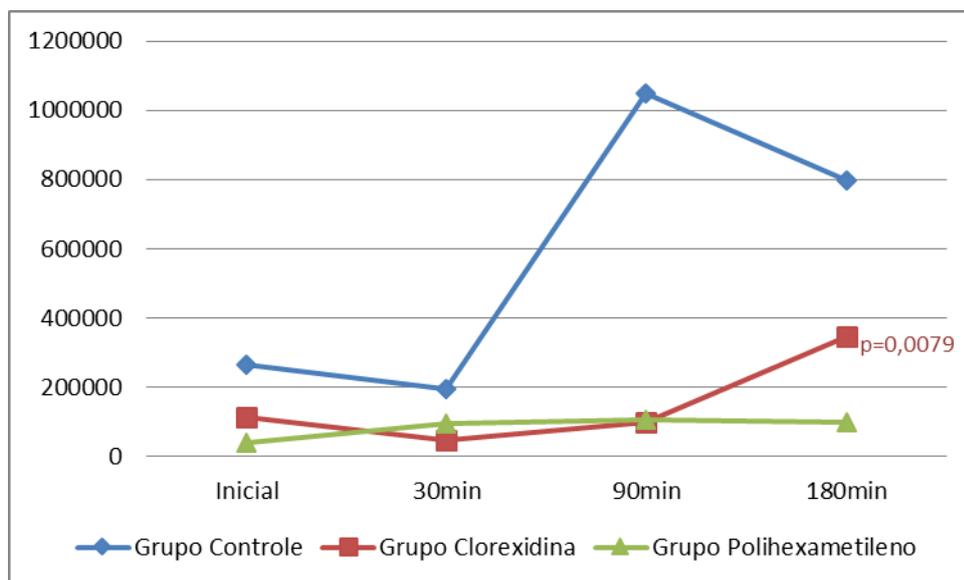


Figura 4 - Valores medianos de Unidades Formadoras de Colônias em ágar eosina azul de metileno – análise de variância de Friedman.

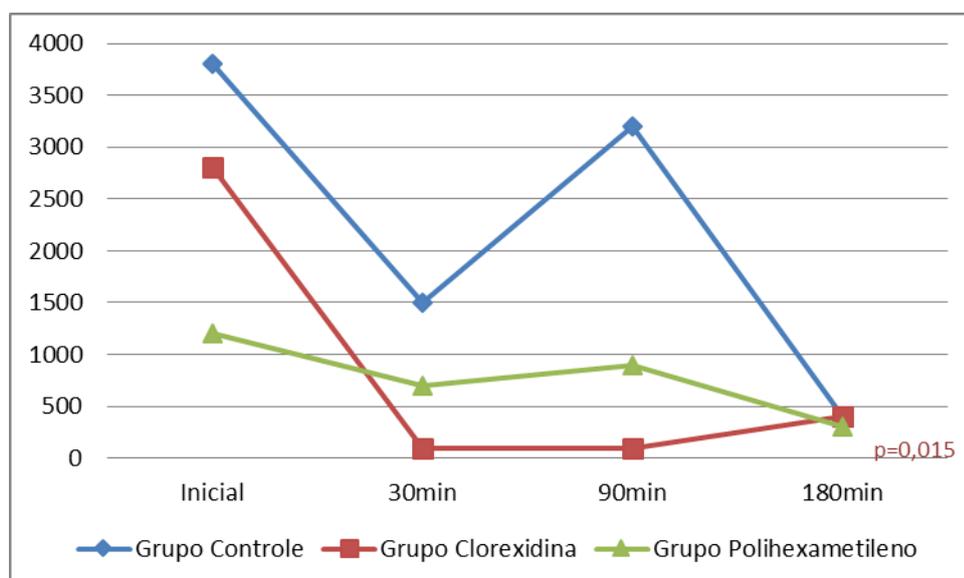


Figura 5 - Valores medianos de Unidades Formadoras de Colônias em ágar manitol hipertônico – análise de variância de Friedman.

As tabelas 4, 5, 6 e 7 apresentam a comparação inter-grupos (Controle, Clorexidina e Polihexametileno) quanto às unidades formadoras de colônias obtidas nos quatro meios de cultura, em cada momento analisado (inicial, 30, 90 e 180 minutos).

Tabela 4. Valores medianos do número de UFC nos três grupos (Controle, Clorexidina, Polihexametileno) no **momento inicial**, para cada meio de cultura e comparação intergrupos (análise de variância de Kruskal-Wallis)

	MST ^a ágar	EMB ^b agar	HM ^c ágar	Sabouraud ágar
Controle	$2,3 \times 10^7$	$2,6 \times 10^5$	$3,8 \times 10^3$	15
Clorexidina	4×10^7	$1,1 \times 10^5$	$2,8 \times 10^3$	15
Polihexametileno	2×10^7	29×10^5	$1,2 \times 10^3$	0
GC ^d x GCL ^e x GPH ^f (Kruskal-Wallis)	$\rho = 0,254$	$\rho = 0,0754$	$\rho = 0,1336$	$\rho = 0,4112$

^aMST: Mitis Salivarius ágar com Telurito; ^bEMB: eosina azul de metileno ágar; ^cHM: manitol hipertônico; ^dGC, grupo controle; ^eGCL, grupo clorexidina; ^fGPH, grupo polihexametileno

Tabela 5. Valores medianos dos números de UFC nos três grupos (Controle, Clorexidina, Polihexametileno) após **30 minutos**, para cada meio de cultura e comparação intergrupos (análise de variância de Kruskal-Wallis)

	MST ^a ágar	EMB ^b ágar	HM ^c Agar	Sabouraud ágar
Controle	49x10 ⁶	19x10 ⁴	15x10 ²	10
Clorexidina	9,6x10 ⁶	4,8x10 ⁴	1x10 ²	0
Polihexametileno	5,7x10 ⁶	10x10 ⁴	6x10 ²	0
GC ^d x GCL ^e x GPH ^f	$\rho = 0,031^*$	$\rho = 0,1422$	$\rho = 0,0077^*$	$\rho = 0,2298$
(Kruskal-Wallis)	GPH < GC e GCL		GCL < GC e CPH	

^aMST: Mitis Salivarius ágar com Telurito; ^bEMB: eosina azul de metileno ágar; ^cHM: manitol hipertônico; ^dGC, grupo controle; ^eGCL, grupo clorexidina; ^fGPH, grupo polihexametileno

Tabela 6. Valores medianos dos números de UFC nos três grupos (Controle, Clorexidina, Polihexametileno) após **90 minutos**, para cada meio de cultura, e comparação intergrupos (análise de variância de Kruskal-Wallis)

	MST ^a ágar	EMB ^b ágar	HM ^c ágar	Sabouraud ágar
Controle	5,9x10 ⁷	11x10 ⁵	32x10 ²	5
Clorexidina	1,4x10 ⁷	1x10 ⁵	1x10 ²	0
Polihexametileno	2,8x10 ⁷	1x10 ⁵	14x10 ²	0
GC ^d x GCL ^e x GPH ^f	$\rho = 0,0721$	$\rho = 0,1179$	$\rho = 0,0458^*$	$\rho = 0,5524$
(Kruskal-Wallis)			GCL < GC e GPH	

^aMST: Mitis Salivarius ágar com Telurito; ^bEMB: eosina azul de metileno ágar; ^cHM: manitol hipertônico; ^dGC, grupo controle; ^eGCL, grupo clorexidina; ^fGPH, grupo polihexametileno

Tabela 7. Valores medianos dos números de UFC nos três grupos (Controle, Clorexidina, Polihexametileno) após **180 minutos**, para cada meio de cultura, e comparação intergrupos (análise de variância de Kruskal-Wallis)

	MST ^a ágar	EMB ^b ágar	HM ^c Agar	Sabouraud ágar
Controle	16x10 ⁷	80x10 ⁴	4x10 ²	60
Clorexidina	2,1x10 ⁷	34x10 ⁴	4x10 ²	0
Polihexametileno	6,8x10 ⁷	7,4x10 ⁴	4x10 ²	0
GC ^d x GCL ^e x GPH ^f (Kruskal-Wallis)	$\rho = 0,0337^*$ GCL < GC e GPH	$\rho = 0,0437^*$ GPH < GC e GCL	$\rho = 0,9638$	$\rho = 0,2816$

^aMST: Mitis Salivarius ágar com Telurito; ^bEMB: eosina azul de metileno ágar; ^cHM: manitol hipertônico; ^dGC, grupo controle; ^eGCL, grupo clorexidina; ^fGPH, grupo polihexametileno

As figuras 6, 7, 8 e 9 mostram a comparação inter-grupos (Controle, Clorexidina e Polihexametileno) quanto às unidades formadoras de colônias obtidas nos meios de cultura, em cada momento analisado onde houve diferença estatística.

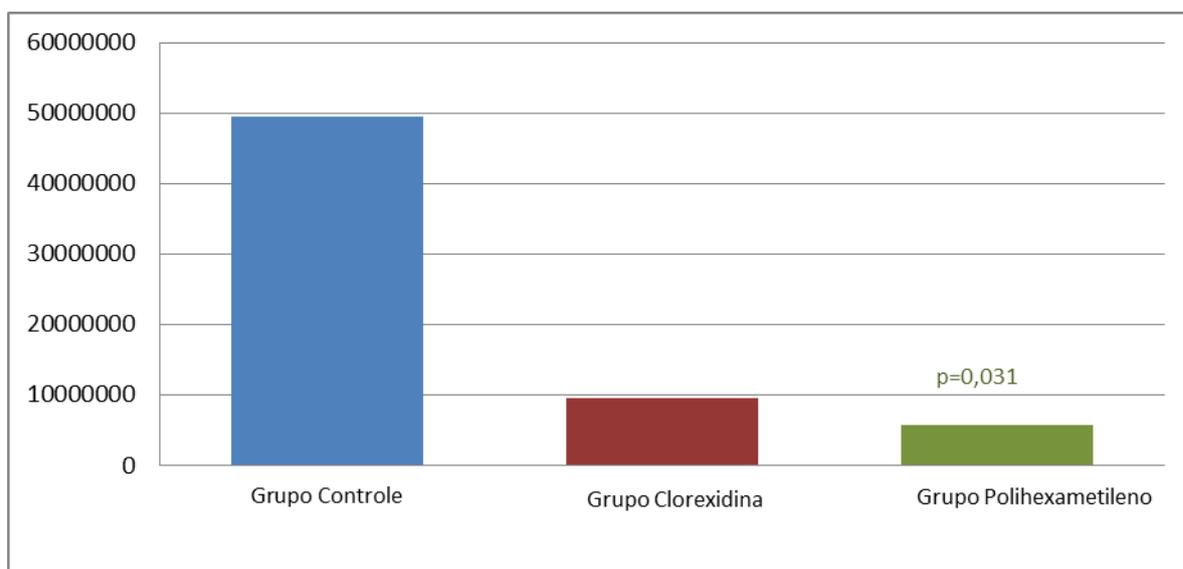


Figura 6 - Valores medianos de Unidades Formadoras de Colônias em ágar *Mitis Salivarius* em 30 minutos – análise de variância de kruskal-Wallis.

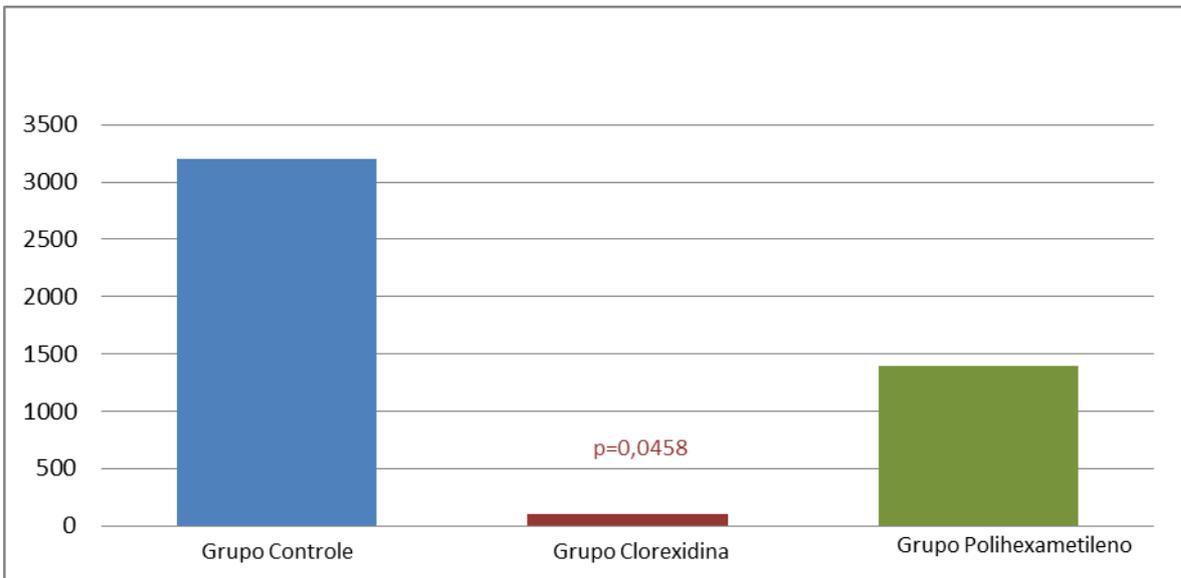


Figura 7 - Valores medianos de Unidades Formadoras de Colônias em ágar Manitol hipertônico em 90 minutos – análise de variância de kruskal-Wallis.

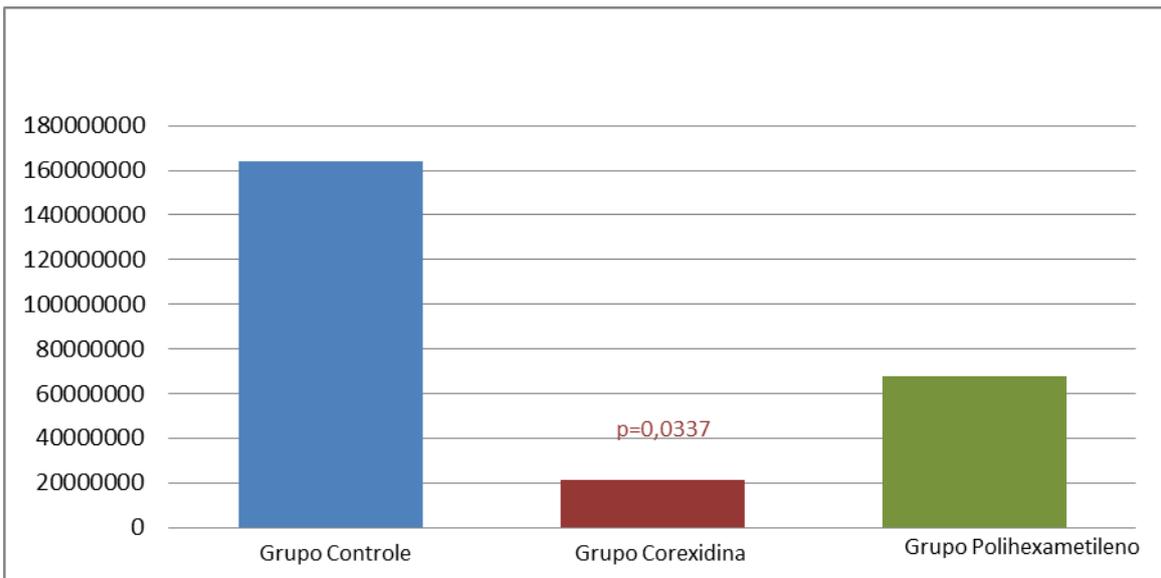


Figura 8 - Valores medianos de Unidades Formadoras de Colônias em ágar *Mitis Salivarius* em 180 minutos – análise de variância de kruskal-Wallis.

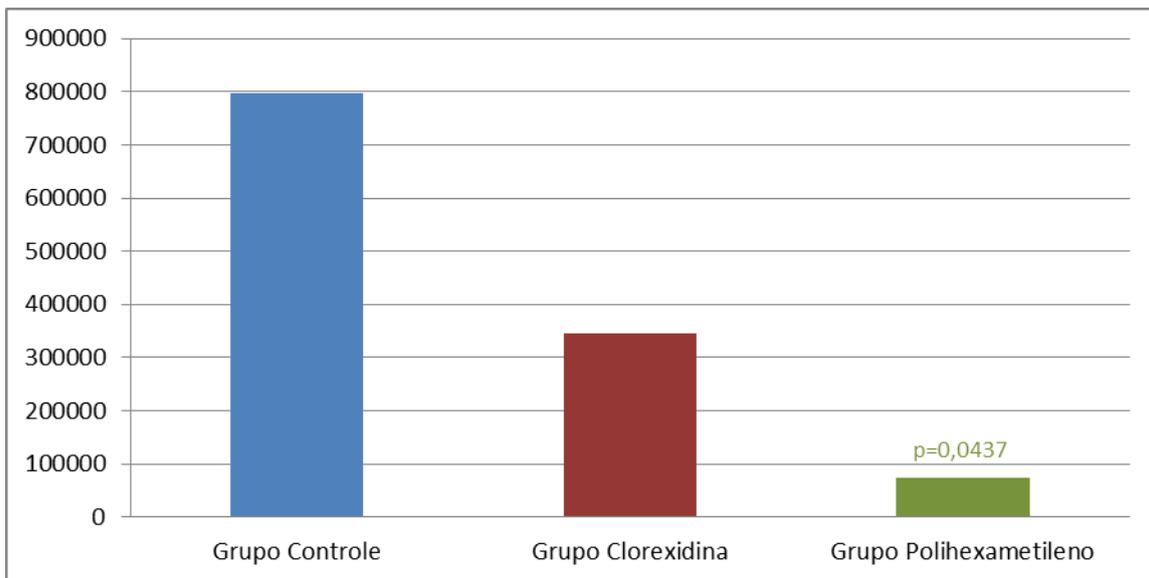


Figura 9 - Valores medianos de Unidades Formadoras de Colônias em ágar eosina azul de metileno em 180 minutos – análise de variância de kruskal-Wallis.

4.2 Resultados dos testes *in vitro*

Os halos formados nas placas das diferentes cepas tem seus valores representados nas tabelas 8 a 12, e são ilustrados nas figuras 2 a 22.

Tabela 8. Halos de inibição de crescimento de *Staphylococcus aureus*

Micro-organismo	Clorexidina	Polihexametileno
<i>S. aureus</i>	1,7 cm	1,1 cm
<i>S. aureus</i>	1,6 cm	1,1 cm
<i>S. aureus</i>	1,6 cm	1,0 cm

A média do halo de inibição de crescimento de *S. aureus* gerada pela clorexidina foi 1,63cm (desvio-padrão: 0,06 cm), e a média do halo de inibição gerada pelo polihexametileno foi 1,07cm (desvio-padrão: 0,06cm).

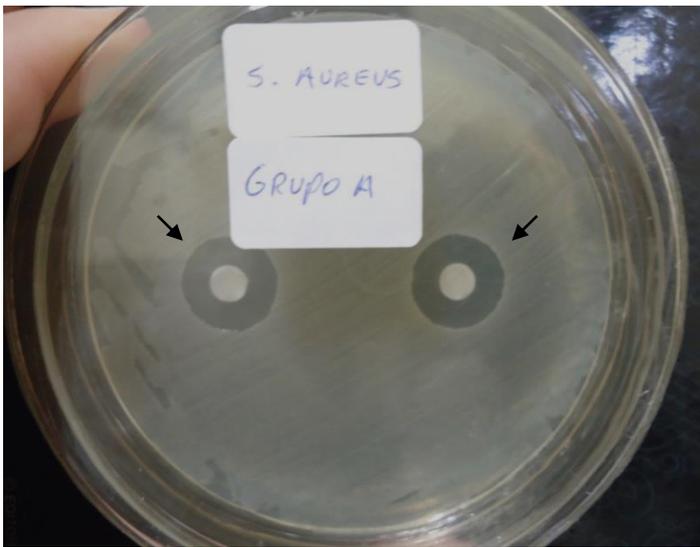


Figura 10 - Placa de teste de *S. aureus* com clorexidina.

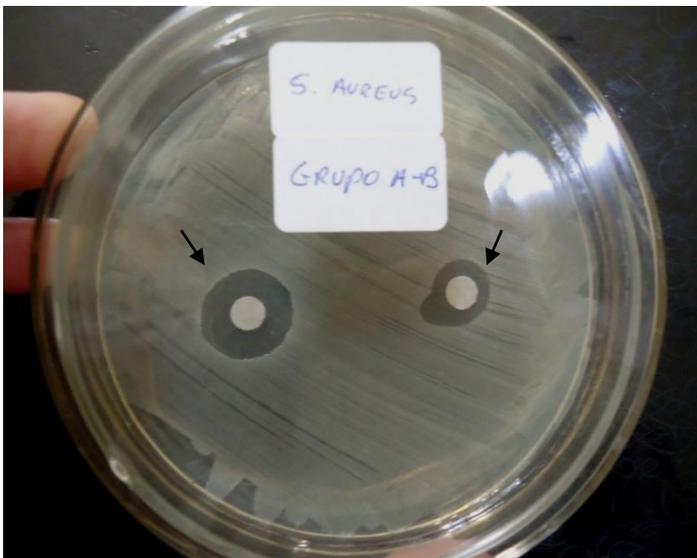


Figura 11 - Placa de teste de *S. aureus* com clorexidina e polihexametileno, respectivamente.

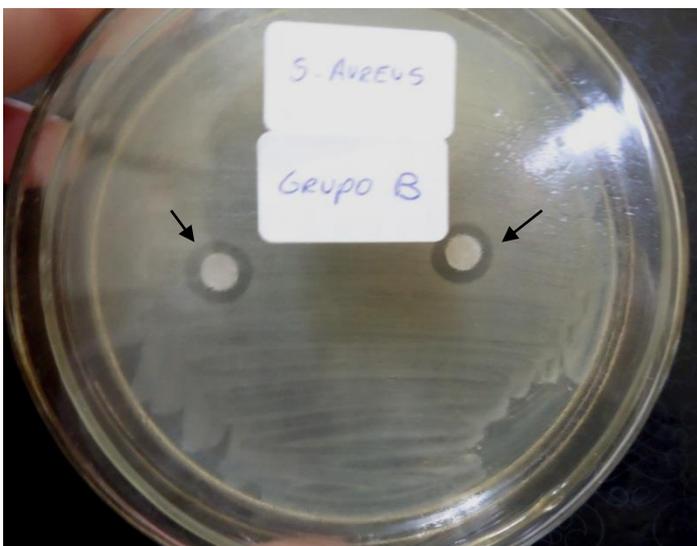


Figura 12 - Placa de teste de *S. aureus* com polihexametileno.

Tabela 9 - Halos de inibição de crescimento de *Escherichia coli*

Micro-organismo	Clorexidina	Polihexametileno
<i>E. coli</i>	1,4 cm	1,0 cm
<i>E. coli</i>	1,4 cm	1,0 cm
<i>E. coli</i>	1,4 cm	0,9 cm

A média do halo de inibição de crescimento de *E. coli* gerada pela clorexidina foi 1,40cm (desvio-padrão: 0,0), e a média do halo de inibição gerada pelo polihexametileno foi 0,97 cm (desvio-padrão: 0,06cm).

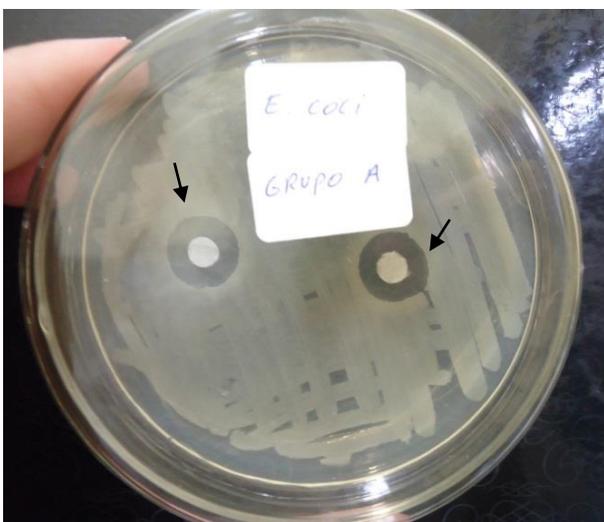


Figura 13 - Placa de teste de *E.coli* com clorexidina.

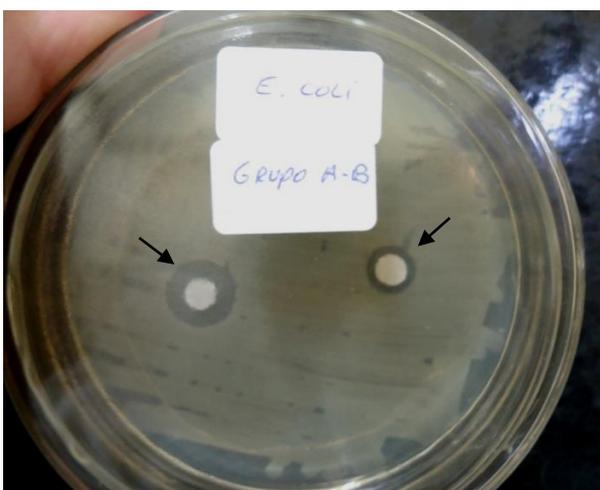


Figura 14 - Placa de teste de *E.coli* com clorexidina e polihexametileno, respectivamente.

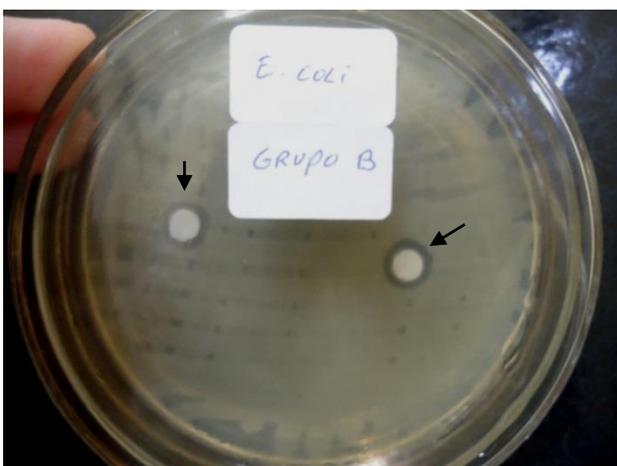


Figura 15 - Placa de teste de *E.coli* com polihexametileno.

Tabela 10 - Halos de inibição de crescimento de *Pseudomonas aeruginosa*

Micro-organismo	Clorexidina	Polihexametileno
<i>Pseudomonas</i>	1,1 cm	3,0 cm
<i>Pseudomonas</i>	1,0 cm	3,1 cm
<i>Pseudomonas</i>	1,0 cm	2,8 cm

A média do halo de inibição de crescimento de *P. aeruginosa* gerada pela clorexidina foi 1,03cm (desvio-padrão: 0,06cm). A média do halo de inibição com polihexametileno foi 2,97cm (desvio-padrão: 0,15cm).

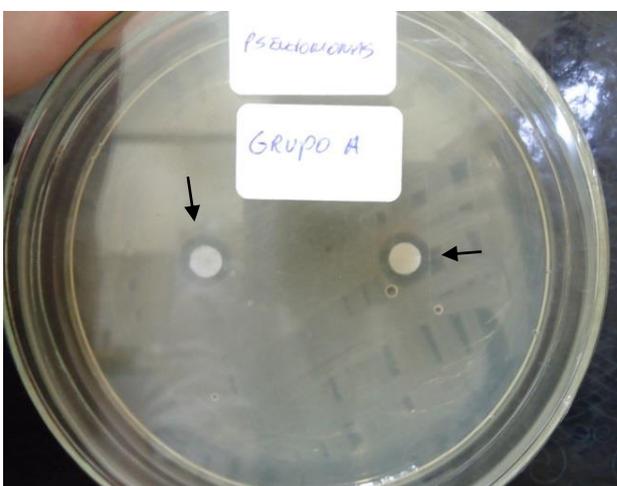


Figura 16 - Placa de teste de *P. aeruginosa* com clorexidina.

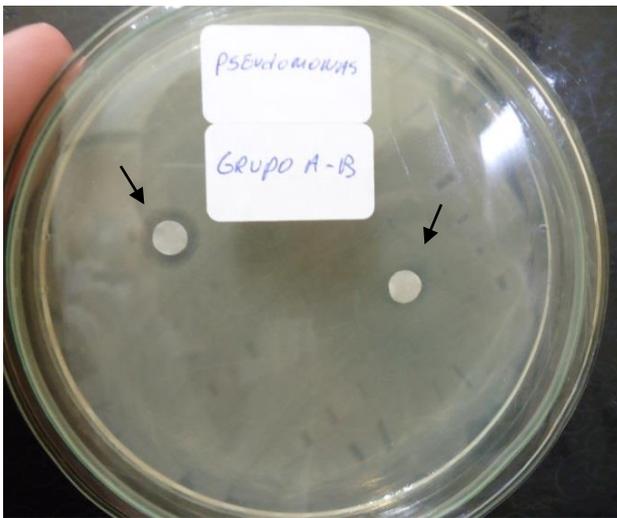


Figura 17 - Placa de teste de *P. aeruginosa* com clorexidina e polihexametileno, respectivamente.



Figura 18 - Placa de teste de *P. aeruginosa* com polihexametileno.

Tabela 11 - Halos de inibição de crescimento de *Candida albicans*

Micro-organismo	Clorexidina	Polihexametileno
<i>C. albicans</i> SD	1,0 cm	1,0 cm
<i>C. albicans</i> SD	1,2 cm	0,9 cm
<i>C. albicans</i> SD	1,2 cm	1,0 cm
<i>C. albicans</i> MH	1,3 cm	2,3 cm
<i>C. albicans</i> MH	1,3 cm	2,0 cm
<i>C. albicans</i> MH	1,2 cm	2,2 cm

SD = meio ágar Sabouraud, MH =meio ágar Mueller-Hinton.

A média do halo de inibição de crescimento de *C. albicans* no meio ágar *Sabouraud* gerada pela clorexidina foi 1,13cm, (desvio padrão: 0,12cm). A média do halo de inibição gerada pelo polihexametileno no meio ágar *Sabouraud* foi 0,97cm (desvio padrão: 0,06cm).

A média do halo de inibição de crescimento de *C. albicans* no meio ágar *Mueller- Hinton* gerada pela clorexidina foi 1,27cm (desvio padrão: 0,06cm). A média do halo de inibição gerada pelo polihexametileno no meio ágar *Mueller- Hinton* foi 2,17cm (desvio padrão: 0,15cm).



Figura 19 - Placa de teste de *C. albicans* em meio ágar *Sabouraud* com clorexidina.

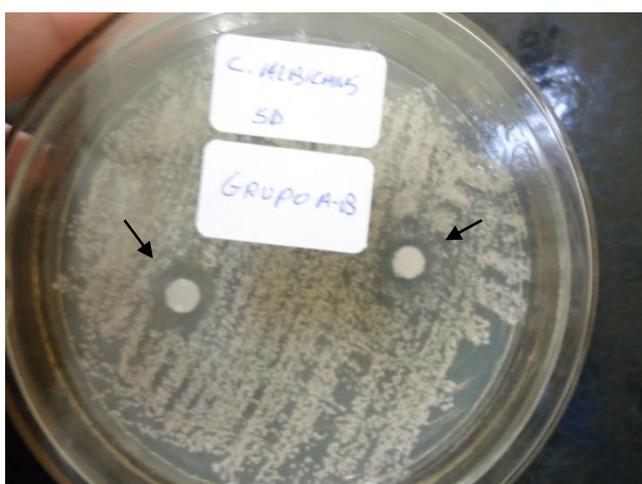


Figura 20 - Placa de teste de *C. albicans* em meio ágar *Sabouraud* com clorexidina e polihexametileno, respectivamente.

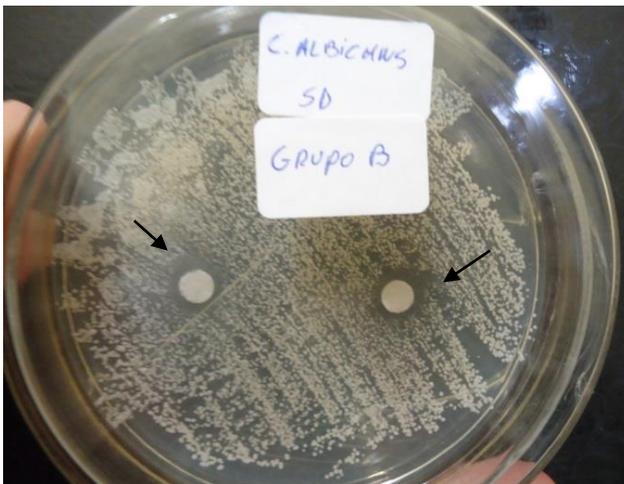


Figura 21 - Placa de teste de *C. albicans* em meio ágar *Sabouraud* com polihexametileno.



Figura 22 - Placa de teste de *C. albicans* em meio ágar *Mueller- Hinton* com clorexidina.



Figura 23 - Placa de teste de *C. albicans* em meio ágar *Mueller- Hinton* com clorexidina e polihexametileno, respectivamente.

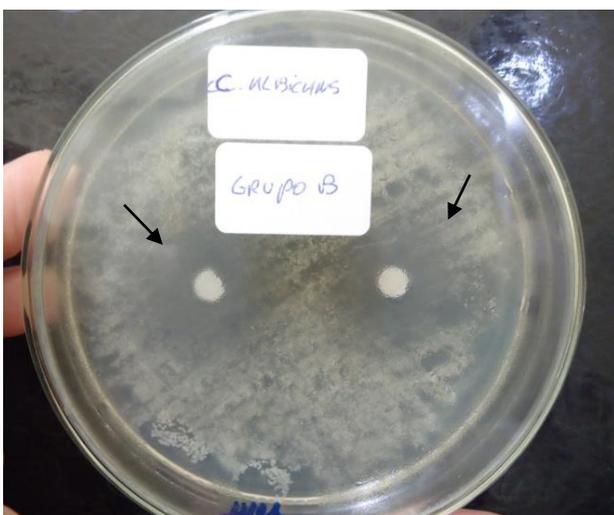


Figura 24 - Placa de teste de *C. albicans* em meio ágar *Mueller- Hinton* com polihexametileno.

Tabela 12 - Halos de inibição de crescimento de *Candida parapsilosis*

Micro-organismo	Clorexidina	Polihexametileno
<i>C. parapsilosis</i> MS	1,9 cm	0,9 cm
<i>C. parapsilosis</i> MS	1,9 cm	0,8 cm
<i>C. parapsilosis</i> MS	1,9 cm	0,9 cm
<i>C. parapsilosis</i> MH	2,4 cm	1,3 cm
<i>C. parapsilosis</i> MH	2,3 cm	1,3 cm
<i>C. parapsilosis</i> MH	2,2 cm	0,6 cm

Legenda: MS = meio ágar *Sabouraud*, MH =meio ágar *Mueller-Hinton*.

A média do halo de inibição de crescimento de *C. parapsilosis* no meio ágar *Sabouraud* gerada pela clorexidina foi 1,90cm (desvio padrão: 0,0). A média do halo de inibição gerada pelo polihexametileno no meio ágar *Sabouraud* foi 0,87cm (desvio padrão: 0,06cm).

A média do halo de inibição de crescimento de *C. parapsilosis* no meio ágar *Mueller- Hinton* gerada pela clorexidina foi 2,30cm (desvio padrão: 0,10cm). A média do halo de inibição gerada pelo polihexametileno no meio ágar *Mueller- Hinton* foi 1,07cm (desvio padrão: 0,40cm).

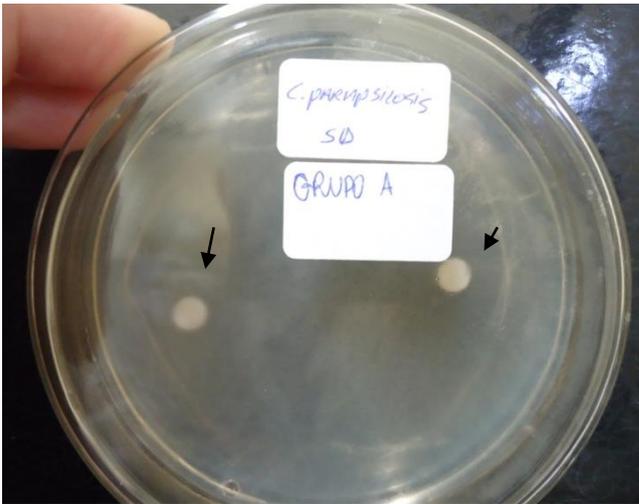


Figura 25 - Placa de teste de *C. parapsilosis* em meio ágar *Sabouraud* com clorexidina.

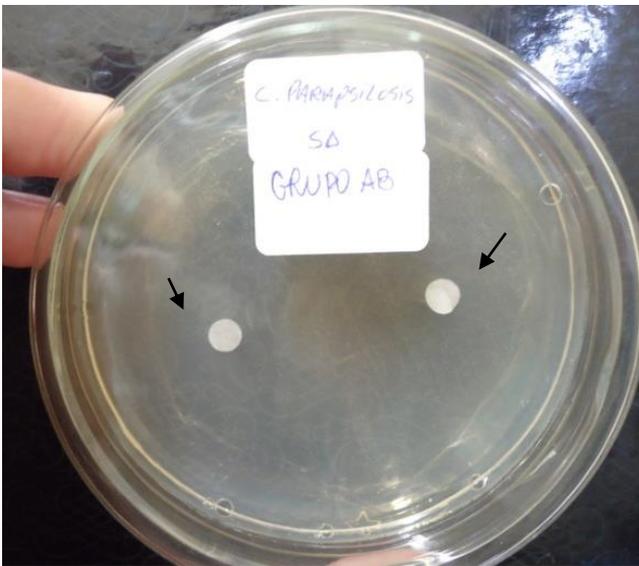


Figura 26 - Placa de teste de *C. parapsilosis* em meio ágar *Sabouraud* com clorexidina e polihexametileno, respectivamente.



Figura 27 - Placa de teste de *C. parapsilosis* em meio ágar *Sabouraud* com polihexametileno.

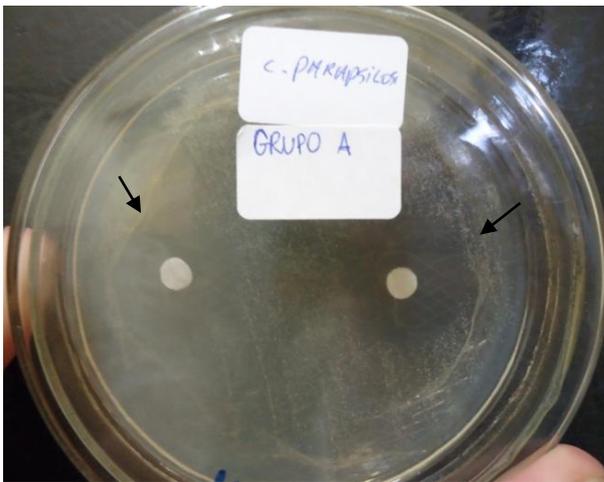


Figura 28 - Placa de teste de *C. parapsilosis* em meio ágar *Mueller- Hinton* com clorexidina.

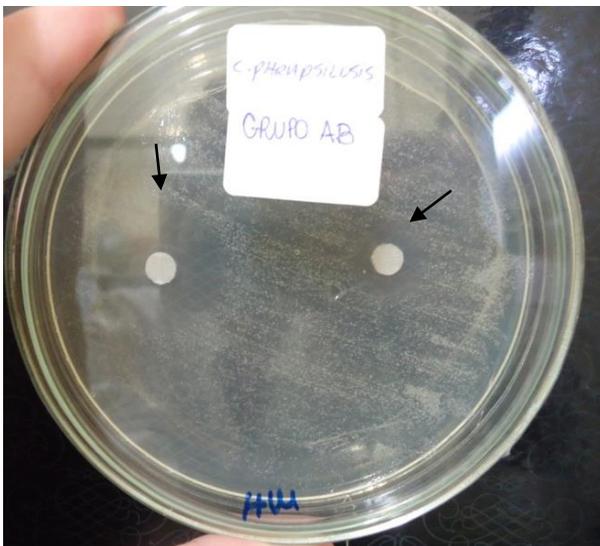


Figura 29 - Placa de teste de *C. parapsilosis* em meio ágar *Mueller- Hinton* com clorexidina e polihexametileno, respectivamente.

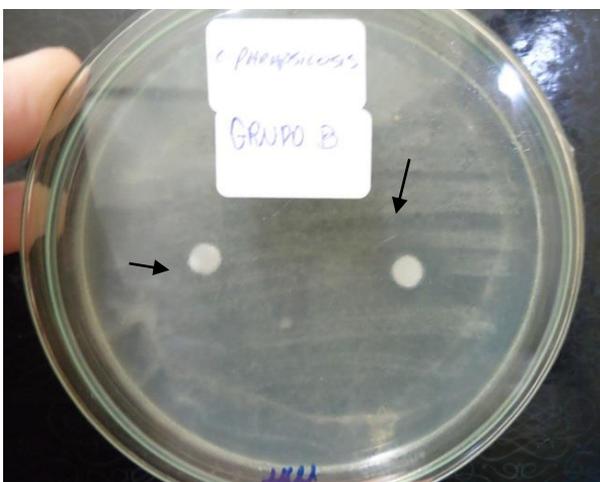


Figura 30 - Placa de teste de *C. parapsilosis* em meio ágar *Mueller- Hinton* com polihexametileno.

5. APLICABILIDADE

O desenvolvimento de terapias adjuvantes específicas que atenuem a ação microbiana da cavidade oral é de extrema importância, pois contribui para o controle das doenças que afetam consideravelmente a população em todo o mundo.

Estudos clínicos anteriores forneceram uma justificativa biológica e demonstraram a eficácia de bochechos com clorexidina e polihexametileno na redução de micro-organismos que colonizam a cavidade oral, mas instrução e motivação são essenciais para o sucesso de ambos os métodos, mecânicos e químicos (CORTELLI *et al.*, 2014; GRABER *et al.*, 2013).

Um programa de higiene oral deve ser individualizado e pode requerer alterações ao longo do tempo. Frente às limitações dos métodos mecânicos de higiene, agentes antimicrobianos em forma de enxaguatórios bucais são amplamente utilizados, auxiliando os métodos mecânicos de remoção, diminuindo o número de micro-organismos patogênicos na cavidade oral e, conseqüentemente, prevenindo possíveis infecções.

GUPTA *et al.* (2014), relataram que, devido ao aumento da resistência aos antibióticos e aumento da incidência de doenças orais, há uma necessidade de modalidades de tratamento alternativas para combater as doenças orais e há alternativas tão eficazes como a clorexidina na redução de micro-organismos orais.

Os resultados atuais confirmam claramente uma redução substancial em bactérias intraorais após o uso de antissépticos, mas alguns dos estudos usaram antissépticos apenas como uma limpeza mecânica. Esta limpeza mecânica, apesar de cientificamente subestimada, contribuiu para diminuição significativa da contagem bacteriana (KOSUTIC *et al.*, 2009). Essa informação corrobora com o presente estudo, em que houve a diminuição da contagem bacteriana no meio de cultura *Mitis Salivarius* na amostra inicial colhida após o bochecho com soro fisiológico esterilizado (grupo controle).

A remoção do terceiro molar é uma das cirurgias mais comuns na cavidade oral realizada pelo cirurgião-dentista, e está associada com complicações e sequelas indesejáveis. Pode haver dor, edema, trismo, infecção, alveolite, sangramento, lesão dental, fratura de mandíbula, disfunção da articulação temporo-mandibular e dias de trabalho perdidos. Muitos fatores e estratégias têm sido estudados para minimizar a morbidade associada à remoção do terceiro molar, incluindo bochechos com clorexidina (FENTON e PIECUCH, 2012). BIENSTOCK *et al.* (2011), em um estudo de coorte prospectivo com sujeitos da Associação Americana de Cirurgia Oral e Maxilo-Facial, constataram que o uso da clorexidina foi

associado com menor duração da limitação pós-operatória em cirurgias de terceiros molares, possivelmente por diminuir o risco de osteíte alveolar.

PIEUCH (2012), ao abordar as estratégias úteis em cirurgias de extrações dos terceiros molares na Conferência Multidisciplinar de Washington (2010), avaliou vários temas que podem ajudar a diminuir a morbidade da retirada de terceiros molares e constatou que o uso de clorexidina para prevenir osteíte alveolar e infecção de sítio cirúrgico foi estudado extensivamente, mas não provou este efeito. CASO *et al.* (2005) afirmaram que há uma necessidade de mais pesquisas para determinar o uso adequado de bochechos com clorexidina em cirurgias de extração de terceiros molares. SHEPHERD 2007; HEDSTROM e SJOGREN (2007), em trabalhos de revisão sistemática para prevenção da osteíte alveolar, concluíram que, para a maioria das intervenções preventivas, a prova estava ausente ou inconclusiva e que as evidências sobre clorexidina foram inconclusivas. No presente estudo, a clorexidina reduziu significativamente a contagem bacteriana (*Streptococcus* e *Staphylococcus*) após 30 minutos do uso, mas não manteve essa ação antibacteriana. DUVALL *et al.* (2013) comparando diretamente a incidência e magnitude de bacteremia com bochecho de clorexidina 0,12% pré-procedimento associado à 2g de amoxicilina por via oral uma hora antes (recomendado pela *American Heart Association*, *American Dental Association* e *American Academy of Orthopedic Surgeons*), em cirurgias de extração de terceiros molares, puderam concluir que nem o enxaguatório bucal clorexidina nem a intervenção sistêmica com antibiótico reduziram estatisticamente a incidência e magnitude de bacteremia em comparação com nenhuma intervenção antimicrobiana.

O presente estudo demonstrou que o polihexametileno pode ser uma alternativa que substitua a clorexidina em algumas indicações. Nas doenças periodontais, que a ação contra as bactérias gram negativas seja importante, o polihexametileno seria o antisséptico de escolha, devido a substantividade por 180 minutos, que a clorexidina não teve.

Estratégias foram tentadas para diminuir o escurecimento e aparecimento de manchas nos dentes com o uso da clorexidina, adicionando um sistema anti-descoloração (ADS). GUGGENHEIN e MÉIER (2011) observaram que a clorexidina com ADS reduziu a atividade antibacteriana e não impediu placa ou gengivite em desenvolvimento. Na verdade, não mostrou efeito superior ao placebo (LI *et al.*, 2014). LEPRI *et al.* (2014) avaliaram a influência de três soluções (cetilperidínio, óleos essenciais e clorexidina) sobre a dureza e estabilidade de cor de uma resina composta e concluíram que as amostras imersas em clorexidina apresentaram alteração significativa no teste de brilho resina composta. Estes resultados mostram a importância de ter alternativas para a clorexidina, devido à alteração de cor que ela causa.

O FDA (*Food and Drug Administration*) e a ADA forneceram uma visão geral da eficácia e segurança do antisséptico clorexidina. O uso em longo prazo não desenvolve resistência microbiana, nem favorece o aparecimento de infecções oportunistas, mas nos Estados Unidos está disponível apenas com prescrição (EICK *et al.*, 2011; DE PAOLA *et al.*, 2007). O estudo de KULIK *et al.* (2014) refuta essa informação, visto que algumas cepas mostraram potencial para desenvolver resistência contra clorexidina após exposição prolongada. Portanto, estes autores concluíram que o uso de clorexidina deve ser limitado a curtos períodos de tempo.

GRABER *et al.* (2013) relataram que clorexidina e alexidina, usadas como desinfetantes orais, inibem a interação proteína-proteína, induzem a apoptose em uma série de linhas de células tumorais derivadas da língua e da faringe. Uma vez que os fibroblastos são células muito importantes na regeneração dos tecidos, e como na cavidade bucal essas células estão presentes em todas as mucosas (jugal, gengival, ligamento periodontal e polpa dental), todas as substâncias utilizadas na Odontologia, inclusive a clorexidina, devem ser biocompatíveis com essas células. MULLER e KRAMER (2008) estudaram a biocompatibilidade (atividade microbicida e o efeito citotóxico) dos agentes antissépticos cloreto de benzalcônio, cetilpiridínio, CHX, proteína de prata leve, octenidina, PHMB, iodo povidona em solução, iodo povidona em pomada, nitrato de prata, prata, sulfadiazina e triclosan. Concluíram que octenidina e polihexametileno eram os agentes mais adequados, com melhor índice de biocompatibilidade. ANAUATE-NETTO *et al.* (2014), no estudo clínico em que compararam a clorexidina com um enxaguatório de própolis, observaram que a clorexidina teve o maior número de reações adversas, com destaque para a sensação de queimadura, alterações do paladar, dentes amarelos, queimação na língua, irritação da mucosa, gosto amargo e eficácia menor em reduzir o nível de sangramento gengival.

KOEMAN *et al.* (2006) estudaram que descontaminação oral tópica com clorexidina reduz a incidência de pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV). A PAV é a infecção hospitalar que ocorre mais frequentemente associada, ao aumento da morbidade e mortalidade. Apesar de descontaminação oral com antibióticos reduzir a incidência de PAV, não é recomendado por causa do potencial de seleção de patógenos resistentes. PRICE *et al.* (2014) afirmaram que ambos, descontaminação digestiva seletiva e descontaminação orofaríngea seletiva, foram superiores à clorexidina, e existe a possibilidade de que a clorexidina estivesse associada com o aumento da mortalidade. E SILVA *et al.* (2015) investigaram os protocolos de higiene bucal para pacientes em unidades de terapia intensiva (UTIs) em 25 dos 30 hospitais de Belo Horizonte, Brasil, através de um questionário. Apesar de todos os representantes do hospital dizerem que havia um protocolo para a manutenção da

higiene bucal dos pacientes, observou-se que não houve padronização. Apenas dois hospitais tinham dentistas na equipe da UTI.

COKE *et al.* (2015) fizeram uma pesquisa e observaram o impacto de um módulo educacional de higiene oral sobre as práticas de pacientes e documentação de enfermagem, visto que não havia uma frequência de higiene oral nos pacientes com câncer e nem se documentava quando era feita essa higiene, comprometendo o conforto e o estado nutricional desses pacientes. Após oito semanas os dados foram analisados e comparados e verificou-se melhora significativa na educação e nas práticas de higiene oral dos pacientes e aumentou a prática documentada de higiene pelos técnicos em enfermagem. LEWIS *et al.* (2015) relataram que o governo australiano aprovou um modelo de saúde bucal que promove uma abordagem multidisciplinar com médicos, enfermeiros, assistentes e profissionais de odontologia que compartilham a responsabilidade na saúde bucal.

A mucosite oral é uma complicação frequente da quimioterapia e regimes de radioterapia habitualmente usadas em prática oncológica. MUTTERS *et al.* (2015) avaliaram a eficácia da clorexidina na prevenção de mucosite e redução da flora da orofaringe e concluíram que octenidina teve redução da flora orofaríngea superior comparada a clorexidina.

A atividade antimicrobiana de enxaguatórios bucais contendo polihexametileno foi avaliada em alguns estudos *in vivo*. ROSIN *et al.* (2001), utilizando um método que media contagens bacterianas na superfície do dente e da mucosa oral, demonstrou que um bochecho com polihexametileno era mais capaz de inibir biofilme / formação de placa dentária, em comparação com um controle negativo (placebo); no entanto, o produto à base de polihexametileno não foi tão efetivo como o antisséptico contendo 0,12% de clorexidina. Este resultado está de acordo com o presente estudo, em que o antisséptico bucal à base de polihexametileno não reduziu significativamente o número de UFCs nos meios de cultura testados como o antisséptico à base de clorexidina.

Antissépticos orais que contem o agente antimicrobiano polihexametileno podem ser considerados como alternativa potente em preparações à base de clorexidina (ROHER 2010). Nesse estudo, mostrou ação contra bactérias gram negativas em 180 minutos, o que não aconteceu com o antisséptico clorexidina. Além do benefício antibacteriano, o polihexametileno tem um bom potencial em reduzir a perda dentinária (CHARONE *et al.*, 2014).

A clorexidina, utilizada em bochecho na prevenção de cáries, diminui temporariamente o acidogenicidade da microbiota e o número de bactérias cariogênicas, especialmente *Streptococcus mutans*, embora GEORGIOS *et al.*, 2015 relataram que as

evidências foram insuficientes. A clorexidina é desinfetante padrão utilizado em odontologia clínica, mas como um revestimento contra *Streptococcus mutans* não ofereceu qualquer proteção adicional em comparação à dentina não revestida (BESINIS *et al.*, 2014). Nessa pesquisa a clorexidina diminuiu significativamente o número de *Streptococcus mutans* em 30 minutos assim como o polihexametileno, mas o polihexametileno teve substantividade por 180 minutos para bactérias gram negativas que o clorexidina não teve.

6. CONCLUSÕES

Enxaguatórios bucais a base de clorexidina 0,12% tem um espectro de ação mais amplo do que o polihexametileno nos 30 minutos após a sua aplicação, com uma recuperação progressiva da vitalidade bacteriana.

O polihexametileno, após 30 minutos, é mais efetivo do que a clorexidina contra *Streptococcus* e em 180 minutos é efetivo contra bactérias gram negativas.

In vitro, o polihexametileno foi mais eficiente do que a clorexidina frente a micro-organismos oportunistas.

7. IMPACTO SOCIAL

A Odontologia atual está voltada para a prevenção das doenças bucais e, para tanto, o cirurgião dentista deve estar capacitado para atuar junto ao paciente dentro de um contexto amplo, proporcionando-lhe condições odontológicas favoráveis. Além dos profissionais de Odontologia, outras áreas da saúde que direta ou indiretamente estão ligados aos cuidados da saúde oral da população também necessitam de uma nova postura.

Diversas situações foram discutidas em que o emprego de substâncias antissépticas na cavidade oral é importante. A promoção da higiene oral é considerada fator de grande relevância na assistência ao paciente internado, pois a realização de uma higiene oral satisfatória contribui para minimizar os riscos de complicações e o tempo de internação do paciente. Em cirurgia oral, que é necessária uma diminuição significativa da carga bacteriana, o protocolo antisséptico precisa ser aperfeiçoado, visto que a recomendação posológica dos antissépticos usados rotineiramente é de 8/8horas e observou-se, através deste estudo, que os antissépticos não têm essa ação prolongada.

Os resultados dos estudos com enxaguatórios bucais mostram a importância e a necessidade de se avaliar meios alternativos e economicamente viáveis para complementar a remoção mecânica, facilitando o acesso das populações de baixa renda aos enxaguatórios bucais, visto que não há nenhum antisséptico disponível na saúde pública.

8. REFERÊNCIAS

Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol.* 2005;43(11):5721-32.

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

Afennich F, Slot DE, Hossainian N, Van der Weijden GA. The effect of hexetidine mouthwash on the prevention of plaque and gingival inflammation: a systematic review. *Int J Dent Hyg.* 2011;9(3):182-90.

Anauate-Netto C, Anido-Anido A, Leegoy HR, Matsumoto R, Alonso RC, Marcucci MC, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial on the effects of propolis and chlorhexidine mouthrinses on gingivitis. *Braz Dent Sci.* 2014;17(1):11-5.

Barnett ML. The role of therapeutic antimicrobial mouthrinses in clinical practice: control of supragingival plaque and gingivitis. *J Am Dent Assoc.* 2003;134(6):699-704.

Besinis A, De Peralta T, Handy RD. Inhibition of biofilm formation and antibacterial properties of a silver nano-coating on human dentine. *Nanotoxicology.* 2014;8(7):745-54.

Bienstock DA, Dodson TB, Perrott DH, Chuang SK. Prognostic factors affecting the duration of disability after third molar removal. *J Oral Maxillofac Surg.* 2011;69(5):1272-7.

Blum IR. Contemporary views on dry socket (alveolar osteitis): a clinical appraisal of standardization, aetiopathogenesis and management: a critical review. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002;31(3):309-17.

Cardoso CL, Rodrigues MT, Ferreira Júnior O, Garlet GP, de Carvalho PS. Clinical concepts of dry socket. *J Oral Maxillofac Surg.* 2010;68(8):1922-32.

Caso A, Hung LK, Beirne OR. Prevention of alveolar osteitis with chlorhexidine: a meta-analytic review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005;99(2):155-9.

Castilho AL, Saraceni CH, Diaz IE, Paciencia ML, Suffredini IB. New trends in dentistry: plant extracts against *Enterococcus faecalis*. The efficacy compared to chlorhexidine. *Braz Oral Res.* 2013;27(2):109-15.

Chan EY, Ruest A, Meade MO, Cook DJ. Oral decontamination for prevention of pneumonia in mechanically ventilated adults: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2007;334(7599):889.

Charone S, Cardoso Cde A, Kato MT, Ducati P, Fukushima R, Gennaro G, et al. The effect of mouthwashes containing biguanides on the progression of erosion in dentin. *BMC Oral Health.* 2014;14:131.

Coke L, Otten K, Staffileno B, Minarich L, Nowiszewski C. The impact of an oral hygiene education module on patient practices and nursing documentation. *Clin J Oncol Nurs.* 2015;19(1):75-80.

Cortelli SC, Costa FO, Rode Sde M, Haas AN, de Andrade AK, Pannuti CM, et al. Mouthrinse recommendation for prosthodontic patients. *Braz Oral Res.* 2014;28.

Cousido MC, Tomás Carmona I, García-Caballero L, Limeres J, Alvarez M, Diz P. In vivo substantivity of 0.12% and 0.2% chlorhexidine mouthrinses on salivary bacteria. *Clin Oral Investig.* 2010;14(4):397-402.

Dasanayake AP, Caufield PW, Cutter GR, Roseman JM, Kohler B. Differences in the detection and enumeration of mutans streptococci due to differences in methods. *Arch Oral Biol.* 1995;40(4):345-51.

Davies GE, Francis J, Martin AR, Rose FL, Swain G. 1:6-Di-4'-chlorophenyldiguanidohexane (hibitane); laboratory investigation of a new antibacterial agent of high potency. *Br J Pharmacol Chemother.* 1954;9(2):192-6.

DePaola LG, Spolarich AE. Safety and efficacy of antimicrobial mouthrinses in clinical practice. *American Dental Hygienists Association.* 2007;81(suppl 1):117-.

Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner AC, Yu WH, et al. The human oral microbiome. *J Bacteriol.* 2010;192(19):5002-17.

Duvall NB, Fisher TD, Hensley D, Hancock RH, Vandewalle KS. The comparative efficacy of 0.12% chlorhexidine and amoxicillin to reduce the incidence and magnitude of bacteremia during third molar extractions: a prospective, blind, randomized clinical trial. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2013;115(6):752-63.

E Silva ME, Resende VL, Abreu MH, Dayrell AV, Valle DA, de Castilho LS. Oral hygiene protocols in intensive care units in a large Brazilian city. *Am J Infect Control.* 43(3):303-4.

Eick S, Goltz S, Nietzsche S, Jentsch H, Pfister W. Efficacy of chlorhexidine digluconate-containing formulations and other mouthrinses against periodontopathogenic microorganisms. *Quintessence Int.* 2011;42(8):687-700.

Elkerbout TA, Slot DE, Bakker E, Van der Weijden GA. Chlorhexidine mouthwash and sodium lauryl sulphate dentifrice: do they mix effectively or interfere? *Int J Dent Hyg.* 2015.

Ennibi O, Lakhdar L, Bouziane A, Bensouda Y, Abouqal R. Chlorhexidine alcohol base mouthrinse versus Chlorhexidine formaldehyde base mouthrinse efficacy on plaque control: double blind, randomized clinical trials. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2013;18(1):e135-9.

Fard BK, Ghasemi M, Rastgariyan H, Sajjadi SH, Emami H, Amani M, et al. Effectiveness of Mouth Washes on Streptococci in Plaque around Orthodontic Appliances. *ISRN Dent.* 2011;2011:954053.

Fenton DA, Piecuch JF. Perioperative strategies for third molar surgery. *Atlas Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2012;20(2):225-32.

Freires IA, Bueno-Silva B, Galvão LC, Duarte MC, Sartoratto A, Figueira GM, et al. The Effect of Essential Oils and Bioactive Fractions on *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* Biofilms: A Confocal Analysis. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015;2015:871316.

Gandini S, Negri E, Boffetta P, La Vecchia C, Boyle P. Mouthwash and oral cancer risk quantitative meta-analysis of epidemiologic studies. *Ann Agric Environ Med*. 2012;19(2):173-80.

Garcia RI. Mouthrinses and dentifrices are effective antigingivitis and antiplaque agents. *J Evid Based Dent Pract*. 2008;8(1):13-4.

García-Caballero L, Carmona IT, González M, Posse JL, Taboada JL, Dios PD. Evaluation of the substantivity in saliva of different forms of application of chlorhexidine. *Quintessence international* (Berlin, Germany: 1985). 2009;40(2):141-4.

Georgios A, Vassiliki T, Sotirios K. Acidogenicity and acidurance of dental plaque and saliva sediment from adults in relation to caries activity and chlorhexidine exposure. *J Oral Microbiol*. 2015;7:26197.

Gera I. The bacterial biofilm and the possibilities of chemical plaque control. Literature review. *Fogorv Sz*. 2008;101(3):91-9.

Gil-Montoya JA, de Mello AL, Cardenas CB, Lopez IG. Oral health protocol for the dependent institutionalized elderly. *Geriatr Nurs*. 2006;27(2):95-101.

Gräber M, Hell M, Gröst C, Friberg A, Sperl B, Sattler M, et al. Oral disinfectants inhibit protein-protein interactions mediated by the anti-apoptotic protein Bcl-xL and induce apoptosis in human oral tumor cells. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2013;52(16):4487-91.

Guggenheim B, Meier A. In vitro effect of chlorhexidine mouth rinses on polyspecies biofilms. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*. 2011;121(5):432-41.

Gupta RK, Gupta D, Bhaskar DJ, Yadav A, Obaid K, Mishra S. Preliminary antiplaque efficacy of aloe vera mouthwash on 4 day plaque re-growth model: randomized control trial. *Ethiop J Health Sci*. 2014;24(2):139-44.

Hedström L, Sjögren P. Effect estimates and methodological quality of randomized controlled trials about prevention of alveolar osteitis following tooth extraction: a systematic review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007;103(1):8-15.

Herrera D. Chlorhexidine mouthwash reduces plaque and gingivitis. *Evid Based Dent.* 2013;14(1):17-8.

Klompas M, Speck K, Howell MD, Greene LR, Berenholtz SM. Reappraisal of routine oral care with chlorhexidine gluconate for patients receiving mechanical ventilation: systematic review and meta-analysis. *JAMA Intern Med.* 2014;174(5):751-61.

Koburger T, Hübner N-O, Braun M, Siebert J, Kramer A. Standardized comparison of antiseptic efficacy of triclosan, PVP-iodine, octenidine dihydrochloride, polyhexanide and chlorhexidine digluconate. *Journal of antimicrobial chemotherapy.* 2010;65(8):1712-9.

Kocak MM, Ozcan S, Kocak S, Topuz O, Erten H. Comparison of the efficacy of three different mouthrinse solutions in decreasing the level of streptococcus mutans in saliva. *Eur J Dent.* 2009;3(1):57-61.

Koeman M, van der Ven AJ, Hak E, Joore HC, Kaasjager K, de Smet AG, et al. Oral decontamination with chlorhexidine reduces the incidence of ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;173(12):1348-55.

Kosutic D, Uglesic V, Perkovic D, Persic Z, Solman L, Lupi-Ferandin S, et al. Preoperative antiseptics in clean/contaminated maxillofacial and oral surgery: prospective randomized study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2009;38(2):160-5.

Krayer JW, Leite RS, Kirkwood KL. Non-surgical chemotherapeutic treatment strategies for the management of periodontal diseases. *Dent Clin North Am.* 2010;54(1):13-33.

Kulik EM, Waltimo T, Weiger R, Schweizer I, Lenkeit K, Filipuzzi-Jenny E, et al. Development of resistance of mutans streptococci and Porphyromonas gingivalis to chlorhexidine digluconate and amine fluoride/stannous fluoride-containing mouthrinses, in vitro. *Clin Oral Investig.* 2014.

Lachenmeier DW. Alcohol-containing mouthwash and oral cancer: can epidemiology prove the absence of risk? *Ann Agric Environ Med.* 2012;19(3):609-10.

Lam OL, Bandara HM, Samaranayake LP, McGrath C, Li LS. Oral health promotion interventions on oral yeast in hospitalised and medically compromised patients: a systematic review. *Mycoses*. 2011^a;55(2):123-42.

Lam OL, McGrath C, Li LS, Samaranayake LP. Effectiveness of oral hygiene interventions against oral and oropharyngeal reservoirs of aerobic and facultatively anaerobic gram-negative bacilli. *Am J Infect Control*. 2012^b;40(2):175-82.

Lepri CP, Ribeiro MV, Dibb A, Palma-Dibb RG. Influence of mouthrinse solutions on the color stability and microhardness of a composite resin. *Int J Esthet Dent*. 2014;9(2):238-46.

Leszczynska A, Buczko P, Buczko W, Pietruska M. Periodontal pharmacotherapy - an updated review. *Adv Med Sci*. 2011;56(2):123-31.

Lewis A, Wallace J, Deutsch A, King P. Improving the oral health of frail and functionally dependent elderly. *Aust Dent J*. 2015;60 Suppl 1:95-105.

Li W, Wang RE, Finger M, Lang NP. Evaluation of the antigingivitis effect of a chlorhexidine mouthwash with or without an antidiscoloration system compared to placebo during experimental gingivitis. *J Investig Clin Dent*. 2014;5(1):15-22.

Lim KS, Kam PC. Chlorhexidine--pharmacology and clinical applications. *Anaesth Intensive Care*. 2008;36(4):502-12.

Löe H, Schiött CR, Karring G, Karring T. Two years oral use of chlorhexidine in man. I. General design and clinical effects. *J Periodontal Res*. 1976;11(3):135-44.

Lokken P, Olsen I, Spigset O. [Mouth-rinsing with chlorhexidine for prevention of pneumonia]. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2010;130(18):1828-9.

Lorenz K, Bruhn G, Heumann C, Hoffmann T, Netuschil L. How to select study designs and parameters to investigate the effect of mouthrinses? Part II: comparisons between the parameters used. *J Physiol Pharmacol*. 2009^b;60 Suppl 8:85-90.

Lorenz K, Bruhn G, Netuschil L, Heumann C, Hoffmann T. How to select study designs and parameters to investigate the effect of mouthrinses? Part I: rationale and background. *J Physiol Pharmacol*. 2009^a;60 Suppl 8:77-83.

Marley J. Efficacy, Effectiveness, Efficiency. *Australian Prescriber*. 2000; 23(6):114-115.

Marsh PD. Controlling the oral biofilm with antimicrobials. *J Dent*. 2010;38 Suppl 1:S11-5.

Minguez-Serra MP, Salort-Llorca C, Silvestre-Donat FJ. Chlorhexidine in the prevention of dry socket: effectiveness of different dosage forms and regimens. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2009;14(9):e445-9.

Muller G, Kramer A. Biocompatibility index of antiseptic agents by parallel assessment of antimicrobial activity and cellular cytotoxicity. *J Antimicrob Chemother*. 2008;61(6):1281-7.

Mutters NT, Neubert TR, Nieth R, Mutters R. The role of Octenidol[®], Glandomed[®] and chlorhexidine mouthwash in the prevention of mucositis and in the reduction of the oropharyngeal flora: a double-blind randomized controlled trial. *GMS Hyg Infect Control*. 2015;10.

Najafi MH, Taheri M, Mokhtari MR, Forouzanfar A, Farazi F, Mirzaee M, et al. Comparative study of 0.2% and 0.12% digluconate chlorhexidine mouth rinses on the level of dental staining and gingival indices. *Dent Res J (Isfahan)*. 2012;9(3):305-8.

Nascimento AP, Tanomaru JM, Matoba-Junior F, Watanabe E, Tanomaru-Filho M, Ito IY. Maximum inhibitory dilution of mouthwashes containing chlorhexidine and polyhexamethylene biguanide against salivary *Staphylococcus aureus*. *J Appl Oral Sci*. 2008;16(5):336-9.

Nicolosi LN, del Carmen Rubio M, Martinez CD, Gonzalez NN, Cruz ME. Effect of oral hygiene and 0.12% chlorhexidine gluconate oral rinse in preventing ventilator-associated pneumonia after cardiovascular surgery. *Respir Care*. 2014;59(4):504-9.

Noroozi AR, Philbert RF. Modern concepts in understanding and management of the "dry socket" syndrome: comprehensive review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;107(1):30-5.

Osso D, Kanani N. Antiseptic mouth rinses: an update on comparative effectiveness, risks and recommendations. *J Dent Hyg.* 2013;87(1):10-8.

Pedrazzi V, Escobar EC, Cortelli JR, Haas AN, Andrade AK, Pannuti CM, et al. Antimicrobial mouthrinse use as an adjunct method in peri-implant biofilm control. *Braz Oral Res.* 2014;28 Spec.

Piecuch JF. What strategies are helpful in the operative management of third molars? *J Oral Maxillofac Surg.* 2012;70(9 Suppl 1):S25-32.

Price R, MacLennan G, Glen J, Collaboration S. Selective digestive or oropharyngeal decontamination and topical oropharyngeal chlorhexidine for prevention of death in general intensive care: systematic review and network meta-analysis. *BMJ.* 2014;348:g2197.

Ramage G, Culshaw S, Jones B, Williams C. Are we any closer to beating the biofilm: novel methods of biofilm control. *Curr Opin Infect Dis.* 2010;23(6):560-6.

Rath SK, Singh M. Comparative clinical and microbiological efficacy of mouthwashes containing 0.2% and 0.12% chlorhexidine. *Dent Res J (Isfahan).* 2013;10(3):364-9.

Rethman MP, Beltrán-Aguilar ED, Billings RJ, Hujoel PP, Katz BP, Milgrom P, et al. Nonfluoride caries-preventive agents: executive summary of evidence-based clinical recommendations. *J Am Dent Assoc.* 2011;142(9):1065-71.

Rohrer N, Widmer AF, Waltimo T, Kulik EM, Weiger R, Elisabeth Filipuzzi-Jenny M, et al. Antimicrobial efficacy of 3 oral antiseptics containing octenidine, polyhexamethylene biguanide, or Citroxx: can chlorhexidine be replaced? *infection control and hospital epidemiology.* 2010;31(7):733-9.

Rosin M^a, Welk A, Bernhardt O, Ruhnau M, Pitten FA, Kocher T, et al. Effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse on bacterial counts and plaque. *J Clin Periodontol.* 2001;28(12):1121-6.

Rosin M^b, Welk A, Kocher T, Majic-Todt A, Kramer A, Pitten FA. The effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse compared to an essential oil rinse and a chlorhexidine rinse on bacterial counts and 4-day plaque regrowth. *J Clin Periodontol.* 2002;29(5):392-9.

Schiott CR, Løe H, Jensen SB, Kilian M, Davies RM, Glavind K. The effect of chlorhexidine mouthrinses on the human oral flora. *J Periodontal Res.* 1970;5(2):84-9.

Sheikh S, Gupta D, Pallagatti S, Singla I, Gupta R, Goel V. Role of topical drugs in treatment of oral mucosal diseases. A literature review. *N Y State Dent J.* 2013;79(6):58-64.

Shepherd J. Pre-operative chlorhexidine mouth rinses reduce the incidence of dry socket. *Evid Based Dent.* 2007;8(2):43.

Shi Z, Xie H, Wang P, Zhang Q, Wu Y, Chen E, et al. Oral hygiene care for critically ill patients to prevent ventilator-associated pneumonia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;8:Cd008367.

Tanzer JM, Slee AM, Kamay BA. Structural requirements of guanide, biguanide, and bisbiguanide agents for antiplaque activity. *Antimicrob Agents Chemother.* 1977;12(6):721-9.

Teles RP, Teles FR. Antimicrobial agents used in the control of periodontal biofilms: effective adjuncts to mechanical plaque control? *Braz Oral Res.* 2009;23 Suppl 1:39-48.

Todkar R, Sheikh S, Byakod G, Muglikar S. Efficacy of chlorhexidine mouthrinses with and without alcohol - a clinical study. *Oral Health Prev Dent.* 2012;10(3):291-6.

Togelius J, Kristoffersson K, Anderson H, Bratthall D. *Streptococcus mutans* in saliva: intraindividual variations and relation to the number of colonized sites. *Acta Odontol Scand.* 1984;42(3):157-63.

Tomás I, Cousido M, García-Caballero L, Rubido S, Limeres J, Diz P. Substantivity of a single chlorhexidine mouthwash on salivary flora: influence of intrinsic and extrinsic factors. *Journal of dentistry.* 2010;38(7):541-6.

Tuna A, Delilbasi C, Arslan A, Gurol Y, Tazegun Tekkanat Z. Do antibacterial mouthrinses affect bacteraemia in third molar surgery? A pilot study. *Aust Dent J.* 2012;57(4):435-9.

Uludamar A, Özyeşil AG, Ozkan YK. Clinical and microbiological efficacy of three different treatment methods in the management of denture stomatitis. *Gerodontology.* 2011;28(2):104-10.

Van Strydonck DA, Slot DE, Van der Velden U, Van der Weijden F. Effect of a chlorhexidine mouthrinse on plaque, gingival inflammation and staining in gingivitis patients: a systematic review. *J Clin Periodontol.* 2012;39(11):1042-55.

Varoni E, Tarce M, Lodi G, Carrassi A. Chlorhexidine (CHX) in dentistry: state of the art. *Minerva Stomatol.* 2012;61(9):399-419.

Weinberger BW. An introduction to the history of dentistry. St. Louis: C.V. Mosby Co.; 1948.

Zanatta FB, Antoniazzi RP, Rösing CK. The effect of 0.12% chlorhexidine gluconate rinsing on previously plaque-free and plaque-covered surfaces: a randomized, controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2007;78(11):2127-34.

9. NORMAS ADOTADAS

MPCAS – Elaboração e formatação do Trabalho de Conclusão de Curso. UNIVÁS. Disponível em: http://www.univas.edu.br/mpcas/docs/normas_format.pdf. Acesso em 22/05/2015.

CONSORT – Transparenting Report of Trials. Disponível em: <http://www.consort-statement.org/>. Acesso em 22/05/2015.

APÊNDICE

Apêndice 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA

SEXO: M F

DATA NASCIMENTO: ____/____/____

ENDEREÇO: _____

BAIRRO: _____

CIDADE: _____

CEP: _____ TELEFONE: _____

DADOS SOBRE A PESQUISA

TÍTULO DA PESQUISA: “Avaliação *in vivo* e *in vitro* da atividade antimicrobiana de dois antissépticos bucais”.

PESQUISADORA: FERNANND A SEBBA DE SOUZA

CARGO: Cirurgiã - Dentista

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL DE ODONTOLOGIA MG 32824

Eu, FERNANDA SEBBA DE SOUZA, discente do curso de Mestrado em Ciências Aplicadas à Saúde juntamente com as professoras Dra. Daniela Francescato Veiga e Dra. Ana Beatriz Alkmim Teixeira Loyola, docentes da Universidade do Vale do Sapucaí (Univás), Pouso Alegre, MG, estamos realizando uma pesquisa intitulada: “Avaliação *in vivo* e *in vitro* da atividade antimicrobiana de dois antissépticos bucais”, com o objetivo de comparar *in vivo* a atividade antimicrobiana dos antissépticos bucais clorexidina e polihexametileno na cavidade oral, verificando a efetividade do tratamento para o paciente e para a sociedade.

A realização deste estudo permitirá disponibilizar na rotina profissional opções de uso em pacientes submetidos à cirurgia (minimizar os riscos de infecção cirúrgica), na prevenção e tratamento de doenças periodontais, cárie e no controle de pacientes internados.

O estudo será feito através da coleta da saliva do paciente antes e após bochechar o enxaguatório.

Para a realização desta pesquisa, o (a) senhor (a) não será identificado (a) pelo seu nome. Será mantido o anonimato, assim, como o sigilo das informações obtidas e será respeitada a sua privacidade e a livre decisão de querer ou não participar do estudo, podendo-se retirar dele em qualquer momento, bastando par isso expressar a sua vontade.

A realização deste estudo não lhe trará consequências físicas (não causa dor e não machuca) ou psicológicas.

Em caso de dúvidas e se quiser ser mais bem informado (a) poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Ciências da Saúde “Dr. José Antônio Garcia Coutinho”, que é o órgão que irá controlar a pesquisa do ponto de vista ético. O CEP funciona de segunda a sexta feira, na Avenida Prefeito Tuany Toledo, 470, Fátima I. Tel. (35) 3449-9271; Telefax: (35) 3449-9211. CEP 37550-000 POUSO ALEGRE-MG.

O senhor (a) concorda em participar deste estudo? Em caso afirmativo, deverá ler a “Declaração”, que segue abaixo, assinando-a no local próprio ou imprimindo a impressão digital do polegar direito.

DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que fui informado (a) sobre esta pesquisa, estou ciente dos seus objetivos e relevância, assim como me foram retirados todas as dúvidas.

Mediante isto, concordo livremente em participar dela, fornecendo as informações necessárias. Estou também ciente que, se quiser e em qualquer momento, poderei retirar o meu consentimento deste estudo.

Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Para tanto, lavro minha assinatura em duas vias deste documento, ficando uma delas comigo e a outra com o pesquisador (a).

Pouso Alegre, _____, _____ 20_____

Assinatura do paciente/representante legal

Assinatura: _____

Para o responsável (pesquisador) do projeto:

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Pesquisador (a): FERNANDA SEBBA DE SOUZA

Assinatura: _____

ANEXOS

Anexo 1

ClinicalTrials.gov PRS
Protocol Registration and Results System



ClinicalTrials.gov Protocol and Results Registration System (PRS) Receipt
Release Date: 03/26/2015

Antimicrobial Activity of Two Mouthwashes

This study has been completed.

Sponsor:	Universidade do Vale do Sapucaí
Collaborators:	
Information provided by (Responsible Party):	Fernanda Sebba de Souza, Universidade do Vale do Sapucaí
ClinicalTrials.gov Identifier:	NCT02376178

FACULDADE DE CIÊNCIAS
MÉDICAS DR. JOSÉ ANTÔNIO
GARCIA COUTINHO -



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação In-vivo e In-vitro da atividade antimicrobiana de dois antissépticos bucais.

Pesquisador: femanda sebbá de souza

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 17786613.8.0000.5102

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO DE ENSINO SUPERIOR DO VALE DO SAPUCAI

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DA NOTIFICAÇÃO

Tipo de Notificação: Envio de Relatório Parcial

Detalhe:

Justificativa: Devido a grande perda que estava acontecendo durante a pesquisa (pacientes não

Data do Envio: 19/12/2014

Situação da Notificação: Parecer Consubstanciado Emitido

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 933.867

Data da Relatoria: 18/01/2015

Apresentação da Notificação:

Projeto já aprovado.

Objetivo da Notificação:

Projeto já aprovado.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Projeto já aprovado.

Comentários e Considerações sobre a Notificação:

Ciente da mudança do sujeito da pesquisa e manutenção de toda a metodologia proposta no projeto inicialmente aprovado.

Endereço: Avenida Prefeito Tuany Toledo, 470
Bairro: Campus Fátima I **CEP:** 37.550-000
UF: MG **Município:** POUSO ALEGRE
Telefone: (35)3440-2100 **Fax:** (35)3440-2300 **E-mail:** pesquisa@unives.edu.br

FAÇULDADE DE CIÊNCIAS
MÉDICAS DR. JOSÉ ANTÔNIO
GARCIA COUTINHO -



Continuação do Parecer: 033.067

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Projeto já aprovado.

Recomendações:

Projeto já aprovado.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto já aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

POUSO ALEGRE, 16 de Janeiro de 2015

Assinado por:
Ronaldo Júlio Baganha
(Coordenador)

Endereço: Avenida Prefeito Tuany Toledo, 470
Bairro: Campus Fátima I CEP: 37.550-000
UF: MG Município: POUSO ALEGRE
Telefone: (35)3440-2199 Fax: (35)3440-2300 E-mail: pesquisa@univas.edu.br

FONTES CONSULTADAS

DeCS - Descritores em Ciências da Saúde. Disponível em: <http://www.decs.bvs.br>

Tufano D. Michaelis - Guia Prático da nova ortografia: saiba o que mudou na ortografia brasileira. 1ª ed. São Paulo: Melhoramentos; 2008. 32p.

U.S. National Library of Medicine - National Institutes of Health. Medical Subject Headings. Disponível em: <http://www.nlm.nih.gov/mesh>

NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eighth Edition. NCCLS document. CLSI M2-A8 (ISBN 1-56238-485-6).

Siegel, S. e Castellan JR, N.J. Estatística não paramétrica para ciências do comportamento. Segunda edição – Artmed – Porto Alegre – 448p. 2006.

De Lorenzo. Microbiologia, ecologia e imunologia aplicadas à clínica odontológica. Ed. Atheneu. 1ª Edição. 2010.

Jorge, AOC. Microbiologia e Imunologia Oral. Ed.Elsevier. 1ª Edição. 2012.

Pereira, TA; Montero, EFS. Terminologia DeCS e as novas regras ortográficas da língua portuguesa: orientações para uma atualização. Acta Cir. Bras. [serial on the Internet]. 2012 July [cited 2015 Apr 12] ; 27(7): 509-514. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-86502012000700014&lng=en.