CELENE MARQUES BUSSADORI

Avaliação de enxaguatórios bucais na atividade biológica do biofilme formado em braquetes ortodônticos

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interunidades Bioengenharia - Escola de Engenharia de São Carlos / Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto / Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em Ciências.

Área de Concentração: Bioengenharia

Orientadora: Prof^a. Ana Maria Minarelli Gaspar

Co-orientadora: Prof^a. Carla Raquel Fontana

São Carlos
2013

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO,
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS
DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Bussadori, Celene Marques.

B981a Avaliação de enxaguatórios bucais na atividade biológica do biofilme formado em braquetes ortodônticos. / Celene Marques Bussadori; orientadora Ana Maria Minarelli Gaspar; co-orientadora Carla Raquel Fontana. São Carlos, 2013.
94 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação Interunidades Bioengenharia e Área de Concentração em Bioengenharia -- Escola de Engenharia de São Carlos; Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo, 2013.

1. Biofilmes. 2. Antissépticos bucais. 3. Bactérias. 4. Braquetes ortodônticos. 5. Saúde bucal. I. Título.

CDD

Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia
EESC / FMRP / IQSC

CELENE MARQUES BUSSADORI

Título: "Avaliação de enxaguatórios bucais na atividade biológica do biofilme formado em braquetes ortodônticos".

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS
- GRADUAÇÃO INTERUNIDADES BIOENGENHARIA -
EESC/FMRP/IQSC DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM
CIÊNCIAS NA ÁREA DE BIOENGENHARIA.

Aprovada em: 25 / 09 / 2013

PROF^a. DR^a. ANA MARIA MINARELLI
GASPAR (ORIENTADORA)

Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita
Filho" - UNESP

Resultado: APROVADA

Assinatura: [assinatura]

PROF. DR. LUIS VITOR SILVA DO
SACRAMENTO

Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita
Filho" - UNESP

Resultado: APROVADA

Assinatura: [assinatura]

PROF^a. DR^a. TICIANA SIDORENKO DE
OLIVEIRA CAPOTE

Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita
Filho" - UNESP

Resultado: Aprovada

Assinatura: Ticiana Soli O Capote

Ao meu pai, Aristides Bussadori, que sempre me incentivou a aprender e também me ensinou o valor do conhecimento: “Independente da situação, ninguém poderá tirá-lo de você; ele é seu e sempre estará com você.”

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo amor e bênçãos que derrama em minha vida.

À minha família, Caio, Bruno, Natália e Fernando, que sempre estiveram ao meu lado, com muito amor e união, em todas as situações boas e ruins. E é por eles que sempre sigo lutando. Por isso somos uma família.

À minha mais que orientadora, Ana Maria Minarelli Gaspar, que sempre acreditou, ensinou, orientou e, acima de toda a competência profissional e intelectual, foi minha amiga.

Ao Prof. Dr. Luis Vitor Silva do Sacramento, por todo empenho, colaboração e competência a mim dispensados.

À Prof. Dra. Marisa Veiga Capela, pela pronta ajuda que me deu, pelo carinho e profissionalismo dispensados.

À Prof. Dra. Carla Raquel Fontana pelo apoio e orientação dispensados.

À Dra. Elaine Toscano por todo apoio, ajuda e ensino, mesmo diante de todas as dificuldades enfrentadas.

À minha querida amiga Regina Célia Vendramini, que sempre me ajuda em tudo e é uma irmã de coração.

Aos funcionários, amigos e familiares que, de alguma forma, colaboraram para a viabilidade desse projeto.

“Valeu a pena? Tudo vale a pena
Se a alma não é pequena.
Quem quer passar além do Bojador
Tem que passar além da dor.
Deus ao mar o perigo e o abismo deu,
Mas nele é que espelhou o céu.”
Fernando Pessoa (1996, p. 57)

RESUMO

BUSSADORI, C. M. **Avaliação de enxaguatórios bucais na atividade biológica do biofilme formado em braquetes ortodônticos**. 2013. 88 f. Dissertação (Mestrado)- Programa de Pós-graduação Interunidades Bioengenharia, Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.

Na Odontologia, existe uma grande preocupação com a formação de placa bacteriana ou biofilme devido ao seu potencial cariogênico. Essa atenção se estende à ortodontia, devido ao acúmulo de biofilme formado nos aparelhos ortodônticos, tanto nos aparelhos removíveis quanto nos aparelhos fixos. É muito comum a presença de lesões brancas após a remoção dos bráquetes, em torno de 50 a 75% dos pacientes, provocadas pela presença do biofilme. É necessário um controle químico e mecânico rigoroso, a fim de se evitar alterações irreversíveis nos dentes e periodonto. O controle mecânico se dá pela escovação adequada, pelo correto uso de fio dental e pela frequência desses hábitos, além, claro, de um acompanhamento profissional periódico. O controle químico pode ser viabilizado pelo uso de enxaguatórios bucais, nos quais residem alguns efeitos indesejáveis e contraindicações relacionadas ao uso e à idade dos pacientes. Este estudo tem como objetivo avaliar comparativamente dois enxaguatórios bucais, um de natureza comercial (Cepacol[®]), e outro não comercial, elaborado com extratos hidroalcoólicos das plantas *Nasturtium officinale* (agrião), *Rosmarinus offinalis* (alecrim), *Tabebuia impetiginosa* (ipê roxo), *Achillea millefolium* (mil folhas) e *Plantago major* (tanchagem), desenvolvido na Faculdade de Ciências Farmacêuticas/UNESP Araraquara. Foram selecionados 40 pacientes, jovens e adultos, entre 18 e 45 anos, usuários de aparelho ortodôntico corretivo (fixo), divididos em dois grupos, o grupo do Cepacol e o grupo do Enxaguatório-base de plantas. Foram coletadas amostras nos períodos de 0, 7, 15 e 21 dias e analisadas observando-se as Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de cada amostra. Houve uma queda significativa da quantidade de bactérias após o uso do Enxaguatório à base de plantas, revelando um produto de extrema utilidade no auxílio do controle do biofilme bacteriano nas superfícies dentárias.

Palavras-chave: Biofilmes. Antissépticos bucais. Bactérias. Braquetes ortodônticos. Saúde bucal.

ABSTRACT

BUSSADORI, C. M. **Evaluation of oral Rinses in biological activity of biofilm formed in orthodontic brackets**. 2013. 88 f. Dissertação (Mestrado)- Programa de Pós-graduação Interunidades Bioengenharia, Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.

In dentistry, there is a great concern with the formation of plaque or biofilm, due to its cariogenic potential. This attention extends to orthodontics due to the accumulation of biofilm on orthodontic appliances, removable appliances as much in the brackets. It is very common the presence of white spots after removal of the brackets, around 50 to 75% of patients, which are caused by biofilms. It takes a rigorous mechanical and chemical control in order to avoid irreversible changes in the teeth and periodontium. The mechanical control is by proper brushing, correct flossing and also the frequency of these habits, besides, of course, a periodical professional monitoring. Chemical control can be achieved by the use of mouthwashes, home to some undesirable effects and contraindications related to the use and age of patients. This study aimed to assess two mouthwashes, a commercial type (Cepacol®) and other non-commercial, made with hydroalcoholic extracts of plants *Nasturtium officinale* (watercress), *offinalis Rosmarinus* (rosemary), *Tabebuia impetiginosa* (purple ipe), *Achillea millefolium* (thousand leaves) and *Plantago major* (plantain), developed at the Faculty of Pharmaceutical Sciences / UNESP Araraquara. We selected 40 patients, young and adults between 18 and 45 years, users of orthodontic appliance (fixed), divided into two groups, the Cepacol group and the group of herbal mouthwash. Samples were collected during periods of 0, 7, 15 and 21 days and analyzed by observing the Colony Forming Units (CFU) of each sample. There was a significant decrease in the amount of bacteria after using herbal mouthwash, revealing a product of the utmost use in aiding the control of bacterial biofilms on tooth surfaces.

Keywords: Biofilms. Mouthwash. Oral health. Bactéria. Orthodontic brackets.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Nasturtium officinale</i>	38
Figura 2 - <i>Rosmarinus offinalis</i>	39
Figura 3 - <i>Tabebuia impetiginosa</i>	40
Figura 4 - <i>Achillea millefolium</i>	42
Figura 5 - <i>Plantago major</i>	44
Figura 6 - Remoção e recolocação de bráquetes.....	50
Figura 7 - Demonstração da divisão da arcada em quadrantes.....	50
Figura 8 - Preparo dos microtubos com solução de BHI.....	52
Figura 9 - Desagregação do biofilme bacteriano no Vortex.	53
Figura 10 - Preparação das placas de Petri com ágar sangue enriquecido.	54
Figura 11 - Distribuição uniforme das amostras diluídas em Placa de Petri	54
Figura 12 - Placas de Petri inoculadas após incubação de 48h em estufa a 36± 1°C	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulação do enxaguatório bucal	48
Tabela 2 - Distribuição dos pacientes quanto ao tipo de enxaguatório a ser utilizado no estudo	49
Tabela 3 - Planejamento do estudo clínico a ser conduzido considerando-se os grupos de pacientes voluntários para o ensaio com os enxaguatórios	51

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Relação de equipamentos utilizados durante a pesquisa	45
Quadro 2 - Relação de materiais utilizados durante a pesquisa	45

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Distribuição das UFC nos pacientes nos grupos A e B (Cepacol) ao longo de 4 semanas.....	57
Gráfico 2 - Comparação entre pacientes no tempo zero.....	57
Gráfico 3 - Unidades Formadoras de Colônias (UFC) no tempo I – 7 dias	58
Gráfico 4 - Unidades Formadoras de Colônias (UFC) no tempo II – 14 dias	58
Fonte: Elaborado pelo autor.....	58
Gráfico 5 - Unidades Formadoras de Colônias (UFC) no tempo III – 21 dias	59
Gráfico 6 - Comportamento das UFC nos grupos A e B (Cepacol) comparando-se a primeira e segunda semanas de uso do enxaguatório.....	59
Gráfico 7 - Comportamento das UFC nos grupos A e B (Cepacol) comparando-se a primeira e terceira semanas de uso do enxaguatório.....	60
Gráfico 8 - Comportamento das UFC nos grupos A e B (Cepacol) comparando-se a primeira e quarta semanas de uso do enxaguatório	60
Gráfico 9 - Distribuição de pacientes com objeções quanto ao sabor do Enxaguatório à base de ervas.....	61
Gráfico 10 - Demonstração do comportamento das UFC ao longo de 4 semanas de uso do enxaguatório à base de ervas	62
Fonte: Elaborado pelo autor.....	62
Gráfico 11 - Unidades Formadoras de Colônias (UFC) no tempo 0 – zero dias	62
Gráfico 12 - Unidades Formadoras de Colônias (UFC) no tempo I – 7 dias	63
Gráfico 13 - Unidades Formadoras de Colônias (UFC) no tempo II – 14 dias	63
Gráfico 14 - Unidades Formadoras de Colônias (UFC) no tempo III – 21 dias	64
Gráfico 15 - Comportamento das UFC no grupo C (Enxaguatório à base de ervas) comparando-se a primeira e segunda semanas de uso do enxaguatório	64
Gráfico 16 - Comportamento das UFC no grupo C(Enxaguatório à base de plantas), comparando-se a primeira e terceira semanas de uso do enxaguatório.....	65
Gráfico 17 - Comportamento das UFC no grupo C (Enxaguatório à base de plantas), comparando-se a primeira e quarta semanas de uso do enxaguatório.....	65
Gráfico 18 - Demonstração do comportamento das UFC no Grupo D após 4 semanas de uso do enxaguatório à base de ervas, comparadas à terceira semana	67

Gráfico 19 - Comportamento das UFC, comparando-se o Cepacol e o Enxaguatório à base de ervas, semana a semana	68
Gráfico 20 - Demonstração do comportamento das UFC quando comparados o enxaguatório à base de ervas e o Cepacol	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

aC	antes de Cristo
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BHI	Brain Heart Infusion
CCP	Cloreto de Cetilpiridínio
CFU	Colony Forming Units
CHX	Clorexidina
CIPLAN	Comissão Interministerial de Planejamento
cm	Centímetro
DO	Densidade Óptica
EPI	Equipamento de Proteção Individual
GTF	Glicosiltransferases
m	Metro
mm	Milímetro
OMS	Organização Mundial da Saúde
pH	Potencial Hidrogeniônico
PTE	Politetrafluoretileno
PTFE	politetrafluoretileno
S. mutans	Streptococos Mutans
S. sanguis	Treptococos Sanguis
TSA	Tryptic Soy Agar
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
UNESCO	United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization.
UNESP	Universidade Estadual Paulista,
µL	Microlitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVO	19
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
3.1 Biofilme Bacteriano.....	20
3.2 A Cárie Como Doença Infecciosa	22
3.3 A Ortodontia e a Periodontia.....	24
3.4 A Ortodontia e a Prevenção	26
3.5 Enxaguatórios	27
3.6 Agentes Químicos de Controle Bacteriano.....	29
3.6.1 Agentes catiônicos.....	29
3.6.1.1 Clorexidina.....	29
3.6.1.2 Cloreto de cetilpiridínio	30
3.6.2 Agentes não iônicos	32
3.6.2.1 Triclosan	32
3.6.3 Alógenos	33
3.6.3.1 Flúor	33
3.6.4 Produtos naturais.....	33
3.6.4.1 - Óleos essenciais	34
3.7 Plantas Medicinais	35
3.7.1 <i>Nasturtium officinale</i>	37
3.7.2 <i>Rosmarinus offinalis</i>	38
3.7.3 <i>Tabepuia impetiginosa</i>	40
3.7.4 <i>Achillea millefolium</i>	41
3.7.5 <i>Plantago major</i>	43
4 MATERIAL E MÉTODO.....	45
4.1 Material.....	45
4.2 Métodos.....	46
4.2.1 Aprovação pelo Comitê de Ética.....	46
4.2.2 Enxaguatórios	46
4.2.3 Preparo do material vegetal	46

4.2.4 Formulação do enxaguatório	48
4.3 Amostras Clínicas	48
4.4 Análise Microbiológica	52
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
5.1 Resultados	56
5.1.1 Análise estatística	68
6 CONCLUSÕES	70
REFERÊNCIAS.....	71
ANEXO B - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES	93

1 INTRODUÇÃO

Muitas plantas são utilizadas e estudadas no mundo todo, ocorrendo um grande consumo de produtos fitoterápicos, devido à redução dos custos e dos efeitos colaterais destas drogas em relação às drogas convencionais, colocando a Fitoterapia em lugar de destaque na medicina nos últimos anos (BUCHAUL, 2001).

Em vários países do mundo, os fitoterápicos são comercializados como suplementos alimentares, juntamente com as vitaminas e não necessitam de prescrição, sendo vendidos livremente em supermercados e drogarias, como nos Estados Unidos, Bélgica, Reino Unido, Dinamarca (FISHER; WAARD, 1994). Já em países como a Alemanha, Itália, França e Portugal os fitoterápicos são regulamentados por leis, como os medicamentos, e seguem normas e regras de manufatura e comercialização (BENZI; CECI, 1997; KELLER, 1991). No Brasil, a Fitoterapia faz parte do sistema biomédico de saúde desde 1995 e regulado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em 2000. A Organização Mundial da Saúde (OMS) reconheceu em 1976 o potencial dos fitoterápicos e desde 1977 vem recomendando aos países estudos nessa área (Resolução WHA 30.49). Em 1978, pela Resolução WHA 31.33, recomendou-se aos países uma padronização das plantas medicinais com relação à segurança, eficácia, identificação, purificação e produção, incentivando investimentos públicos em plantas medicinais, e a Fitoterapia passou a ter um importante papel na saúde, especialmente nos países em desenvolvimento (AKERELE, 1988). No Brasil, conforme Oliveira (1997), a Fitoterapia foi implantada nos Serviços de Saúde e nas Universidades Federais em 1988, pela Resolução 8/88 elaborada pela Comissão Interministerial de Planejamento (CIPLAN). Os fitoterápicos são considerados remédios e regulamentados pela ANVISA, que se baseia nos critérios de regulamentação praticados na Europa.

O mercado de fitoterápicos movimenta 22 bilhões de dólares no mundo (YUNES; PEDROSA; YURI, 2001) e, no Brasil, esse mercado gira entre 700 milhões e 1 bilhão de dólares anuais (CALIXTO, 2000). Três quartos da biodiversidade do planeta encontram-se distribuídas entre 17 países, e o Brasil está no topo dessa lista, com cerca de 22% das espécies biológicas do mundo, catalogadas pela Organização das Nações Unidas para a Educação, Ciência e Cultura (UNESCO)

(DRUMOND et al, 2004; MARQUES, 2000). Na Floresta Amazônica, temos cerca de 55 mil espécies de plantas, das quais 10 mil podem apresentar propriedades medicinais (BARATA; QUEIROZ, 1995). Apesar de toda essa biodiversidade, o Brasil não se destaca no mercado mundial de fitoterápicos, porém vem desenvolvendo grande número de pesquisas nessa área (YUNES; PEDROSA; YURI, 2001). A ideia de que produtos naturais não fazem mal faz parte da cultura brasileira (LEITE, 2000), havendo, portanto, um mercado informal que pode representar um perigo à saúde da população (RODRIGUES; GUEDES, 2006), uma vez que, como qualquer outro medicamento, existem reações adversas, intoxicações e efeitos indesejados (AWASTHY et al., 2000; SETTTHEETHAM; ISHIDA, 1995).

Cerca de 25% dos medicamentos prescritos no mundo todo são de origem vegetal (OMS, 1991; RATES, 2001), com finalidades diversas, inclusive com indicação na saúde bucal. Existe na Odontologia uma preocupação com a formação do biofilme bacteriano devido ao seu potencial cariogênico, cujo controle é extremamente importante não só para prevenção, como também para o tratamento da cárie, da doença periodontal e para a manutenção da saúde bucal. Esse controle pode se dar pelos métodos mecânicos, como escovação e uso de fio ou fita dental, ou pelo método químico, com o uso de substâncias químicas, como antibióticos, compostos quaternários de amônio, acetato e gluconato de clorexidina (OLIVEIRA et al., 1998).

Entre os métodos químicos, encontramos os enxaguatórios bucais, que desempenham papel importante no controle do biofilme bacteriano. Entre eles, a clorexidina destaca-se como o antisséptico mais eficaz (SEGURA, 1999), mas apresenta efeitos adversos não desejáveis a longo prazo (REY, 1999). Os enxaguatórios à base de cloreto de cetilpiridinium são os mais escolhidos baseados em 3 fatores: prescrição do dentista, preço e propriedades médicas (MOREIRA, 2002). O Cepacol foi o enxaguatório mais utilizado nos hospitais, segundo empresa de consultoria em marketing de venda de produtos farmacêuticos dos Estados Unidos (IMSHealth). Baseando-se nestes dados, o enxaguatório eleito para o trabalho em questão foi o Cepacol.

O uso de plantas medicinais vem sido incentivado e investigado no auxílio ao tratamento de doenças periodontais e profilaxia de rotina (WILLERSHAUSEN; GRUBER; HAMM, 1994). No Brasil, os dados epidemiológicos realizados nos últimos 10 anos mostraram que a prevalência média de doença (gingival ou

periodontal) foi de 91,4%, sendo que a maioria dos indivíduos examinados tinha menos de 20 anos de idade (CHAMBRONE; LIMA; CHAMBRONE, 2008). Extratos de plantas e seus compostos isolados têm demonstrado potencial antibacteriano contra vários patógenos orais (AMBROSIO et al., 2008; CUNHA et al., 2007; PORTO et al., 2009). Os produtos à base de plantas medicinais são uma alternativa bem interessante do ponto de vista econômico, facilitando o acesso da população a terapias alternativas que possam efetivamente combater o controle do biofilme bacteriano e, conseqüentemente, a formação de cáries e doença periodontal.

O desenvolvimento de um enxaguatório à base de plantas vem ao encontro dessas necessidades, uma vez que o uso de plantas já está difundido entre a população, necessitando intensificar as pesquisas sobre as atividades antibacterianas, antifúngicas, antissépticas, cicatrizantes e imunodepressoras dessas plantas medicinais, visando facilitar o acesso da população a uma higiene oral satisfatória e efetiva.

2 OBJETIVO

Esse estudo teve como objetivo avaliar comparativamente as possíveis ações terapêuticas de um enxaguatório bucal não comercial contendo extratos hidroalcoólicos das espécies *Nasturtium officinale*, *Rosmarinus officinalis*, *Tabebuia impetiginosa*, *Achillea millefolium* e *Plantago major* e o enxaguatório comercial Cepacol[®], à base de Cloreto de Cetilperidínio, na formação do biofilme bacteriano em braquetes de indivíduos usuários de aparelhos ortodônticos fixos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O ser humano tem, no seu meio ambiente, grande quantidade e diversidade de micro-organismos, os quais podem ser patogênicos ou viver em equilíbrio com o seu hospedeiro. Com relação à cavidade oral, essa microbiota organiza-se nos primeiros dias de vida, estabilizando-se ao longo da infância. Contudo a relação entre a superfície dental e a gengiva, somada ao fluxo salivar, favorece o acúmulo destes micro-organismos nessas superfícies, ocasionando grandes depósitos bacterianos, também conhecidos como placa bacteriana, placa dental ou biofilme (LANG et al., 1997; MARSH; NYVAD, 2003). O biofilme dental é formado através de um processo dinâmico de interações bacterianas que tendem a se estabilizar com o tempo, ocorrendo assim uma homeostase bacteriana (MARSH, 1989), na qual as flutuações de pH acontecem mesmo em repouso, causando alteração do fluído do biofilme. Esse distúrbio causa variações no equilíbrio da interface dente-superfície, causando perdas e ganhos intermitentes de minerais na superfície dental. A desmineralização dental só ocorre na presença de micro-organismos patogênicos (MANJI et al., 1991).

Um dos desafios da Odontologia é eliminar ou reduzir a quantidade de biofilme nas superfícies dentárias, o que se torna relevante quando o indivíduo é usuário de aparelho ortodôntico fixo, devido ao acúmulo de biofilme ao redor dos braquetes ortodônticos e aos danos que esse acúmulo pode causar.

3.1 Biofilme Bacteriano

Segundo MARSH (1992), o biofilme bacteriano pode ser definido como uma película aderida à superfície dental, não calcificada, que resiste à remoção pelo fluxo salivar, podendo variar segundo as condições intrínsecas ou extrínsecas do indivíduo; apresenta uma organização estrutural e funcional, onde há uma sequência de eventos, com estágios bem definidos:

- a) Formação de película adquirida;
- b) Interações físico-químicas entre as células bacterianas e o hospedeiro;

- c) Multiplicação microbiana;
- d) Produção de polímeros;
- e) Recrutamento de novas espécies para o biofilme através de interações interbacterianas;
- f) Formação do biofilme maduro.

O biofilme bacteriano está entre os fatores de virulência associado à progressão da cárie dentária e às doenças periodontais (BOWEN; KOO, 2011; LILJEMARK; BLOOMQUIST, 1996), e também apresenta, na sua constituição, micro-organismos associados ao estado de saúde do hospedeiro, como o *Streptococcus sanguis*, uma das primeiras bactérias presentes na microbiota a aderir seletivamente e colonizar a superfície dental (CAUFIELD et al., 2000). Esses colonizadores pioneiros são considerados benéficos ao hospedeiro, pois reduzem o risco de infecções, agindo como uma barreira contra a colonização por agentes exógenos patogênicos. Ocorre uma competição mais efetiva por nutrientes e sítios aos quais as bactérias podem aderir, produzindo substâncias com ação antimicrobiana, desfavoráveis a esses agentes (MARSH; NYVAD, 2003). Kreth, Merritt e Shi, (2005) citaram que, no pH ácido, ocorre a inibição do crescimento de *Streptococcus sanguis* (*S. sanguis*) e um aumento do crescimento do *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), indicando assim uma possível competição entre eles, devido à produção de substâncias por estas mesmas espécies que regulam o aumento e a diminuição das espécies competidoras, sendo que o *S. mutans* produz mutacinas, inibindo tanto o *S. sanguis* quanto outras espécies orais. O *S. sanguis* produz peróxido de hidrogênio, reduzindo o crescimento de *S. mutans*. A produção de substâncias inibitórias pelas espécies competidoras é um fator determinante na composição da microbiota da placa (MARSH, 1994), ocorrendo inclusive benefícios ao hospedeiro (MARSH; NYVAD, 2003). Agentes antimicrobianos com ação específica sobre os microrganismos patogênicos vêm sendo pesquisados, para que não haja grandes alterações na microbiota bucal (RUKAYADI, HWANG, 2006).

3.2 A Cárie Como Doença Infecciosa

Segundo a Organização Mundial de Saúde, a cárie é a doença crônica de maior incidência na espécie humana e constitui o maior problema de saúde nos países industrializados. Sua prevalência em crianças em idade escolar é de 60-90% (LOESCHE, 1986) e atinge também a maioria dos adultos. Nos países em desenvolvimento, vem ganhando destaque devido ao aumento do consumo de açúcar e à exposição inadequada aos fluoretos. Já nos países desenvolvidos, os níveis de cárie diminuíram devido à política de saúde pública, à popularização de hábitos saudáveis e à mudança de estilo de vida, porém ainda não o suficiente para que ocorresse a erradicação da cárie dental (PETERSEN, et al., 2005).

A relação entre cárie e bactéria é relatada desde 1683, quando Antony Van Leeuwenhoek relatou a presença de “animálculos” vistos através de uma lente de aumento (LINDHE, 1992), em um material esbranquiçado, com consistência de manteiga, encontrado sobre seus dentes quando não estavam limpos. Em 1890, Miller (UZEDA, 2002) isolou, corou e identificou micro-organismos, relacionando-os à cárie, à doença periodontal e à infecção pulpar. Publicou um livro, “*Microorganisms of the Human Mouth*”, no qual dizia que os micro-organismos agiam sobre os carboidratos de uma dieta, produzindo ácidos que causavam a desmineralização do esmalte dentário, surgindo assim a “Teoria químico-parasitária”, dando uma nova ótica à doença cárie.

Clarke (1924) induziu a cárie artificial, verificando a presença constante do *S. mutans*, tanto em dentes desmineralizados quanto nas cavidades.

Segundo *World Health Organization* (WHO) (1982), a lesão dentária (destruição dos tecidos dentais duros) é causada por ácidos produzidos por micro-organismos acidogênicos que também compõem o biofilme bacteriano. Para que a doença se desenvolva, múltiplos fatores relativos ao hospedeiro são necessários, como produção de saliva (quantidade e qualidade), susceptibilidade do dente e fatores comportamentais, como qualidade da higiene bucal e composição/frequência da dieta, principalmente da dieta rica em sacarose (DE LORENZO; DE LORENZO, 2004).

Os principais agentes etiológicos da cárie dentária são os estreptococos do grupo *mutans* (LOESCHE, 1986), associados à patogenicidade do biofilme

bacteriano dental humano (YATSUDA et al., 2005). Mesmo com o avanço da tecnologia, *S. mutans* estão frequentemente associados à cárie dental avançada e às lesões iniciais em crianças (GROSS et al., 2010; TANNER et al., 2011). Ocorre também transmissão materna de *S. mutans* para os lactentes (KOHLER; BRATTHALL; KRASSE, 1983) que, segundo Ericson et al. (2012) pode ser controlada por dieta e estratégias antimicrobianas para a redução do *S. mutans* na saliva materna. Um estudo de quinze anos de Kohler e Andréen (2010) demonstrou a eficácia desse método.

Segundo De Lorenzo e De Lorenzo (2004) os *S. mutans* são cocos Gram positivos, anaeróbios, com células dispostas em cadeias ou isoladas, apresentando intensa acidogênese. Na presença de sacarose, ocorre a acidificação do biofilme, devido à fermentação da sacarose e à produção de grande quantidade de ácido láctico (LEME et al., 2006), causando uma queda do pH da placa. Essa queda mantém metabolicamente inativa a grande maioria das espécies microbianas contidas no biofilme, benéficas, até então em harmonia, facilitando a ação de espécies acidófilas ou acidúricas, que metabolizam e produzem ácido, mesmo em pH ácido (DE LORENZO; DE LORENZO, 2004). O *S. mutans* adere firmemente à superfície dos dentes na presença de sacarose, principalmente em superfície lisa, onde a fixação bacteriana é mais dificultosa, favorecendo a formação de cáries (ALALUUSUA et al., 1997). Essa aderência se dá principalmente pela ação de enzimas Glicosiltransferases (GTF), que sintetizam polímeros extracelulares de carboidratos, conhecidos como glicanas. Estas, especialmente as insolúveis em água, têm sido consideradas como os principais fatores de aderência e acúmulo de estreptococos cariogênicos sobre a superfície dental (YATSUDA et al., 2005), sendo, portanto, consideradas fundamentais para a virulência do *S. mutans* na patogênese da cárie dental (YAMASHITA et al., 1993). Essa aderência do *S. mutans* na superfície dental e posterior formação da placa cariogênica ocorre em duas etapas:

- a) aderência reversível da bactéria à película aderida presente normalmente na superfície do dente;
- b) acúmulo de microrganismos através do seu crescimento e produção de glicanas extracelulares e frutanos.

A gengiva saudável é representada por características clínicas específicas como: cor rosa pálido, superfície opaca e pontilhada com o aspecto de uma casca de laranja, consistência firme e resistente, forma e volume proporcional, contorno gengival com uma margem fina e terminando contra o dente como lâmina de faca, com uma profundidade de sulco que poderá variar de 1-3 mm, não devendo apresentar qualquer tipo de sangramento (GENCO; COHEN; GOLDMAN, 1997).

A gengivite ocorre quando há um desequilíbrio entre as espécies, causado principalmente pela sacarose. Os sinais e sintomas da gengivite variam de acordo com a localização e intensidade com que ela ocorre. As características clínicas comuns incluem presença do biofilme bacteriano, eritema, sangramento espontâneo ou provocado, edema, sensibilidade, inserção conjuntiva preservada, ausência de perda óssea, aumento do exsudato gengival, mudanças histológicas, porém com reversibilidade após a remoção do biofilme bacteriano (CATON et al., 1999, 1999a; FLEMMING, 1999; HOLMSTRUP, 1999; LINDHE et al., 1999; MARIOTTI, 1999). Na gengivite, o biofilme apresenta proporções semelhantes de espécies Gram-positivas e Gram-negativas, e também apresenta microrganismos anaeróbios (SOCRANSKY, HAFFAJEE, 1992).

A periodontite é uma lesão inflamatória infecciosa, que envolve os tecidos de suporte dos dentes, apresentando as mesmas características clínicas da gengivite, porém com perda de inserção conjuntiva, presença de bolsa periodontal e perda de osso alveolar (CATON et al., 1999, 1999a; FLEMMING, 1999; HOLMSTRUP, 1999; LINDHE et al., 1999; MARIOTTI, 1999).

3.3 A Ortodontia e a Periodontia

A redução da incidência da cárie dentária no século XX está relacionada principalmente à fluoretação das águas de abastecimento público, adição de flúor nos dentífricos, alterações no padrão de consumo de açúcar, melhora da higiene pessoal e um maior acesso à informação e à educação. Essa redução das taxas de cárie possui relação direta com a diminuição das perdas dos elementos dentários, que associado à mistura de biotipos, onde os filhos herdaram tamanho de arcada dentária de um dos pais e tamanho de dentes do outro, pode causar alterações na

adequação do espaço presente na arcada e gerar, por exemplo, apinhamentos dentários, problemas oclusais e estéticos, tão comuns na atualidade.

Os aparelhos ortodônticos permitem uma correção das más oclusões, e, quando comparados ao tratamento com aparelhos removíveis, os aparelhos fixos apresentam uma eficácia significativa, relativa a tempo e tratamento (TANG; WEI, 1990). Porém a movimentação ortodôntica não deveria ocorrer em pacientes que estivessem apresentando uma higienização precária, pois a presença de biofilme bacteriano causa uma inflamação gengival que, associada às forças ortodônticas, pode causar reabsorções ósseas (VIAZIS; CORINALDESI; ABRAMSON, 1990). Manschot (1991) chama a atenção para a presença de sangramento gengival à sondagem, pois é de extrema importância a saúde periodontal durante a aplicação de forças ortodônticas, pois a inflamação constante pode levar à recessão gengival localizada. É necessário uma terapia periodontal antes da colocação de aparelho ortodôntico, removendo-se possíveis fatores etiológicos periodontais, como a remoção de biofilme bacteriano, cálculos sub e supragengivais, assim como visitas de acompanhamento periódicas para se assegurar a integridade gengival e a colaboração do paciente (MENEZES et al., 2003).

Além desses cuidados a serem observados para a manutenção da saúde periodontal, notou-se que a inserção de braquetes (metálicos ou não) induz a uma alteração da microbiota da placa, afetando a quantidade, a composição, a atividade metabólica e a patogenicidade da mesma, aumentando o índice de doenças periodontais e o aparecimento de lesões (manchas) brancas, o que posteriormente podem tornar-se lesões cáries (AHAN; LIM; LEE, 2007; ATTACK; SANDY; ADDY, 1996; GASTEL et al., 2008; NARANJO et al., 2006; ROSAN; LAMONT, 2000). Os efeitos colaterais dos aparelhos ortodônticos fixos na alteração da flora e no periodonto são considerados reversíveis na sua maioria, porém as lesões brancas persistem após a remoção do aparelho (OGAARD, 1989; SALLUM et al., 2004), sendo que alguns trabalhos comprovaram que essas lesões ocorrem em 50 a 75% dos casos (OGAARD, 1988, 1997).

3.4 A Ortodontia e a Prevenção

A Odontologia Preventiva tem desempenhado papel fundamental no combate e prevenção das doenças da cavidade oral (MONFRIN; RIBEIRO, 2000). O método mais comum, amplamente divulgado e utilizado na higiene oral, é a escovação dentária, tendo-se enfoque no controle do biofilme bacteriano como prevenção de cáries e doenças periodontais (PANZERI et al., 2001). O acúmulo do biofilme bacteriano é de suma importância na perda de tecido de inserção periodontal. Nos dentes com maior dificuldade de higienização, ocorre maior acúmulo desse biofilme, ocasionando uma gengivite e, posteriormente, a prevalência de recessão gengival e periodontal (PARFITT; MJÖR, 1964). Trott e Love (1966) sugeriram que o desalinhamento dentário de incisivos inferiores com recessão facilitou o acúmulo de cálculo dentário presente em 25.5% dos casos.

O biofilme dental pode ser controlado pelo profissional em consultório com a realização de raspagem profilática dentária, aplicação de flúor e selantes periodicamente. No que diz respeito ao controle individual do biofilme, deve ser feito com escovação adequada, uso correto de fio dental e bochechos com enxaguatórios antibacterianos, segundo Alves et al. (2008); Buren et al. (2008); Shafi (2008); Tufekci et al. (2008). Alguns indivíduos, mesmo esforçando-se para realizar uma boa higienização, não conseguem eliminar totalmente o biofilme que se forma ao redor dos braquetes e, apesar do empenho, ocorre a adesão bacteriana aos bráquetes, podendo haver a desmineralização do esmalte (ATTIN et al., 2005; LOVROV; HERTRICH; HIRSCHFELDER, 2007). Demling et al. (2010) observaram redução da placa em braquetes cobertos com politetrafluoretileno (PTFE) em relação aos bráquetes não cobertos com PTFE, porém, com aumento significativo de custo, tornando difícil a divulgação do método.

Além da higiene mecânica, produtos químicos antimicrobianos têm sido indicados como coadjuvantes, para melhorar o controle da placa bacteriana (MARSH, 1992), devendo-se observar os seguintes fatores:

- a) toxicidade – por serem inespecíficos, apresentam em sua maioria, efeitos colaterais;
- b) permeabilidade aos tecidos – deve ser baixa, considerando os possíveis efeitos sistêmicos que podem causar;

- c) microbiota residente – não deve provocar alteração no equilíbrio da microbiota, a fim de evitar o aparecimento de micro-organismos patogênicos e oportunistas;
- d) substantividade (retentividade) – a substância deve ser retida no local de ação (superfície dental, gengiva e mucosa bucal) e liberada lentamente, evitando a neutralização do seu efeito pelo fluxo salivar.

A escolha e a indicação do agente antimicrobiano pelo profissional deve levar em consideração a compatibilidade com o agente ativo, a biodisponibilidade do agente ativo no local e a aceitação por parte do paciente (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1995). Os veículos mais utilizados são:

- a) colutórios – mistura do componente ativo, água, álcool, surfactantes, umectantes e flavorizantes;
- b) dentifrícios – não exigem mudanças de hábitos da parte do paciente, sendo bem aceitos;
- c) gel – sistema aquoso espesso, aplicado através de moldeiras prontas ou personalizadas por profissional habilitado;
- d) vernizes – compostos a base de resinas naturais, aplicados nas superfícies dentais, mantendo uma liberação mais lenta dos agentes antimicrobianos;
- f) gomas de mascar e pastilhas – depende da liberação do agente durante a mastigação ou dissolução das pastilhas. Nos casos de redução da secreção salivar, o estímulo mastigatório pode ser benéfico.

A principal vantagem dos colutórios ou enxaguatórios é a sua capacidade de atingir todas as superfícies acessíveis na boca, incluindo as faces interproximais, tecidos moles e duros e permanecer ativo por longos períodos (BAUROTH et al., 2003; GALLITSCHKE et al. 2004).

3.5 Enxaguatórios

Os enxaguatórios bucais foram desenvolvidos principalmente para o controle químico do biofilme, sendo utilizados como suplemento dos procedimentos

mecânicos; são de fácil aquisição e podem ser encontrados em farmácias, drogarias e supermercados (BATTINO et al., 2002; CIANCIO, 2003; POGGI et al., 2003). Entretanto as substâncias ativas também podem causar efeitos adversos (GAGARI; KABANI, 1995). Suas indicações segundo Almerich et al. (2005); Barnett (2006); Scheie (1989) e Seymour (2003) são: alívio da dor em inflamações da mucosa oral como periodontite, aftas, estomatite, gengivite; halitose; pós-operatório; manutenção da saúde dos implantes dentários; pacientes com dificuldade ou deficiência motora; adjunto no clareamento dental e xerostomia.

Moreira et al. (2002) constataram que 54,7% dos pacientes nunca usaram um enxaguatório bucal, enquanto que 5,3% usam regularmente. O uso era para tratamento de halitose e prevenção de doenças orais (44,7%), para tratamento de inflamação gengival (39,3%) e para uma melhor eficácia na higienização dos dentes (38,7%), sendo a escolha do enxaguatório baseada na prescrição feita pelo dentista (68%), no preço do produto (29,3%) e nas propriedades médicas (16%). Considerando-se esses três fatores, o cloreto de cetilpiridinium (solução) foi o mais escolhido (41,3%).

Os enxaguatórios bucais, indicados para o controle do biofilme contêm como componente ativo, muitas vezes substâncias antimicrobianas, água e/ou etanol, agentes tensoativos, umectantes e flavorizantes (TORRES et al., 2000). Os agentes farmacológicos antimicrobianos mais utilizados são: cloreto de cetilpiridínio, triclosan, óleos essenciais (timol, eucaliptol, fenol, mentol, salicilato de metila) e a clorexidina (BUGNO et al., 2007; MARINHO; ARAÚJO, 2007; MOREIRA et al., 2009). A maioria dos agentes antimicrobianos disponíveis no mercado promove o rompimento da parede celular, inibe os complexos de enzimas, promovendo uma diminuição da atividade metabólica das bactérias (BUGNO et al., 2007). Também tem-se os fluoretos, que quando incorporados aos enxaguatórios bucais, que desempenham importante papel no controle das cáries (MOI; TENUTA; CURY, 2008).

A quantidade retida de um quimioprofilático na cavidade oral depende da capacidade de sua ligação às superfícies, do índice do fluxo salivar e gengival, dosagem, concentração, tempo de contato e frequência de aplicação segundo Thystrup e Fejerskov (1995).

Um agente antimicrobiano ideal deve ter potencial contra biofilme bacteriano e deve necessariamente provocar uma redução da adesão bacteriana às superfícies dentais e à mucosa oral; inibir o crescimento e proliferação de micro-organismos;

inibir a formação da matriz intercelular do biofilme; modificar o metabolismo bacteriano para reduzir a formação de produtos citotóxicos e modificar a ecologia do biofilme para favorecer o desenvolvimento de uma microflora bucal menos patogênica (ARAÚJO et al., 2012; MOREIRA et al., 2009).

Monfrin e Ribeiro (2000) avaliaram *in vitro* a ação de enxaguatórios bucais comerciais sobre a microbiota da saliva. Selecionaram 50 amostras de saliva, cultivaram os microrganismos das amostras e inocularam em dez diferentes antissépticos (Kolynos[®], Oral B[®], Cepacol[®], Periogard[®], Flogoral[®], Malvatricim[®], Fluordent[®], Wash[®], Plax[®], Listerine[®]) em três doses distintas (10µL, 20µL e 25µL). Para o inóculo, foi utilizada a cultura em caldo Muller Hinton (DIFCO), incubada a 37° C um período de 15h a 18h em média, para padronizar a concentração final de 150 milhões/mL (escala 0,5 de MacFarland), através do espectrofotômetro (Pharmaciabiotech, Brasil). Após 24 horas e na dosagem de 10µL, os antissépticos Flogoral[®] e Listerine[®] apresentaram resultados iguais e pouco eficientes em relação ao Periogard[®], que se mostrou eficiente em oito amostras; foi observado no mesmo tempo, porém numa dosagem de 20µL, os antissépticos obtiveram resultados independentes, destacando-se o Periogard[®], que foi eficiente em 24 amostras; na dosagem de 25µL, apenas o Fluordent[®] se comportou de maneira distinta quando comparado com o Flogoral[®] e o Listerine[®]. No período de 48 horas (dosagem de 10µL), demonstrou-se que o Periogard[®] foi o único eficiente, enquanto na dosagem de 20µL, apenas os antissépticos Oral B[®] e Periogard[®] se distinguiram dos demais; já na dosagem de 25µL o Periogard[®] foi destaque, pois foi eficiente em 28 amostras.

3.6 Agentes Químicos de Controle Bacteriano

3.6.1 Agentes catiônicos

3.6.1.1 Clorexidina

A clorexidina (CHX) é considerada como o mais eficaz agente químico de controle antibacteriano do biofilme dental e tem sido rotineiramente recomendada para pacientes que fazem uso de aparelhos ortodônticos (EMILSON, 1994). É

considerada como o padrão ouro em comparação aos outros agentes químicos de ação semelhante, com efeito farmacológico inibidor do biofilme dental (SEMENOFF; SEMENOFF-SEGUNDO; BIASOLLI, 2008). Atua tanto em bactérias Gram-negativas quanto em bactérias Gram-positivas, tendo efetividade mesmo na presença de sangue e saliva (SEGUNDO et al., 2007). É um agente quimioterapêutico que consiste em dois anéis fenólicos clorados e dois grupos de bis-biguanida simetricamente ligados por uma cadeia de hexametileno (BUGNO et al., 2006; MARINHO; ARAÚJO, 2007; PIRES; ROSSA JUNIOR; PIZZOLITTO, 2007). É um agente estável, excretado pelas vias normais, sendo que apenas uma pequena percentagem é retida no corpo, não causando toxicidade (BAMBACE et al., 2003; PIRES; ROSSA JUNIOR; PIZZOLITTO, 2007). As moléculas desse agente são positivas, enquanto as superfícies bacterianas são negativas. Ocorre uma adsorção, fazendo com que a superfície da parede celular fique mais permeável, permitindo a penetração desse agente no meio citoplasmático, promovendo um desarranjo da membrana celular com consequente vazamento das estruturas celulares dos micro-organismos (MARINHO; ARAÚJO, 2007; MOREIRA et al., 2009).

Apesar da eficácia, os efeitos colaterais relatados devido ao uso da CHX são alteração do paladar, descoloração dos dentes, descamação e dor da mucosa oral, os quais têm limitado o seu uso contínuo (GROSSMAN et al., 2006). Como exemplo citamos o enxaguatório comercial Periogard®.

3.6.1.2 Cloreto de cetilpiridínio

O cloreto de cetilpiridínio (CCP), presente no enxaguatório a ser testado, o Cepacol® é um composto catiônico, tensoativo, monovalente, pertencente ao grupo dos compostos quaternários de amônia (MARINHO; ARAÚJO, 2007; MENDES et al., 1995; MOREIRA et al., 2009; SEMENOFF; SEMENOFF-SEGUNDO; BIASOLLI, 2008; TORRES et al., 2000). É o composto mais utilizado em hospitais, segundo *IMS Health, IMS National Sales Perspectives*TM (2012).

O Cepacol® apresenta eficácia contra os micro-organismos Gram-positivos e leveduras, provocando aumento da permeabilidade celular e rompimento da parede celular bacteriana (BUGNO et al., 2006; GEBRAN; GEBERT, 2002; MOREIRA et al., 2009). Há controvérsias na literatura, pois há autores que afirmam que o agente é

relativamente ineficaz contra os micro-organismos Gram-negativos (MOREIRA et al., 2009; RADFORD et al., 1997), porém existem outros autores que afirmam que ele afeta tanto Gram-positivos quanto os Gram-negativos, bem como as leveduras (BAPTISTA; ARAÚJO; MONTENEGRO, 2003).

A forma de ação desse agente é relacionada ao aumento da permeabilidade da parede celular da bactéria, favorecendo a sua lise, a redução no metabolismo e a interrupção da capacidade do micro-organismo para aderir à superfície do dente (MARINHO; ARAÚJO, 2007; MOREIRA et al., 2009; SEMENOFF; SEMENOFF-SEGUNDO; BIASOLLI, 2008; TORRES et al., 2000), mecanismo semelhante ao da clorexidina, porém com menor eficácia clínica devido à sua baixa substantividade (GRANJEIRO et al., 1993). Essas propriedades são atribuídas ao agente antimicrobiano numa concentração de 0,05%, comum nos produtos comerciais, portanto a ação bacteriostática, bactericida e/ou fungicida depende da concentração empregada. Corbin et al. (2011) relataram que, após uma hora da exposição ao enxaguatório, o biofilme volta a crescer. Quando associado a outros componentes, como a clorexidina, pode ter sua eficácia aumentada (YÉVENES et al., 2009).

Num estudo duplo cego, Ito et al. (1980), avaliaram bochechos com CCP em diferentes concentrações, sendo que a solução a 0,05% inibiu estatisticamente a formação da placa dental, acompanhada da redução quantitativa do número de *S. mutans*, o que não aconteceu com *S. salivarius*. Shim et al. (2012) demonstraram que, após o uso de enxaguatório com Cloreto de Cetilperidínio durante 4 semanas, houve uma redução da gengivite e da placa supragengival. Lisante, Mcguire e Williams (2013) constataram, em seu estudo, que, após 6 semanas de uso, ocorrem manchas extrínsecas, acentuando-se ao longo de 12 semanas.

Dentre os principais efeitos indesejáveis devido ao uso prolongado, encontram-se a sensação de ardência na língua, manchas extrínsecas, devido à interação do CCP com corantes contidos nos alimentos (SHEEN; OWENS; ADDY, 2001), e aumento da formação de cálculo (GRANJEIRO et al., 1993).

3.6.2 Agentes não iônicos

3.6.2.1 Triclosan

O Triclosan é um agente que atua com eficácia contra placa bacteriana, apresentando também atividade anti-inflamatória. É um antisséptico de uso frequente que apresenta amplo espectro, baixa toxicidade e em uso no mercado há mais de 20 anos, na composição de colutórios a uma concentração de 0,03% (NOGUEIRA FILHO; TOLEDO; CURY, 1997). Sua ação se dá por um aumento da sua permeabilidade, causando uma ruptura da membrana do plasma, inibindo assim a atividade de enzimas com afinidade à tripsina, modificando o transporte celular e evitando o metabolismo adequado e a reprodução das células bacterianas, aparentemente não afetando o equilíbrio da microbiota oral (ARAÚJO et al., 2012; MOREIRA et al., 2009; PIACEZZI NASCIMENTO et al., 2008; NOGUEIRA et al., 2007; TORRES et al., 2000). Tem amplo espectro antimicrobiano, agindo tanto em bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas, sendo eficaz contra o gênero *Mycobacterium*, bactérias anaeróbias, esporos e fungos do gênero *Candida* (BUGNO et al., 2007; MARINHO; ARAÚJO, 2007; MOREIRA et al., 2009; TORRES et al., 2000). Apresenta baixa substantividade quando incorporado aos enxaguatórios bucais, sendo comum associá-lo a um copolímero, a fim de aumentar sua permanência na cavidade oral, aumentando seu tempo de ação e consequentemente sua eficácia, ligada diretamente ao aumento da biodisponibilidade (possibilidade de manter a concentração na camada limite de difusão), tanto na mucosa oral quanto nas superfícies dentárias (MARINHO; ARAÚJO, 2007; NOGUEIRA FILHO; TOLEDO; CURY, 1997; PIRES; ROSSA JUNIOR; PIZZOLITTO, 2007; SEGUNDO et al., 2007; TORRES et al., 2000). Devido a esse fator, o triclosan pode reduzir o biofilme em torno de 22% e gengivite em torno de 25%. Devido ao baixo nível de álcool apresentado na fórmula, ocorre uma maior estabilidade do pH, em torno de 6,8 (ZANIN, 2007). Como exemplo citamos o produto comercial Plax[®].

3.6.3 Alógenos

3.6.3.1 Flúor

Os fluoretos, quando incorporados aos enxaguatórios que tenham na sua composição agentes antibacterianos, apresentam uma capacidade de interferir no equilíbrio ecológico do biofilme, devido a uma rápida deposição de flúor na superfície do dente. Devido ao pH baixo destes enxaguatórios, o íon flúor inibe as enzimas glicolíticas das bactérias presentes no biofilme, promovendo um bloqueio do metabolismo de carboidratos, redução da acidogênese e da desmineralização do esmalte. Interfere na biossíntese de polissacarídeos responsáveis pela aderência de micro-organismos nas superfícies dentárias, contribuindo também para a remineralização do esmalte (ARAÚJO et al., 2012; LIMA et al., 2005; TORRES et al., 2000).

As concentrações utilizadas são, em meio aquoso, a 0,05% para bochechos diários e 0,2% para bochecho semanal. Como exemplo comercial, temos o Fluordent[®].

3.6.4 Produtos naturais

Gebara, Zardetto e Mayer (1996), relataram que os produtos odontológicos contendo substâncias naturais tem boa aceitação, devido à popularidade da fitoterapia. Dentre as várias substâncias empregadas, apresenta-se o Tomilho, a Camomila e a Sálvia, com propriedades antissépticas, adstringentes, desinfetantes (KOZEL, 1997), e como exemplo de produto comercial, tem-se Sorriso Herbal[®]; existem também produtos com Própolis, com propriedades antimicrobiana, anti-inflamatória, imunoestimulatória, hipotensiva, antitumoral, cicatrizante (FIGUEIREDO, 1999); como exemplo, citamos o Propamalva (xarope e spray).

Paolino, Kashket (1985) observaram *in vitro* que o extrato de cacau foi capaz de inibir a enzima *glicosil transferase*, responsável pela formação de polissacarídeos extracelulares de *S. sanguis*, *S. mutans*, *A. viscosus* e *A. naeslundii*. O consumo de

alimentos contendo cacau poderia modular a produção de polissacarídeos extracelulares.

Alcaloides vegetais podem ser aqui representados pela Malva, que possui propriedades calmantes, emolientes e anti-inflamatórias (KOZEL, 1997). Existe no mercado à base de Tintura de Malva, Quinosol e Tirotricina, com reconhecida ação nos processos inflamatórios da boca e garganta; sua denominação comercial é Malvatricin[®].

Dessa forma, existe no mercado uma gama de opções de enxaguatórios bucais, comercializados em supermercados e drogarias, com agentes bacteriostáticos e/ou bactericidas, com e sem flúor, com e sem álcool, mas, na sua maioria, com efeitos indesejáveis. Assim, há uma tendência de se buscar alternativas naturais para o controle e remoção do biofilme bacteriano, tentando-se evitar efeitos indesejáveis e, nisso, enquadram-se enxaguatórios à base de plantas medicinais.

3.6.4.1 - Óleos essenciais

Os componentes de óleos essenciais como timol, mentol e eucaliptol são associados aos colutórios e exibem potência antibacteriana. Não apresentam carga, baixa substantividade e elevada capacidade de interação com certos componentes no biofilme bacteriano. O mecanismo de ação desses óleos ocorre quando a salubridade da parede celular é alterada. Age principalmente sobre as bactérias Gram-positivas e leveduras. Apresenta como efeitos colaterais uma sensação de queimação e gosto amargo (BUGNO et al., 2006; MARINHO; ARAÚJO, 2007; MOREIRA et al., 2009; TORRES et al., 2000). Num estudo comparativo entre óleos essenciais, grupo controle e o CCP, ao longo de 6 meses não se notou diferença entre o grupo controle e o grupo do CCP com relação à redução da placa bacteriana, o que já foi bem evidente no grupo dos óleos essenciais (CORTELLI et al., 2012). O representante comercial no mercado brasileiro é o Listerine[®].

3.7 Plantas Medicinais

Planta medicinal é toda aquela que apresenta um ou mais princípios ativos, podendo ser usados como agentes de ação biológica, veiculados como chás, tinturas, comprimidos, pós e cápsulas, industrializados ou não (LORENZI; MATOS, 2008; MARTINS et al., 1994). Na Alemanha, consome-se metade dos extratos vegetais comercializados em toda a Europa, sendo a fitoterapia o método alternativo mais comum entre a população; 70% dos médicos de clínica geral prescrevem centenas de ervas registradas, e uma parte significativa dessas prescrições são pagas pelo seguro de saúde (BLUMENTAHL, 1998).

As plantas apresentam moléculas estruturais diversificadas, sendo denominadas terpenóides, glicosídeos, flavonóides e polifenóis, cuja atividade antibiótica não é significativa quando comparada aos antibióticos produzidos por bactérias ou fungos. Contudo ocorre um sinergismo entre estas moléculas, fazendo com que elas combatam as infecções de maneira eficaz (HEMAISWARYA; KRUTHIVENTI; DOBLE, 2008).

Muitos extratos de plantas apresentam uma superioridade terapêutica quando comparados com seus respectivos constituintes isolados (WAGNER; ULRICH-MERZENICH, 2009). Muitos grupos étnicos fazem uso secular das plantas como tratamento, conhecimento esse transmitido através das gerações, servindo de referência para estudos e pesquisas de novos medicamentos (SOUZA et al., 2004).

Existe interesse no aproveitamento da biodiversidade como terapia medicinal e uso preventivo da mesma com relação à saúde (LEWIS; ELVIN-LEWIS, 1997). No Brasil, concentram-se 30% das florestas tropicais de todo o mundo, havendo uma enorme biodiversidade genética, tanto de fauna como de flora (MEDEIROS; FONSECA; ANDREATA, 2004), na qual se têm catalogadas cerca de 55.000 espécies de plantas (AZEVEDO; SILVA, 2006). Existem poucas informações com relação às plantas, apesar de toda a flora disponível e diversificada (GUARIM NETO; MORAIS, 2003), sendo que apenas 15 a 17% delas foram estudadas no mundo todo (SOEJARTO, 1996).

Existe um aumento de interesse por programas preventivos e curativos utilizando fitoterápicos (GUYOT, 1990), enfatizando o seu uso no controle do biofilme dental (OSAWA, 1990), o qual é fator determinante na formação da cárie e

da doença periodontal, sendo necessário o seu controle (AXELSSON; LINDHE, 1974; KORNMAN, 1986). Apesar dos esforços e tentativas de novos programas, os já existentes dificilmente atingem seu objetivo para a população carente no Brasil, pois a maior parte da população não possui condições econômicas de adquirir periodicamente meios mecânicos ou químicos de higienização oral, revelando-nos um quadro epidemiológico preocupante de saúde bucal (BUISCHI, 1989; MEDEIROS, 1991). Existe, portanto, uma enorme necessidade de desenvolvermos alternativas viáveis para o controle do biofilme, sendo a fitoterapia um recurso importante dentro de programas preventivos e curativos de saúde bucal para a população brasileira (BUFFON, 2001). Há evidências consideráveis de que extratos de plantas, óleos essenciais e fitoquímicos podem ser utilizados em produtos para terapias preventivas ou curativas na saúde oral (PALOMBO, 2011).

As plantas medicinais têm demonstrado atividade antibacteriana e bactericida na cavidade oral, inibindo o crescimento das bactérias ou eliminando-as (KATSURA et al., 2001; LI; CAI; WU, 1997). Em um estudo comparativo entre enxaguatórios compostos com clorexidina, óleos essenciais e extrato de ervas, Singh, Daing e Dixit (2013) concluíram que os enxaguatórios à base de ervas são uma promessa importante no controle da placa bacteriana, porém não tão eficaz quanto a clorexidina.

Bhadbhade et al. (2011) observaram que o enxaguatório à base de romã, apresentou efeito antiplaca comparado ao da clorexidina; por outro lado, Haffajee et al. (2009) observaram a redução do número de *Streptococcus* e *Capnocytophaga* com enxaguatório à base de ervas. Kaim et al. (1998) verificaram uma redução significativa de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* e *Actinomyces viscosus*, comparável aos resultados obtidos com clorexidina, em estudo comparando dois enxaguatórios à base de ervas (*Herbal Mouth* e *Gum Therapy*) com o Listerine. Quando acrescentados produtos naturais ao enxaguatório de Cloreto de Cetilperidínio, este demonstrou uma eficácia muito maior na atividade antimicrobiana (WATANABE et al., 2008). O uso de enxaguatórios bucais naturais, à base de plantas medicinais é uma proposta extremamente interessante do ponto de vista econômico, considerando-se a quantidade e a diversidade de ingredientes dos quais dispomos.

No presente estudo, iremos testar *in vivo* o uso de um enxaguatório bucal previamente testado *in vitro*, composto por extratos hidroalcoólicos das plantas

Nasturtium officinale (agrião), *Rosmarinus officinalis* (alecrim), *Tabebuia impetiginosa* (ipê roxo), *Achillea millefolium* (mil folhas) e *Plantago major* (tanchagem), desenvolvido por Cordeiro (2005).

3.7.1 *Nasturtium officinale*

O *Nasturtium officinale* (fig 1, conhecido como agrião), da família Cruciferae, é nativo da Europa e Ásia Central, encontrado em diversas regiões do Brasil (ALMEIDA, 1993; LORENZI; MATOS, 2002). Cresce abundantemente nas margens dos rios e córregos. É uma planta herbácea e vivaz (BLUMENTHAL; GOLDBERG; BRINCKMAANN, 2000), largamente utilizada na medicina popular brasileira (MATOS, 2000), empregando-se as partes aéreas no tratamento de bronquites, gripes, faringites e laringites (CAÑIGUERAL; VILA, 1998). Apresenta ação inibitória no metabolismo oxidativo de algumas substâncias como acetaminofeno (CHEN; MOHR; YANG, 1996) e cumarina (MURPHY, 2001) e como antidiabética (BARBOSA FILHO et al., 2005). Na Odontologia, seu uso está relacionado ao tratamento de aftas, estomatites e gengivites (XAVIER; RAMOS; XAVIER FILHO, 1995), devido às propriedades adstringentes, anti-inflamatórias e cicatrizantes (NEGRAES, 2003), sendo recomendado o uso de bochechos com o extrato do talo do agrião. FREITAS et al. (2013) relataram em seu estudo o sinergismo ocorrido entre o *Nasturtium officinale* e um antibiótico padrão, aumentando em muito seu efeito antibacteriano e bactericida.

Figura 1 - *Nasturtium officinale*

Fonte: Katzer (2012).

3.7.2 *Rosmarinus offinalis*

A espécie *Rosmarinus offinalis* (fig 2, conhecida por alecrim), da família Lamiaceae, popularmente conhecida como alecrim-de-jardim; rosmarino; labinotis; alecrinzeiro; alecrim-comum; alecrim-de-cheiro; alecrim-de-horta; erva-coada; flor-do-olimpio; rosa-marinha; rosmarinho (LORENZI; MATOS, 2006). Os antigos egípcios consideravam-no como a erva da recordação, daí ser encontrado nas tumbas das primeiras dinastias. Foi cultivada primeiramente no Mediterrâneo, levada posteriormente à China, sendo hoje cultivada em quase todos os países de clima temperado (WAGGAS; BALAWI, 2008). Vegeta espontaneamente em terrenos rochosos e arenosos do litoral de países ao redor do Mar Mediterrâneo (Espanha, Itália, Grécia, Norte da África e na Dalmácia, uma região comum à Hungria e à Áustria) e, eventualmente, em outras regiões até 1.500 metros de altitude como no centro e no sul de Portugal, Ilhas Canárias, Ilha dos Açores e da Madeira. Também cresce nativa em regiões da Turquia, Líbano e Egito. O seu nome, *Rosmarinus*, está ligado ao seu habitat: *ros marinus* – rócio do mar, (orvalho do mar). Possui propriedades adstringentes, analgésicas, antissépticas (NEGRAES, 2003); antimicrobianas (BOZIN et al., 2007; SANTOYO et al., 2005), antivirais, anti-inflamatórias (BARNES; ANDERSON; PHILLIPSON, 2002), antiedematogênica (NEVES; TAKATA; SACRAMENTO, 2000), antioxidante (HARAGUSHI et al., 1995;

NAKATANI, 2000) e antiulcerogênica (DIAS et al., 2000). Possui atividade inibitória contra células plantônicas dos *S. mutans* e efeitos inibitórios na formação do biofilme oral (JEON et al., 2011). Porém Bernardes et al. (2010) relataram que o óleo essencial de *Rosmarinus offinalis* apresentou baixa atividade contra *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sobrinus* e *Enterococcus faecalis*, microrganismos responsáveis pela formação da cárie dental em humanos. Rasooli et al. (2008) demonstraram a superioridade de óleos essenciais de *Mentha piperita* e *Rosmarinus officinalis* sobre a clorexidina.

Figura 2 - *Rosmarinus offinalis*

Fonte: Contentzza (2013).

A planta possui porte subarbustivo lenhoso, ereto, ramificado de até 1,5 m de altura, sempre verde, com hastes lenhosas. As folhas são lineares, pequenas e finas, opostas, lanceoladas, coriáceas, muito aromáticas, medindo 1,5 a 4 cm de comprimento por 1 a 3 mm de espessura. A parte inferior das folhas é de cor verde acinzentada, enquanto a superior é verde brilhante; as flores reúnem-se em espiguilhas terminais e são de cor azul ou esbranquiçada, pequenas e de aroma forte. O fruto é um aquênio, que é um tipo de fruto normalmente seco, com origem em um ou mais carpelos, indeiscente, portando normalmente uma semente; floresce quase todo o ano e não necessita de cuidados especiais (LORENZI; MATOS, 2006).

As partes utilizadas do alecrim são as folhas e flores no preparo de xaropes, infusão, tintura, pó, óleo essencial e na fitoterapia. Muito usada na indústria alimentícia pelas propriedades antioxidantes e conservantes, deve-se observar a

dosagem tóxica com muito cuidado (ARUOMA et al., 1996). Na França, a droga é utilizada tradicionalmente por via oral, em tratamento sintomático de transtornos digestivos. Topicamente, utilizado em afecções do aparelho respiratório, enxágue bucal e localmente, como cicatrizante e antimicrobiano e estimulante do couro cabeludo (LORENZI; MATOS, 2006).

3.7.3 *Tabebuia impetiginosa*

A *Tabebuia impetiginosa* (fig. 3, conhecida por ipê rosa, ipê preto, ipê rosa de folha larga, ipê rosado, ipê róseo, ipê roxo, ipê roxo de casca lisa, ipê roxo de bola, ipê roxo do grande, ipeúna, ipê de flor roxa, ipê de minas, pau cachorro, pau darco, pau darco rosa, pau darco roxo, piúna, piúva preta;), da família *Bignoniaceae*, de porte arbóreo, que alcança de oito a vinte metros de altura, apresentando características de planta decídua (LORENZI, 2002). Ocorre em vegetação secundária abrangendo capoeiras e capoeirões (LONGHI, 1995).

Figura 3 - *Tabebuia impetiginosa*

Fonte: Falconi (2011).

A espécie possui valor econômico, ornamental e medicinal e tem sido cada vez mais raro encontrá-la em ambiente natural, devido à exploração predatória (ETTORI et al., 1996). O ipê roxo está na relação das espécies que precisam ser conservadas geneticamente (SIQUEIRA; NOGUEIRA, 1992). É nativa da América

Central e da América do Sul, típica das florestas tropicais. Possui como principal ativo o lapachol, extraído da casca da mesma, com propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas, cicatrizantes (BARNES; ANDERSON; PHILLIPSON, 2002; MATOS, 2000), adstringentes (MARTINS et al., 2000), antineoplásicas (LORENZI, MATOS, 2002; MATOS, 2000), refrescantes (NEGRAES, 2003) sendo indicada em afecções da boca e garganta, gengivites, estomatites, herpes labial (PANIZZA, 1998), processos infecciosos e anti-inflamatórios (MARTINS et al., 2000). As propriedades anti-inflamatórias da *T. impetiginosa* são comparadas às da fenilbutasona (LORENZI; MATOS, 2002; MATOS, 2000). Como bochechos, é indicada para assepsia e tratamento da mucosa oral (NEGRAES, 2003).

3.7.4 *Achillea millefolium*

A *Achillea millefolium* (fig. 4) é uma espécie pertencente à família *Asteraceae*, nativa da Europa, América do Norte, Norte da Ásia e algumas partes do Irã. Tem sido utilizada como um medicamento popular desde a Guerra de Tróia (1200 aC), quando o herói grego, Aquiles disse ter usado as folhas de uma planta para verificar o fluxo de sangue das feridas de seus soldados, vindo daí o nome genérico, *Achillea*. Muito popular entre os militares pelas suas propriedades cicatrizantes, era frequentemente aplicado a ferimentos de batalha (WEINER, 1972). As plantas são ervas perenes, geralmente 30-60 cm de altura (variando 8-90 cm).

Figura 4 - *Achillea millefolium*

Fonte: Living Afield (2013).

Elas exibem um odor aromático característico e apresentam pequenos fios na cor verde acinzentado recobrimdo-as. As folhas são lanceoladas, altamente dissecadas e altamente variáveis em tamanho, podendo ir de 3 a 20 cm de comprimento e de 1 a 6 cm de largura; suas flores aparecem de maio a outubro, agrupadas na base angular, tendo as hastes com folhas menores alternadas para cima. Sua aparência é de uma pena ou folha da samambaia.

Possui propriedades adstringentes, anti-inflamatórias, antissépticas e despigmentadoras (NEGRAES, 2003); antitumorais, antibacterianas e cicatrizantes (JORGE et al., 1999; LORENZI; MATOS, 2002), diurético, regulador menstrual (BAYTOP, 1999). Como bochecho, tem sua indicação para assepsia e tratamento de inflamações da mucosa oral (NEGRAES, 2003). Apresenta ainda atividade antimicrobianas, com atividade moderada contra fungos e leveduras (CANDAN et al., 2003). Cecchini et al. (2012) demonstraram que quando o Listerine foi acrescido de óleo essencial de *Achillea millefolium*, aumentou significativamente sua atividade antimicrobiana, sugerindo que óleos essenciais poderiam ser usados em enxaguatórios bucais como alternativa para auxílio na higiene bucal e para controlar infecções orais. Potrich et al. (2010), constataram em seu estudo a capacidade de

induzir à regeneração, demonstrando também propriedades antioxidantes da *Achillea millefolium*.

3.7.5 *Plantago major*

A espécie *Plantago major* (fig. 5), originária da Europa (ONODA; SCHIEVING; ANTEN, 2008), foi introduzida em diversas regiões do mundo, podendo ser encontrada em vários países da África, da Ásia e das Américas. No Brasil, as espécies, *P. major* e *P. tomentosa* Lam. foram encontradas vegetando espontaneamente, principalmente em áreas de clima temperado, em associações com outras plantas, seja em jardins, gramados, pomares e/ ou beiras de estradas (BACCHI; LEITÃO FILHO; ARANHA, 1984). Popularmente conhecida como tanchagem, tansagem, tanchagem maior, plantagem e língua de vaca. As partes da planta utilizadas como medicinais são as folhas, que possuem compostos biologicamente ativos como polissacarídeos, lipídios, derivados do ácido cafeico, flavonoides, glicosídeos iridóides, terpenoides, alcaloides e ácidos orgânicos. Apresenta propriedades anti-inflamatórias, analgésicas, antimicrobianas, antioxidantes, imunomoduladoras e anti-ulcerogênicas (BARNES; ANDERSON; PHILLIPSON, 2002; SAMUELSEN, 2000), hemostáticas, cicatrizantes (LORENZI; MATOS, 2002; MATOS, 2000), infecções bucofaríngeas (MARTINS et al., 2000), como amigdalite, faringite e traqueíte (PANIZZA, 1998). Como infusão, seu uso é em forma de gargarejo, combatendo afecções da cavidade oral, faringe e sangramentos gengivais (FREITAS et al., 2000; NEGRAES, 2003; PANIZZA, 1998). Usada popularmente como antitumoral, anti-infecciosa e purificadora do sangue, apresentou atividade inibidora do crescimento de *Escherichia coli* e de *Bacillus subtilis*, assim como atividade hematopoiética (VELASCO-LEZAMA et al., 2006). Holetz et al. (2002) demonstraram em seu estudo que a espécie citada apresentou atividade antibacteriana e contra a *Candida*. As sementes são laxativas. Além do valor medicinal, as plantas de *Plantago major* são consideradas hortaliças em potencial, por serem ricas em fósforo, cálcio, vitaminas A e C (FONT QUER, 1993; SAKER; KAWASLITY, 1998). As plantas de tansagem desenvolvem-se melhor em solos arenosos, ricos em matéria orgânica e com boa umidade (FONT QUER, 1993).

Figura 5 - *Plantago major*

Fonte: Studio-Ryu (2013).

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Material

Os equipamentos como os materiais utilizados neste trabalho estão apresentados nos quadros 1 e 2 respectivamente.

Quadro 1 - Relação de equipamentos utilizados durante a pesquisa

EQUIPAMENTOS	FORNECEDOR
Estufa	Fabbe
Autoclave	Norte Científica
Vortex	Heidolph
Leitor De Elisa	Tecan. Spectra

Quadro 2 - Relação de materiais utilizados durante a pesquisa

MATERIAL	FORNECEDOR
Sangue de Carneiro Desfibrinado Para Preparo de Meios de Cultura	Newprov/ Northeast Labs, Waterville, Maine
Tubo Cônico de 15 MI De Polipropileno Com Tampa de Rosca Estéril	Global
Tubo Eppendorf Ls 1,5 MI Natural Grad.	Global
Pipeta Sorológica Descartável de 5,0 MI-Graduação 1/10 - Estéril, Embaladas Individualmente	Global
Pipeta Sorológica Descartável de 10 MI-Graduação 1/10 - Estéril, Embaladas Individualmente	Global
Placa Agar Sangue 90x15mm	Newprov
Placa de Petri Descartável, 96 X 21 Mm Area de Crescimento 60,1 Cm²	Tpp- Techno Plastic Products Ag
Braquetes Ortodônticos	Technident
Resina Fotopolimerizável	Fillmagic – Vigodente
Resina Líquida Fotopolimerizável	Adapter Singlebond2 - 3m
Ácido Condicionador	Acid Gel 37% Villevie
Brain Heart Infusion	Difco Laboratories, Detroit, Mi
Tryptic Soy Agar - Tsa	Difco Laboratories, Detroit, Mi
Alça de Drigalski	
Menadiona	Sigma Chemical Co, St Louis, Md
Ácido N0acetylmuramic	Sigma Chemical Co, St Louis, Md

4.2 Métodos

4.2.1 Aprovação pelo Comitê de Ética

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de São Carlos, Pró-Reitoria em Pesquisa sob o número CAAE 07075712.0.0000.5504, seguindo todas as normas éticas de uma pesquisa envolvendo humanos.

4.2.2 Enxaguatórios

Foram utilizados, neste trabalho, dois enxaguatórios bucais, um comercial, Cepacol® (Fabricante Sanofi-Aventis Farmacêutico Ltda. Lote 222740; fabricação: 04/1/2012; validade: 01/2017) e um não comercial, cuja formulação já havia sido anteriormente desenvolvida por Cordeiro (2005), no Laboratório de Botânica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP, Campus de Araraquara, composto pelas plantas *Nasturtium officinale* (agrião), *Rosmarinum officinalis* (alecrim), *Tabebuia impetiginosa* (ipê roxo), *Achillea millefolium* (mil-folhas) e *Plantago major* (tanchagem).

4.2.3 Preparo do material vegetal

As plantas utilizadas na elaboração dos extratos hidro-alcoólicos foram colhidas no Horto de Plantas Medicinais e Tóxicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP Campus de Araraquara (*Rosmarinum officinalis*, *Achillea millefolium* e *Plantago major*), no Campus da UNESP de Araraquara (*Tabebuia impetiginosa*) e adquiradas no comércio local (*Nasturtium officinale*). Apenas as partes aéreas destas plantas foram utilizadas: as folhas de *Rosmarinum officinalis*, *Achillea millefolium* e do *Plantago major*; as flores da *Tabebuia impetiginosa* e os ramos do *Nasturtium officinale*, do *Plantago major* e da *Achillea millefolium*. Todo o material fresco adquirido foi lavado e imerso em solução de hipoclorito de sódio a

0,01% para desinfecção e posteriormente submetido à secagem prévia por 24h à temperatura ambiente, sobre bancadas limpas, sanitizadas e cobertas com papel absorvente. Após esse procedimento, o material foi colocado em estufa de circulação de ar a 40°C por 72 horas e posteriormente colocado em moinho de bolas por 3 horas até atingir um tamanho médio de partícula de 0,84mm, de acordo com a United States Pharmacopeia 23 th (1995).

O preparo dos extratos foi feito com 10g dos vegetais secos e pulverizados com 90g de etanol 70° GL. A extração foi feita por turbólise, com tempo de agitação de 10 minutos, com intervalo de 5 minutos e um período de descanso de 5 minutos. A temperatura foi controlada de forma a não ultrapassar 40°C, sendo posteriormente filtrada a vácuo por duas vezes.

Os extratos foram acondicionados em frasco âmbar, guardados sob refrigeração a 4 °C. A mistura dos extratos hidro-alcoólicos foi feita utilizando-se 4g de *Plantago major*(tanchagem) e 2g dos extratos de *Nasturtium officinale* (agrião), *Rosmarinum officinalis* (alecrim), *Tabebuia impetiginosa* (ipê roxo), *Achillea millefolium* (mil-folhas), ficando a proporção de 33,33% de *Plantago major* e 16, 67% dos demais componentes.

A formulação do enxaguatório foi feita utilizando-se a combinação de água destilada (INCI name : water), tensoativo(monoleato de polioxietileno sorbitano- INCI name: Polysorbate 80),alcoóis, flavorizante(aroma de peppermint- INCI name: Mentha piperita oil) edulcorante(sacarina sódica- INCI name: Sodium Saccharin), preservante(metilparabeno(INCI name: Methylparaben), corante(verde, 0,1%) umectantes e extratos vegetais hidroalcoólicos previamente preparados na proporção de 12% da associação (33,33% p/p de extrato de P. major e 16,67% p/p para as demais espécies). Os extratos vegetais hidroalcoólicos apresentaram formação de precipitados quando diluídos em água, seu principal solvente. Foi necessário adicionar um solubilizante atóxico e não irritante, no caso o escolhido foi o monoleato de polioxietileno sorbitano, que também não interferiu no sabor final do enxaguatório.

4.2.4 Formulação do enxaguatório

A formulação do enxaguatório à base de plantas foi reproduzida pelo Prof. Dr. Luís Vitor Silva do Sacramento, no Laboratório de Botânica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas-UNESP, para ser usada nesta pesquisa. Após vários estudos anteriormente feitos por Cordeiro (2005), ficou definida da seguinte forma:

Tabela 1 - Formulação do enxaguatório bucal

Formulação	INCI name	Enxaguatório bucal contendo extratos vegetais (%)
Extratos vegetais		12
Aroma de peppermint	Mentha Piperita oil	0,06
Sacarina sódica	Sodium Saccharin	0, 025
Monooleato de polioxietileno sorbitano	Polysorbate 80	0.50
Metilparabeno	Methylparaben	0,1
Água destilada	Water	100

Fonte: Elaborado com base em Cordeiro (2005).

4.3 Amostras Clínicas

Foram selecionados 40 adultos, sem distinção de sexo e raça, pacientes da clínica de Ortodontia, localizada à Rua Padre Duarte, 2445, Araraquara, SP, sob responsabilidade da Dra. Celene Marques Bussadori, CROSP 30202, sendo que 19 fizeram uso do enxaguatório comercial Cepacol[®] e os outros 21 utilizaram o enxaguatório natural proposto para este estudo. Todos participaram de livre e espontânea vontade, conforme termos assinados, e seguindo as normas éticas que envolvem uma pesquisa clínica. Dividimos os pacientes em 4 grupos quanto ao tipo de enxaguatório a ser utilizado.

Tabela 2 - Distribuição dos pacientes quanto ao tipo de enxaguatório a ser utilizado no estudo

Enxaguatório	Grupos	Nº de pacientes	Total
Cepacol	A	10	19
	B	9	
Enxaguatório à base de ervas	C	11	21
	D	10	

Fonte: Elaborado pelo autor

Os pacientes foram orientados da mesma maneira, receberam os respectivos enxaguatórios e as coletas de bráquetes foram feitas na mesma sequência temporal e metódica. Os adultos tinham idades entre 18 e 45 anos e possuíam aparelhos ortodônticos fixos. Os requisitos básicos para a inclusão no estudo foram:

- a) apresentar boas condições de saúde geral, sem quaisquer alterações sistêmicas evidentes ao exame clínico, ou detectado pela anamnese;
- b) história médica negativa para febre reumática ou para problemas cardíacos que necessitem antibioticoterapia profilática; disfunções hepáticas e renais ou discrasias sanguíneas;
- c) não ter sido submetido à antibioticoterapia ou tratamento periodontal nos últimos 6 meses e/ou não ter feito uso de antisséptico ou irrigador bucal como hábito de higiene bucal.

Foram coletadas 8 amostras de biofilme bacteriano de cada paciente, removendo-se 2 bráquetes ortodônticos de cada quadrante, sendo estes 2 bráquetes de primeiro e segundo pré-molares, pois ocorre um maior acúmulo de biofilme nos dentes posteriores devido à dificuldade de escovação e/ou ao fato dos alimentos serem mastigados e triturados com os dentes posteriores. Foram repostos na mesma seção em que foram retirados, sem custo algum para o paciente.

Figura 6 - Remoção e recolocação de bráquetes.

Fonte: Acervo do autor.

Figura 7 - Demonstração da divisão da arcada em quadrantes

Fonte: Tokus (2011).

Os grupos foram divididos quanto ao tempo, demonstrados na tabela 3.

Os braquetes coletados do grupo I no quadrante I foram utilizados como controle (dia 0), os braquetes coletados dos grupos II, III e IV nos quadrantes II, III e IV foram selecionados para os grupos de análise nos períodos de 7, 14 e 21 dias após o uso dos enxaguatórios, segundo a Tabela 3. Foram recolados seguindo a

técnica de colagem com resina foto-ativada, após condicionamento ácido e aplicação de resina líquida, a mesma utilizada na colagem inicial dos bráquetes dos respectivos pacientes.

Tabela 3 - Planejamento do estudo clínico a ser conduzido considerando-se os grupos de pacientes voluntários para o ensaio com os enxaguatórios

Tempo	Quadrantes	19 pacientes Enxaguatório Cepacol® Gupos A e B	21 pacientes Enxaguatório não comercial Grupos C e D
0 – 0 dias	I	GI – 0 dias (controle) Sem enxaguatório	GI – 0 dias (controle) Sem enxaguatório
I – 7 dias	II	GI – 7 dias	GI – 7 dias
II – 14 dias	III	GII – 14 dias	GII – 14 dias
III – 21 dias	IV	GIII – 21 dias	GIII – 21 dias

Fonte: Elaborado pelo autor.

Após o exame clínico, foi feita a remoção dos braquetes do grupo I no quadrante I (controle). Os pacientes selecionados foram orientados a utilizar fio dental, proceder à escovação com escova macia e utilizar pastas comerciais, após cada ingestão de alimentos. Após a escovação, foram orientados a usar 10 ml durante um minuto do enxaguatório, correspondente ao grupo ao qual pertenciam, duas vezes ao dia, após a higienização, a cada 12 horas, durante os períodos mencionados (7,14 e 21 dias). Foi pedido o período mínimo de abstinência alimentar relativo a 3 horas.

As amostras de biofilme bacteriano foram obtidas mediante a remoção de dois braquetes de cada grupo, em cada quadrante, e colocadas em microtubos estéreis (Figura 8), previamente autoclavados e identificados, contendo 1000 µL de *Brain Heart Infusion (BHI)* - *Difco Laboratories, Detroit, MI*. Foram mantidos em refrigeração por um período de até no máximo três horas e encaminhados para análise no Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara/UNESP, onde todos os procedimentos foram feitos.

Figura 8 - Preparo dos microtubos com solução de BHI

Fonte: Acervo do autor.

4.4 Análise Microbiológica

Após a recepção das amostras, já nos microtubos estéreis, estes foram levados para as bancadas, previamente desinfetadas e sanitizadas, com todo o material devidamente autoclavado. Para conhecer a densidade inicial do inóculo, foi utilizado um espectrofotômetro operando em comprimento de onda de 620 nm para a medição da densidade óptica (DO) utilizando-se cubetas descartáveis.

Os procedimentos foram realizados com chama de gás acesa, evitando-se ao máximo qualquer tipo de contaminação, assim como o uso de Equipamento de Proteção Individual (EPI) (luvas, máscara, gorro e avental) a fim de se preservar e evitar possível contaminação das amostras. Estas foram agitadas por um minuto num equipamento específico (*vortex* - Figura 9) para causar a desagregação do biofilme bacteriano e obtenção do material bacteriano no meio de cultura líquido de BHI e retirou-se 10 μL destas amostras e foram colocadas em microtubos estéreis contendo 990 μL de BHI. Novamente essas amostras foram diluídas em 10^2 , agitadas por 1 minuto e retirou-se 10 μL destas amostras e foram colocadas em microtubos estéreis contendo 990 μL de BHI. Novamente estas amostras já diluídas em 10^4 foram agitadas por 1 minuto, retirou-se 10 μL destas amostras e foram colocadas em microtubos estéreis contendo 990 μL de BHI, ficando assim essas amostras numa diluição de 10^6 .

Figura 9 - Desagregação do biofilme bacteriano no Vortex.

Fonte: Acervo do autor.

Após essa diluição, previamente testada devido ao grande número de UFC, utilizamos placas de Petri (96X21mm) estéreis com Agar sangue previamente preparadas (Figura 10) por no máximo 7 dias antes da utilização. O meio ágar sangue enriquecido foi preparado utilizando 40 g/L de *tryptic soy Agar- TSA* (*Difco Laboratories, Detroit, MI*), composto de digestão pancreática de caseína - 15 g (*Bacto Tryptone*); digestão papaíca de soja- 5 g (*Bacto-Soytone*); cloreto de sódio – 5 g (*Sodium Chloride*) e *Bacto-agar* 15 g. O meio foi autoclavado e deixado resfriar em banho com temperatura constante de 50⁰C. Após o meio resfriar até 50⁰C, foi adicionado assepticamente 5% de sangue de carneiro desfibrinado (*Northeast*), 5 µg/mL de menadiona (*Sigma*) e 0.3 µg/mL de ácido N-acetylmuramic (*Sigma*). Após a geleificação do ágar, as placas foram devidamente embaladas e mantidas resfriadas a 2 graus por no máximo 7 dias antes do uso, segundo a Norma Técnica Especial - Resolução Estadual nº 08, de 11 de março de 1987-, relativa aos Laboratórios de Análises Clínicas (BRASIL, 1987).

Figura 10 - Preparação das placas de Petri com ágar sangue enriquecido.
Fonte: Acervo do autor.

As amostras foram preparadas em triplicata após as diluições decimais seriadas e inoculadas 100 μ L em cada uma, distribuídos uniformemente com alça de Drigalski (Figura 11), com movimentos suaves no sentido horário e anti-horário, a fim de obter-se uma homogeneidade na amostra, observando-se todos os cuidados para evitar possíveis contaminações.

Figura 11 - Distribuição uniforme das amostras diluídas em Placa de Petri
Fonte: Acervo do autor.

Após as inoculações, as amostras foram colocados em estufa a $36 \pm 1^\circ\text{C}$. (Norma Técnica Especial relativa aos Laboratórios de Análises Clínicas Resolução Estadual nº 08, de 11 de março de 1987) em posição invertida e deixadas em

repouso para o crescimento das colônias de bactérias por 48 horas. Após o período de incubação, as unidades formadoras de colônias (UFC) foram contadas (Figura 12), utilizando-se lupa de aumento. Os dados foram todos anotados e posteriormente tabelados e digitalizados. O material coletado foi armazenado em refrigerador para posterior conferência e/ou necessidade.

Figura 12 - Placas de Petri inoculadas após incubação de 48h em estufa a $36 \pm 1^\circ\text{C}$
Fonte: Acervo do autor.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Resultados

Os resultados foram obtidos pelo método de contagem total de micro-organismos (análise quantitativa), sendo este capaz de determinar o número de bactérias e fungos presentes em produtos e matérias-primas não estéreis, suscetíveis à contaminação microbiológica, que apresentaram crescimento visível após período de incubação utilizando-se a técnica da semeadura em profundidade (CARTURAN, 1999).

Os resultados obtidos pelo Grupo A e B (Cepacol) estão demonstrados no gráfico 1. Apresentaram redução das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) nas três primeiras semanas de uso, assim como observado por Ito et al. (1980). Porém, quando se analisou o comportamento das UFC na quarta semana, notou-se uma variação entre 11 pacientes (58%), nos quais houve aumento comparado ao período de coleta após 14 dias de enxágue bucal. Resultado semelhante foi observado por Cortelli et al. (2012) num estudo comparativo entre o CCP e óleos essenciais.

O CCP provoca um aumento da permeabilidade celular, facilitando sua lise, reduzindo a capacidade do micro-organismo de aderir às superfícies dentárias (MARINHO; ARAÚJO, 2007; MOREIRA et al., 2009; SEMENOFF; SEMENOFF-SEGUNDO; BIASOLLI, 2008; TORRES et al., 2000). Isso estaria de acordo com os resultados obtidos nas primeiras três semanas de uso do Cepacol. Eficaz contra os Gran-positivos (RADFORD et al., 1997; MOREIRA et al., 2009), a ação bacteriostática, bactericida e/ou fungicida depende da concentração empregada, no caso, 0,05%, comum nos produtos comerciais. Devido à sua baixa substantividade, Corbin et al. (2013) relataram que após uma hora da exposição ao enxaguatório, o biofilme volta a crescer. Nesse estudo observou-se um aumento do número de colônias a partir da terceira semana de uso do enxaguatório em 58% dos pacientes, conforme Gráfico 2. Este aumento pode ser justificado por diferentes fatores como a adaptação da microbiota oral ao enxaguatório na concentração usada; displicência no uso do enxaguatório, falha na higienização ou alteração da imunidade; não foi possível identificar o que realmente ocorreu, porém os resultados não foram satisfatórios a partir da quarta semana. Os gráficos 3, 4, 5 representam as UFC após

7 dias; 14 e 21 dias respectivamente e observam-se as comparações entre a 1ª e 2ª semanas (gráfico 6); entre a 1ª e 3ª semanas (gráfico 7) e entre a 1ª e a 4ª semanas (gráfico 8).

Gráfico 1 – Distribuição das UFC nos pacientes nos grupos A e B (Cepacol) ao longo de 4 semanas

Fonte: Elaborado pelo autor.

Gráfico 2 - Comparação entre pacientes no tempo zero

Fonte: Elaborado pelo autor.

Gráfico 3 - Unidades Formadoras de Colônias (UFC) no tempo I – 7 dias

Fonte: Elaborado pelo autor.

Gráfico 4 - Unidades Formadoras de Colônias (UFC) no tempo II – 14 dias

Fonte: Elaborado pelo autor.

Gráfico 5 - Unidades Formadoras de Colônias (UFC) no tempo III – 21 dias

Fonte: Elaborado pelo autor.

Perfil de diminuição do Cepacol : 9,5 %

Gráfico 6 - Comportamento das UFC nos grupos A e B (Cepacol) comparando-se a primeira e segunda semanas de uso do enxaguatório

Fonte: Elaborado pelo autor.

Gráfico 7 - Comportamento das UFC nos grupos A e B (Cepacol) comparando-se a primeira e terceira semanas de uso do enxaguatório

Fonte: Elaborado pelo autor.

Gráfico 8 - Comportamento das UFC nos grupos A e B (Cepacol) comparando-se a primeira e quarta semanas de uso do enxaguatório

Fonte: Elaborado pelo autor.

As coletas foram feitas ao longo de um mês para cada grupo, por uma questão de logística e dinâmica de consultório e do laboratório de análises.

Primeiramente foram feitas as coletas do Grupo C e, posteriormente, do Grupo D. Do total de 21 pacientes, 12 (57%) relataram que achavam o gosto muito parecido com “xarope de avó”, “gosto de mato”, e que não tinham a sensação de “limpinho” (Gráfico 9). Os outros não relataram espontaneamente e, quando indagados, diziam que parecia “mato”. Vale salientar que as pessoas que utilizam enxaguatórios relatam que estes provocam ardor, sensação de refrescância, provocadas geralmente pelo álcool contido nas fórmulas, e isso faz com que elas pensem que estão com a cavidade oral higienizada, o que não corresponde à realidade; culturalmente “para limpar tem que arder”.

Os resultados obtidos pelo Grupo C e D (enxaguatório à base de ervas) estão demonstrados no gráfico 10.

Gráfico 9 - Distribuição de pacientes com objeções quanto ao sabor do Enxaguatório à base de ervas

Fonte: Elaborado pelo autor

Gráfico 10 - Demonstração do comportamento das UFC ao longo de 4 semanas de uso do enxaguatório à base de ervas

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os gráficos 11, 12, 13 e 14 representam as UFC zero dias, após 7 dias; 14 e 21 dias respectivamente e observam-se as comparações entre a 1ª e 2ª semanas (gráfico 15); entre a 1ª e 3ª semanas (gráfico 16); entre a 1ª e a 4ª semanas (gráfico 17) e entre a 3ª e 4ª semanas (gráfico 18).

Gráfico 11 - Unidades Formadoras de Colônias (UFC) no tempo 0 – zero dias

Fonte: Elaborado pelo autor.

Gráfico 12 - Unidades Formadoras de Colônias (UFC) no tempo I – 7 dias

Fonte: Elaborado pelo autor.

Gráfico 13 - Unidades Formadoras de Colônias (UFC) no tempo II – 14 dias

Fonte: Elaborado pelo autor.

Gráfico 14 - Unidades Formadoras de Colônias (UFC) no tempo III – 21 dias

Fonte: Elaborado pelo autor.

Gráfico 15 - Comportamento das UFC no grupo C (Enxaguatório à base de ervas) comparando-se a primeira e segunda semanas de uso do enxaguatório

Fonte: Elaborado pelo autor.

Gráfico 16 - Comportamento das UFC no grupo C(Enxaguatório à base de plantas), comparando-se a primeira e terceira semanas de uso do enxaguatório

Fonte: Elaborado pelo autor

Gráfico 17 - Comportamento das UFC no grupo C (Enxaguatório à base de plantas), comparando-se a primeira e quarta semanas de uso do enxaguatório

Fonte: Elaborado pelo autor

No grupo C, notou-se uma redução significativa de UFC (Gráfico 14). Houve uma atividade antibacteriana expressiva do enxaguatório à base de ervas. Esses resultados são extremamente importantes, pois ocorreu consequentemente a redução do número de *S. mutans* e do biofilme bacteriano, favorecendo melhor controle sobre as doenças periodontais e sobre a incidência de cárie. Apesar de

deste estudo não ter envolvido o enxaguatório a base de clorexidina, os resultados são comparáveis aos obtidos em estudos que utilizaram a mesma, consagrados na literatura, que é considerada padrão ouro. Resultados semelhantes foram obtidos por Bhadbhade et al. (2011), no estudo sobre um enxaguatório à base de romã, que apresentou efeito antibiofilme comparado ao da *clorexidina*. Kaim et al (1998) obtiveram uma redução de colônias bacterianas comparável aos resultados obtidos com *clorexidina*, em estudo comparativo de dois enxaguatórios à base de ervas com o Listerine. Rasooli et al.(2008) demonstraram a superioridade de óleos essenciais de *Mentha piperita* e *Rosmarinus officinalis* sobre a *clorexidina*. Watanabe et al. (2008) demonstraram a superioridade de resultados quando acrescentou produtos naturais ao CCP.

Cecchini et al. (2012) constataram a atividade antimicrobiana da *Achillea millefolium*. A espécie *Plantago major* que apresentou atividade inibidora do crescimento de *Escherichia coli* e de *Bacillus subtilis* (VELASCO-LEZAMA et al., 2006), ocorrendo assim uma redução de colônias bacterianas. Holetz et al. (2002) demonstraram a atividade antibacteriana e contra *Cândida* da *Plantago major*.

As propriedades anti-inflamatórias da *Tabebuia impetiginosa* são comparáveis às da *fenilbutasona* (LORENZI; MATOS, 2002; MATOS, 2000), apresentando também propriedades antimicrobianas e cicatrizantes (BARNES; ANDERSON; PHILLIPSON, 2002; MATOS, 2000).

As plantas medicinais, isoladamente, não apresentam um resultado tão efetivo quanto esse aqui demonstrado, pois ocorre um sinergismo entre elas, assim como Freitas et al. (2013) em seu estudo entre o *Nasturtium officinale* e um antibiótico padrão, potencializando seu efeito antibacteriano e bactericida.

Os resultados obtidos com o enxaguatório à base de ervas proposto neste estudo demonstraram atividade antibacteriana e bactericida na cavidade oral, inibindo o crescimento das bactérias ou eliminando-as, resultados semelhantes aos encontrados por Katsura et al. (2001) e por Li, Cai e Wu (1997).

Por outro lado, no grupo D não notamos redução alguma das UFC. A contagem foi alta e, nesse mesmo grupo, tivemos o relato de 7 (70%) pacientes que achavam que o gosto estava mudando a cada dia e que tinham que agitar muito o vidro do enxaguatório antes de realizar os bochechos, pois a cor estava “estranha” (alterada). Repetidos os procedimentos, a contagem continuou elevada (Gráfico 6).

O enxaguatório foi levado ao Laboratório de Botânica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas-UNESP, onde foi analisado comparativamente com outra amostra dos extratos hidroalcoólicos e foram detectados precipitados, o que ocasionou uma turvescência do produto. Calculado o tempo que havia sido preparado, constatou-se uma instabilidade da fórmula, fator até então desconhecido. Concluiu-se que a formulação originalmente desenvolvida teria estabilidade por aproximadamente 3 meses.

Comparando-se os dois grupos do enxaguatório à base de ervas, notou-se uma diferença significativa nos resultados, pois o segundo grupo estava usando um produto cuja instabilidade da fórmula alterou o resultado final do mesmo. Baseando-se nisso, optou-se por não incluir na análise estatística os resultados do grupo do enxaguatório adulterado, pois este não representaria com efetividade os achados da pesquisa.

Gráfico 18 - Demonstração do comportamento das UFC no Grupo D após 4 semanas de uso do enxaguatório à base de ervas, comparadas à terceira semana

Fonte: Elaborado pelo autor.

No gráfico 19 observa-se uma comparação entre os dois enxaguatórios, Cepacol (C) e Ervas (E) entre a 1ª e 2ª semanas; 1ª e 3ª semanas e 1ª e 4ª semanas.

Gráfico 19 - Comportamento das UFC, comparando-se o Cepacol e o Enxaguatório à base de ervas, semana a semana

Fonte: Elaborado pelo autor

Nota-se que na terceira semana de uso do enxaguatório à base de ervas não obteve-se redução significativa de UFC, pelo contrário, observou-se um aumento destas. Isto pode ocorrer devido à uma adaptação da flora ao enxaguatório ou por algum outro fator desconhecido.

É importante mencionar que apesar dos pacientes relatarem que seguiram às recomendações e orientações de higiene, pode ter ocorrido variações nas formas de higienização (frequência e intensidade), dieta e fatores intrínsecos relacionados à imunidade, que poderiam contribuir para a alteração dos dados. Desta forma, optou-se pela aplicação de Teste não Paramétrico.

5.1.1 Análise estatística

A análise estatística (gráfico 20) foi realizada com os *softwares Microsoft Excel* e *Statística 8.0.* pertencente ao Departamento de Físico-Química do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista – Araraquara. O teste não paramétrico de Kruskal Wallis foi aplicado para os dados na comparação entre os grupos em diferentes dias quanto às Unidades Formadoras de Colônias (UFC), seguido das comparações múltiplas das médias das ordens. Utilizou-se o nível de

significância de 5% para a tomada de decisão. Quando o valor p ou p-valor for inferior a 0,05, o teste foi considerado estatisticamente significativo.

Os p valores de acordo com os grupos, foram obtidos em amostras dos enxaguatórios. O teste de Kruskal Wallis apontou evidência de diferença significativa ($p < 0,001$) da quantidade das bactérias. Desta forma, o teste de comparações múltiplas foi aplicado na identificação das médias das ordens da quantidade de UFC.

Gráfico 20 - Demonstração do comportamento das UFC quando comparados o enxaguatório à base de ervas e o Cepacol

Fonte: Capela (2013).

Nota-se que houve redução significativa das UFC em ambos, tanto no grupo do Cepacol quanto no grupo do enxaguatório à base de ervas, observando-se apenas que na quarta semana, o grupo do Cepacol apresentou um resultado não satisfatório, provavelmente por uma adaptação da microflora ao enxaguatório.

6 CONCLUSÕES

Em relação aos objetivos e à metodologia utilizada, pode-se concluir que:

- O enxaguatório à base de ervas demonstrou extrema eficácia na atividade antibacteriana e bacteriostática, com efetiva influência na formação do biofilme bacteriano, mostrando-se mais eficaz que o enxaguatório à base de CPC.
- Este enxaguatório necessita de novos estudos e possíveis alterações na sua fórmula, para que proporcione maior estabilidade ao produto, além da melhoria do sabor, para uma futura comercialização do produto.

REFERÊNCIAS¹

AHAN, S. J.; LIM, B. S.; LEE, S. J. Prevalence of cariogenic streptococci on incisor brackets detected by polymerase chain reaction. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, St. Louis, v. 131, n. 6, p. 736–741, 2007.

AKERELE, O. Medicinal Plants and primary health care: na agenda for action. **Fitoterapia**, Milano, v. 59, n. 5, p. 355-1988.

ALALUUSUA, S. et al. Production of glucosyltransferases by clinical mutans streptococcal isolates as determined by semiquantitative cross-dot assay. **Archives of Oral Biology**, Oxford, v. 42, n. 6, p. 417–422, 1997.

ALMEIDA, E. R. de. **Plantas medicinais brasileiras**: conhecimentos populares e científicos. São Paulo: Hemus, 1993. 341 p.

ALMERICH, J. M. et al. Influence of alcohol in mouthwashes containing triclosan and zinc: an experimental gingivitis study. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 32, n. 6, p. 539-544, 2005.

ALVES, P. V. et al. Treatment protocol to control *Streptococcus mutans* level in an orthodontic patient with high caries risk. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, St. Louis, v. 133, n. 1, p. 91–94, 2008.

AMBROSIO, S. R. et al. Antimicrobial activity of kaurane diterpenes against oral pathogens. **Zeitschrift für Naturforschung. Section C: Biosciences**, Tübingen, v. 63, n. 5-6, p. 326-30, May-Jun. 2008.

ARAÚJO, D. B. et al. Mouthrinses: active ingredients, pharmacological properties and indications. Enxaguatórios bucais: princípios ativos, propriedades farmacológicas e indicações. **RGO - Revista Gaúcha de Odontologia**, Porto Alegre, v. 60, n. 3, p. 349-357, jul./set., 2012.

ARUOMA, O. I. et al. An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosemary and provencal herbs, food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial. **Biological Research Association**, Oxford, v. 34, n. 5, p. 449-456, May.1996.

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

ATAK, N. E.; SANDY, J. R.; ADDY, M. Periodontal and microbiological changes associated with the placement of orthodontic appliances: a review. **Journal of Periodontology**, Chicago, v. 67, n. 2, p. 78–85, Feb. 1996.

ATTIN, R. et al. Recolonization of mutans streptococci on teeth with orthodontic appliances after antimicrobial therapy. **European Journal of Orthodontics**, London, v. 27, n. 5, p. 489–493, Oct. 2005.

AWASTHY, K. S. et al. Differential genotoxicity of the crude leaf extract of a medicinal plant, *Casearia tomentosa*. **Biomedical and Environmental Sciences: BES**, San Diego, v. 13, n. 1, p. 12-18, Mar. 2000.

AXELSSON, P.; LINDHE, J. The effect of a preventive programme on dental plaque gingivitis and caries inschoolchildren. Results after one and two years. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 1, n. 2, p. 126-138, 1974.

AZEVEDO, S. K. S.; SILVA, I. M. Plantas medicinais e de uso religioso comercializadas em mercados e feiras livres no Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, Feira de Santana, v. 20, n.1, p.185-194, jan./mar. 2006.

BACCHI, O.; LEITÃO FILHO, H. de F.; ARANHA, C. **Plantas invasoras de culturas**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1984. 906 p.

BALMÉ, F. **Plantas Medicinais**. 5. ed. São Paulo: Hemus, 1991. 398 p.

BAMBACE, A. M. J. et al. Eficácia das soluções aquosas de clorexidina para desinfecção de superfícies. **Revista Biociências**, Taubaté, v. 9, n. 2, p. 73-81, 2003.

BAPTISTA, P. C. S.; ARAÚJO, A. N.; MONTENEGRO, M. C. B. S. M. Determinação potenciométrica em fluxo de cloreto de cetilpiridínio em desinfetantes bucais. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 4, p. 475-478, jul./ago. 2003.

BARATA, L. E. S.; QUEIROZ, S. R. R. **Contribuição efetiva ou potencial do PADCT para o aproveitamento econômico sustentável da biodiversidade**. Campinas: Ministério da Saúde e Tecnologia, 1995.

BARBOSA FILHO, J. M. et al. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v.15, n. 4, p. 392-413, dez. 2005.

BARNES, J.; ANDERSON, L. A.; PHILLIPSON, J. D. **Herbal medicines**: a guide for healthcare professionals. 2. ed. London: Pharmaceutical Press, 2002.

BARNETT, M. L. The rationale for the daily use of an antimicrobial mouthrinse. **Journal of the American Dental Association**, Chicago, v. 137, n. 3, p. 16S-21S, Nov. 2006. Supplement.

BATTINO, M. et al. In vitro antioxidant activities of mouthrinses and their components. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 29, n. 5, p. 462-467, May. 2002.

BAUROTH, K. et al. The efficacy of an essential oil antiseptic mouthrinse vs. Dental floss in controlling interproximal gingivitis: a comparative study. **Journal of the American Dental Association**, Chicago, v. 134, n. 3, p. 359-365, Mar. 2003.

BAYTOP, T. Türkiye’de bitkiler ile tedavi (treatment with plants in Turkey). **Istanbul University Publications**, Istanbul, v. 40, n. 3255, p. 176, 1999.

BENDAZOLLI, W. S. Fitomedicamentos: perspectivas de resgate de uma terapia histórica. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 123-126, mar./abr. 2000.

BENZI, G.; CECI, A. Herbal Medicines in European Regulation. **Pharmacological Research**, London, v. 35, n. 5, p. 355-62, May. 1997.

BERNARDES, W. A. et al. Antibacterial activity of the essential oil from *Rosmarinus officinalis* and its major components against oral pathogens. **Zeitschrift für Naturforschung. Section C: Biosciences**, Tübingen, v. 65, n. 9-10, p. 588-593, Sep-Oct. 2010.

BHADBHADDE, S. J. et al. The antiplaque efficacy of pomegranate mouthrinse. **Quintessence international**, Berlin, v. 42, n. 1, p. 29-36, Jan. 2011.

BLUMENTAHL M. **The complete german commission e monographs**: therapeutic guide to herbal medicines. Austin: American Botanical Council, 1998.

BLUMENTHAL, M.; GOLDBERG, A.; BRINCKMAANN, J. **Herbal medicine**: expanded commission e monographs. New York: Integrative Medicine Communications, 2000.

BOWEN, W. H.; KOO, H. Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. **Caries Research**, Basel, v. 45, n. 1, p. 69-86, Feb. 2011.

BOZIN, B. et al. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., *Lamiaceae*) essential Oils. **Journal of agricultural and food chemistry**, Washington, v. 55, n. 19, p. 7879–7885, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução-RDC n. 17 de 24 de fevereiro de 2000**. Brasília, DF, 2000. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Disponível em: <http://www.cff.org.br/userfiles/file/resolucao_sanitaria/17.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2013.

_____. Secretaria de Estado da Saúde e do Bem-Estar Social. **Resolução-Estadual n. 8, de 11 de março de 1987**. Disciplina as instalações , serviços de laboratórios de análises clínicas e postos de coleta de material. Disponível em: <http://www.saude.pr.gov.br/arquivos/File/Legislacao/estudual_resolucao/87rpr08.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2013.

BUCHAUL, R. B. **Histórico da fitoterapia**. 2001. (Série Cadernos de Fitoterapia). Disponível em:< <http://www.reocities.com/buchaul/cadernos.htm>>. Acesso em 10 fev. 2013.

BUFFON, M.C.M. et al. Avaliação da eficácia dos extratos de *Malva sylvestris*, *Calêndula officinalis*, *Plantago major* e *Curcuma zedoaria* no controle do crescimento das bactérias da placa dentária. Estudo “*in vitro*”. **Revista Visão Acadêmica**, Goiás, v. 2, n. 1, p. 31-37, jan./jun. 2001.

BUGNO, A. et al. Antimicrobial efficacy of *Curcuma zedoaria* extract as assessed by linear regression compared with commercial mouthrinses. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 38, n. 3, p. 440-445, Set. 2007.

_____. Enxaguatórios bucais: avaliação da eficácia antimicrobiana de produtos comercialmente disponíveis. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 65, n. 1, p. 40-45, jan./abr. 2006.

BUISCHI, Y. *Salivary streptococcus mutans* and caries prevalence in brasilian schoolchildren. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, Copenhagen, v. 17, n. 1, p. 28-30, Feb. 1989.

BUREN, J. L. et al. Inhibition of enamel demineralization by an enamel sealant, Pro Seal: an in-vitro study. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, St. Louis, v. 133, n. 4, p. S88–S94, Apr. 2008.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 33, n. 2, p. 179-89, Feb. 2000.

CANDAN, F. et al. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (*Asteraceae*). **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 87, n. 2-3, p. 215-220, Aug. 2003.

CAÑIGUERAL, S.; VILA, R. **Fitoterapia, vademecum de prescripción**. 3. ed. Barcelona: Masson, 1998.

CAPELA, M. V. **Elaboração de dados pelo software Estatística 8.0**. Araraquara: UNESP, 2013. Colaboradora na elaboração dos gráficos estatísticos pelo software Estatística 8.0 do Departamento de Físico-Química do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista – Araraquara.

CARRARA, D. Fitoterapia: porque devemos incentivar a fitoterapia no atendimento à saúde? **Boletim Raízes da Terra**, Rio de Janeiro, Ano I, n. 4, 2000. Disponível em: <http://www.bchicomendes.com/bcm/bol_04.htm>. Acesso em: 10 fev. 2013.

CARTURAN, G. F. **Guia ABC de microbiologia**: controle microbiológico na indústria e produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. Parâmetros, Metodologia Analítica e Orientações. São Paulo: Associação Brasileira de Cosmetologia, 1999.

CATON, J. G. et al. Consensus Report: Dental Plaque-Induced Gingival Diseases. **Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology**, Chicago v. 4, n. 1, p. 18-19, Dec. 1999.

_____. Consensus Report: Non-Plaque-Induced Gingival Lesions. **Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology**, Chicago, v.4, n. 1, p. 30-31, Dec. 1999a.

CAUFIELD, P. W. et al. Natural History of *Streptococcus sanguinis* in the Oral Cavity of Infants: Evidence for a Discrete Window of Infectivity. **Infection and Immunity**, Washington, DC, v. 68, n. 7, p. 4018-4023, Jul. 2000.

CEPACOL. **Product**. Disponível em:

<<http://www.cepacol.com/mouthwash.php>>. Acesso em: 10 fev. 2013.

CECCHINI et al. Antimicrobial efficacy of *Achillea ligustica* All. (*Asteraceae*) essential oils against reference and isolated oral microorganisms. **Chemistry & biodiversity**, Zürich, v. 9, n. 1, p. 12-24, Jan. 2012.

CHAMBRONE, L.; LIMA, L.A.P.A; CHAMBRONE, L.A. Prevalência das doenças periodontais no Brasil. Parte II. 1993-2003. **Revista Odonto**, São Bernardo do Campo, Ano 16, n. 31, p. 69-76, jan./jun. 2008.

CHEN, L.; MOHR, S.N.; YANG, C.S. Decreased of plasma and urinary oxidative metabolites of acetaminophen after consumption of watercress by human volunteers. **Clinical pharmacology and therapeutics**, St. Louis, v. 60, p. 651-660, 1996.

CORBIN, A. et al. Antimicrobial penetration and efficacy in an *in vitro* oral biofilm model. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 55, n. 7, p. 3338–3344, July. 2011. Available on: <<http://aac.asm.org/content/55/7/3338.full>>. Access in: 13 fev. 2013.

CORDEIRO, C H.G. **Atividade biológica de gel dentifrício e enxaguatório bucal contendo extratos vegetais**. 2005. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2005.

CORTELLI, J. R., et al. Comparative antiplaque and antigingivitis efficacy of a multipurpose essential oil-containing mouthrinse and acetylpyridinium chloride-containing mouthrinse: A 6-month randomized clinical trial. **Quintessence international**, Berlim, v. 43, n. 7, p. 82-94, Jul./Aug. 2012.

CUNHA, L. C. S. et al. Antibacterial activity of triterpene acids and semi-synthetic derivatives against oral pathogens. **Zeitschrift für Naturforschung. Section C: Biosciences**, Tübingen, v. 62 c, p. 668-672, feb. 2007.

DE LORENZO, J. L.; DE LORENZO, A. **Microbiologia para o estudante de microbiologia: cariolgia - etiopatogenia da cárie dental**. São Paulo: Atheneu, 2004.

DEMLING, A. et al. Reduction of biofilm on orthodontic brackets with the use of a polytetrafluoroethylene coating. **European Journal of Orthodontics**, Oxford, v. 32, n. 4, p. 414-418, Aug. 2010.

DIAS, P. C. et al. Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extract of *Rosmarinus officinalis* L. **Journal of ethnopharmacology**, Limerick, v.69, n.1, p. 57-62, Jan. 2000.

DRUMOND, M. R. S. et al. Estudo Comparativo in vitro da Atividade Antimicrobiana de Produtos Fitoterápicos. **Pesquisa brasileira em Odontopediatria e Clínica integrada**, João Pessoa, v. 4, n. 1, p. 33-38, jan./abr. 2004.

EMILSON, C. Potential efficacy of chlorhexidine against mutans streptococci and human dental caries. **Journal of Dental Research**, Chicago, v. 73, n. 3, p. 682-691, Mar.1994.

ERICSON, D. et al. The legacy of cariologist douglas bratthall, an inspired scientist. **Journal of Dental Research**, Chicago, v.9, n.10, p. 909-913, May. 2012.

ETTORI, L.C. et al. Variabilidade genética em populações de ipê-roxo – *Tabebuia heptaphylla* (Vell.) Tol. – para conservação ex situ. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 8, n. 1, p. 61-70,1996.

FALCONI, Armando. **Ipê Roxo – Tabebuia impetiginosa**. Março 22, 2011. Disponível em: <<http://orienteocidente.wordpress.com/2011/03/22/ipe-roxo-tabebuia-impetiginosa/>>. Acesso em: 13 fev. 2013.

FIGUEIREDO, E. et al. Determinação da diluição inibitória máxima de um enxaguatório bucal à base de própolis e extratos vegetais. In: REUNIÃO CIENTÍFICA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS, 16., 1999, Águas de São Pedro. **Anais...** São Paulo: SBPqO, 1999. p.106.

FISHER, P. E.; WARD, A. Complementary Medicine in Europe. **British Medical Journal**, London, v. 309, n. 9, p. 107-11, July. 1994.

FLEMMING, T. F. Periodontitis. **Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology**, Chicago, v.4, n. 1, p. 32-37, Dec. 1999.

FONT QUER, P. **Plantas medicinales**: el dioscórides renovado. Madri: Editorial Labor, 1993. 3 v.

FREITAS, E. et al. Antibacterial activity and synergistic effect between watercress extracts, 2-phenylethyl isothiocyanate and antibiotics against 11 isolates of

Escherichia coli from clinical and animal source. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, 18 May. 2013.

FREITAS, A. G. et al. Atividade antiestafilocócica do *Plantago major* L. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 16., 2000, Recife. **Anais....**Recife: Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, 2000. p. 265.

GAGARI, E.; KABANI, S. A. Adverse effects of mouthwash use. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics**, St. Louis, v. 80, n. 4, p. 432-428, 1995.

GALLITSCHKE, N. et al. Inhibition of interproximal plaque metabolism using CPCmouthrinse. **The Journal of Clinical Dentistry**, Yardley, v.15, p. 59–65, 2004.

GASTEL J, et al. Longitudinal changes in microbiology and clinical periodontal variables after placement of fixed orthodontic appliances. **Journal of Periodontology**, Chicago, v. 79, n. 11, p. 2078–2086, nov. 2008.

GEBARA, E. C. E.; ZARDETTO, C. G. D. C; MAYER, M. P. A. In vitro study of the antimicrobial activity of natural substances against *S. mutans* and *S. Sobrinus* . **Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v.10, p. 251–256, 1996.

GEBRAN, M. P; GEBERT, A. P. O. Controle químico e mecânico de placa bacteriana. **Tuiuti: Ciência e Cultura**, Curitiba, n. 26, v. 3, p. 45-58, 2002.

GENCO, R. J.; COHEN, D. W.; GOLDMAN, H. M. **Periodontia Contemporânea**. 2. ed. São Paulo: Ed. Santos, 1997. cap. 8 e 9, p. 117-134.

GRANJEIRO, J. M. et al. O cloreto de cetilpiridínio e a placa bacteriana: uma revisão. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, São Paulo, v. 47, n. 2, p. 1019-1022, mar./abr. 1993.

COHEN'S, Scott. **Rosmarinus officinalis**. Available on: <
<http://greenscenelandscape.com/PlantsQRS.htm>>. Access on: 13 fev. 2013.

GROSS, E. L. et al. Bacterial 16S sequence analysis of severe caries in young permanent teeth. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 48, n. 11, p. 4121-4128, Nov. 2010.

GROSSMAN, E. et al. Six-month study of the effects of achlorhexidine mouthrinse on gingivitis in adults. **Journal of Periodontal Research**, Copenhagen, v.21, n. 16, p. 33–43, 2006.

GUARIM NETO, G.; MORAIS, R. G. Recursos medicinais de espécies do cerrado de Mato Grosso: Um estudo bibliográfico. **Acta Botânica Brasileira**, Feira de Santana, v.17, n. 4, p. 561-584, 2003.

GUYOT, M. A. M. Perspectivas da fitoterapia. **Acta Farmacêutica Bonaerense: Latin American Journal of Pharmacy**, Buenos Aires, v. 9, n. 2, p. 131-138, 1990.

HAFFAJEE, A. D. et al. Effect of herbal, essential oil, and chlorhexidine mouthrinses on the composition of the subgingival microbiota and clinical periodontal parameters. **The Journal of clinical dentistry**, Yardley, v. 20, n. 7, p. 211-217, 2009.

HARAGUCHI, H. et al. Inhibition of lipid peroxidation and superoxide generation by diterpenoids from *Rosmarinus officinalis*. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 61, n. 4, p.333-336, Aug. 1995.

HEMAISWARYA, S; KRUTHIVENTI, A. K; DOBLE, M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. **Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology**, Stuttgart, v. 15, n. 8, p. 639–652, 2008.

HOLETZ, F. B. et al. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 7, p.1027-1031, out. 2002.

HOLMSTRUP, P. Non-Plaque-Induced Gingival Lesions. **Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology**, Chicago, v.4, n. 1, p. 20-29, Dec. 1999.

ITO, I. Y. et al. Efeitos do cloreto de cetilpiridínio na inibição da placa dental e nas condições clínicas da gengiva humana. **Revista Odontólogo Moderno**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 2, p. 3-15, 1980.

JEON, J. G. et al. Natural Products in Caries Research: Current (Limited) Knowledge, Challenges and Future Perspective. **Caries research**, Basel, v. 45, n. 3, p. 243–263, May, 2011.

JORGE, L. I. F. et al. Anatomy and evaluation of the antimicrobial activity in vitro of yarrow (*Achillea millefolium* L), **Revista de Ciências Farmacêuticas**, Araraquara, v. 20, p. 49-58, 1999.

KAIM, J. M. et al. An in vitro investigation of the antimicrobial activity of an herbal mouthrinse. **The Journal of clinical dentistry**, Yardley, v. 9, n. 2, p. 46-48, 1998.

KATSURA, H. et al. In Vitro Antimicrobial Activities of Bakuchiol against oral microorganisms. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 45, n. 11, p. 3009-3013, Nov. 2001.

KATZER, G. **Garden cress (*Lepidium sativum* L.), Water cress (*Nasturtium officinale* L.) and Nasturtium (*Tropaeolum majus* L.)**. 19 de marco de 2012. Available on: <http://gernot-katzers-spice-pages.com/engl/Lepi_sat.html>. Access on: 10 fev. 2013.

KELLER, K. Legal requirements for the use of phytopharmaceutical drugs in Federal Republic of Germany. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 32, n. 1-3, p. 225-259. Apr. 1991.

KÖHLER, B.; BRATTHALL, D.; KRASSE, B. Preventive measures in mothers influence the establishment of the bacterium *Streptococcus mutans* in their infants. **Archives of Oral Biology**, Oxford, v. 28, n. 3, p. 225-231, 1983.

KÖHLER, B.; ANDRÉEN; I. Mutans Streptococci and Caries Prevalence in Children after Early Maternal Caries Prevention: A Follow-Up at Eleven and Fifteen Years of Age. **Caries Research**, Basel, v. 44, n. 5, p. 453–458, Sept. 2010.

KORNMAN, K. The microbiologic etiology of periodontal disease. **The Compendium of continuing Education in Dentistry**, Lawrenceville, n. 7: p. S173-5-S178, 1986. Suppl.

KOZEL, C. **Saúde e cura pelas plantas e outros recursos naturais**. 13. ed. São Paulo: Casa Editora Firmamento, 1997.

KRETH, J.; MERRITT, J.; SHI, W; Q. I. F. Competition and coexistence between *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* in the Dental Biofilm. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 187, n. 21, p. 7193-7203, 2005.

LANG, N. P. et al. Placa e cálculo dentais. In. Lindhe, J. (Ed). **Tratado de periodontia clínica e implantodontia oral**. Tradução de Edson Jorge de Lima Moreira. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1997. p. 68-89.

LEITE, S. N. **Além da medicação**: a contribuição da Fitoterapia para a saúde pública. 2000. 114 f. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Saúde Materno-Infantil Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

LEME, A. F. P. et al. The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation-new insight. **Journal of Dental Research**, Chicago, v. 85, n. 10, p. 878-887, Oct. 2006.

LEWIS, W. H.; ELVIN-LEWIS, M. P. F. **Medical botany**: plants affecting man's health. Nova York: Wiley e Sons, 1997.

LI, X.C.; CAI, L; WU, C.D. Antimicrobial compounds from *Ceanothus americanus* against oral pathogens. **Phytochemistry**, London, v. 46, n. 1, p. 97-102, Sept. 1997.

LILJEMARK, W.F.; BLOOMQUIST, C. Human oral microbial ecology and dental caries and periodontal diseases. **Critical Reviews in Oral Biology and Medicine: an Official Publication of the American Association of Oral Biologists**, Alexandria, v. 7, n. 2, 180-198, 1996.

LIMA, A. L. et al. Análise do pH e da viscosidade de enxaguatórios bucais fluoretados disponíveis comercialmente na cidade de João Pessoa-PB. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, João Pessoa, v. 5, n. 3, p. 223-8, 2005.

LINDHE, J. **Tratado de Periodontologia Clínica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. 493p.

LINDHE, J. et al. Consensus Report: Chronic Periodontitis. **Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology**, Chicago, v. 4, n. 1, p. 38, Dec. 1999.

LISANTE, T. A.; MCGUIRE, J. A.; WILLIAMS, K. P. The staining potential of various currently marketed mouthrinses. **The Journal of clinical dentistry**, Yardley, v. 24, n. 1, p. 5-11, 2013.

LIVING Afield. **Yarrow** (*Achillea millefolium*). Available on: <
http://livingafield.com/Plants_Achillea_millefolium.htm>. Access on: 13 fev. 2013.

LOESCHE, W. J. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay.
Microbiological Reviews, Washington, v. 50, n. 4, p. 353-380, Dec. 1986.

LONGHI, R. A. **Livro das árvores**: árvores e arvoretas do Sul. 2. ed. Porto Alegre:
 L&PM, 1995. 176p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas
 arbóreas nativas do Brasil. 4. ed. Nova Odessa: Editora Plantarum, 2002.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil**: nativas e exóticas.
 Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. p. 419.

_____. **Plantas Medicinais do Brasil**: nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto
 Plantarum de Estudos da Flora, 2002. 512 p.

_____. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa:
 Instituto Plantarum, 2006. 512 p.

LOVROV, S.; HERTRICH, K.; HIRSCHFELDER, U. Enamel demineralization during
 fixed orthodontic treatment: incidence and correlation to various oral-hygiene
 parameters. **Journal of orofacial orthopedics = Fortschritte der**
Kieferorthopädie: Organ/official journal Deutsche Gesellschaft für
Kieferorthopädie, München, v. 68, p. 353-363, 2007.

MANJI, F. et al. The epidemiological features of dental caries in African and Chinese
 populations: implications for risk assessment. In: JOHNSON, N. W. (Ed.). **Risk**
markers of oral diseases: dental caries - markers of high and low risk groups
and individuals. Cambridge: Cambridge University Press, 1991. v.1, p. 62-69.

MANSCHOT, A. Orthodontics and inadequate oral hygiene compliance as a
 combined cause of localized gingival recession: a casereport. **Quintessence**
International, Berlin, v. 22, n. 11, p. 865-870, Nov. 1991.

MARINHO, B. V. S.; ARAÚJO, A. C. S. O uso dos enxaguatórios bucais sobre a
 gengivite e o biofilme dental. **International Journal of Dentistry**, Cairo, v. 6, n. 4, p.
 124- 131. 2007.

MARIOTTI, A. Dental Plaque-Induced Gingival Diseases. **Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology**, Chicago, v.4, n. 1, p. 7-17, Dec. 1999.

MARQUES, M.B. Patentes farmacêuticas e acessibilidade aos medicamentos no Brasil. **Revista História, Ciências, Saúde- Manguinhos**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 1, p. 7-21, mar./jun. 2000.

MARSH, P. D. Hosts defences and microbial homeostasis: role of microbial interactions. **Journal of Dental Research**, Chicago, v. 68, p. 1567-1575, 1989.

MARSH, P. D. et al. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv. Dent. Res.*, v. 8, n. 2, p. 263-271, July. 1994.

_____. Microbiological aspects of the chemical control of plaque and gingivitis. **Journal of Dental Research**, Chicago, v. 71, n. 7, p. 1431-1438. 1992.

MARSH, P. D.; NYVAD, B. The oral microflora and biofilms on teeth. In: FEJERSKOV, O., KIDD E. A. M. **Dental Caries**. London: Blackwell Munksgaard, 2003. p. 30-48.

MARTINS, E. R. et al. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: UFV, 1994. 220 p.

_____. **Plantas medicinais**. 3. ed. Viçosa: UFV Editora, 2000. 220p.

MATOS, F. J. de A. **Plantas medicinais**: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil. 2. ed. Fortaleza: Imprensa Universitária UFC, 2000. 344p.

MEDEIROS, M. F. T; FONSECA, V. S; ANDREATA, R. H. P. Plantas medicinais e seus usos pelos sitiantes da Reserva Rio das Pedras, Mangaratiba, RJ, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, Feira de Santana, v. 18, n. 2, p. 391-399, 2004.

MEDEIROS, U. V. Aspectos gerais no controle da placa bacteriana: controle de placa bacteriana em saúde pública. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, São Paulo, v. 45, n. 3, p. 479-483, 1991.

MENDES, M. M. S. G. et. al. Agentes químicos para o controle da placa bacteriana. **Periodontia**, Fortaleza, v. 5, n. 2, p. 253-256, 1995.

MENEZES, L. M. et al. A inter-relação ortodontia: periodontia em pacientes adultos. **Ortodontia Gaúcha**, Porto Alegre, v. 7, n. 1, p. 6-21, jan./jun. 2003.

MOI, G. P.; TENUTA, L. M. A.; CURY, J. A. Anticaries potential of a fluoride mouthrinse evaluated in vitro by validated protocols. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v. 19, n. 2, p. 91-96, 2008.

MOLONY, D. **Complete guide to chinese herbal medicine**. New York: Berkley Books, 1998.

MONFRIN, R. C. P.; RIBEIRO, M. C. Avaliação in vitro de antissépticos bucais sobre a microbiota da saliva. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, São Paulo, v. 54, n. 5, p. 400-407, 2000.

MOREIRA, A. C. A. et al. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de antissépticos bucais. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v. 8, n. 2, p. 153-161, 2009.

MOREIRA, C. H. et al. Analyses of patients'consumption profile of oral rinse solutions. CONVENTION CENTER EXHIBIT HALL C, Periodontal Research – Therapy, 82., San Diego, **Poster Session...** San Diego, 2002.

MORS, W. B. Plantas Medicinais. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, n. 3, p. 14-19, nov./dez. 1982.

MURPHY, S. E. Consumption of watercress fal to alter coumarin metabolism in humans. **Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals**, Bethesda, v. 29, p. 786-787, 2001.

MUSZYNSKI, J. Volta à fitoterapia da terapêutica moderna. **Revista da Flora Medicinal**, Rio de Janeiro, Ano XV, n. 9, p. 363-384, set. 1948.

NAKATANI, N. PHenolic antioxidants from herbs and spices. **BioFactors (Oxford, England)**, Oxford, v. 13, n. 1-4, p. 141-146, 2000.

NARANJO, A. A. et al. Changes in the subgingival microbiota and periodontal parameters before and 3 months after bracket placement. **American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics: official publication of the American Association of Orthodontists, its constituent societies, and the American Board of Orthodontics**, St. Louis, v.130, n.3, p. 275.e17–275.e22, Sept. 2006.

NEGRAES, P. **Guia A_Z de plantas**. São Paulo: Bei Comunicação, 2003.

_____. **Fitoterapia**: uma historia com muito sabor. *Jornal Amigos do Horto*, São Paulo, 2001.

NEVES, E. S. Plantas medicinais na saúde pública. **Silvicultura em São Paulo**, São Paulo, v.16-A, pt.1, p. 181-186, 1982.

NEVES, M. C. L. C.; TAKATA, E. L.; SACRAMENTO, L. V. S. *Rosmarinuss Officinalis* L. atividade antiedematogênica e analgésica. In: SIMPOSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 16., 2000. **Anais...** Recife: Universidade Federal de Pernambuco. UFPE, 2000. p. 267.

NOGUEIRA FILHO, G. R.; TOLEDO S.; CURY, J. A. Avaliação do efeito de um dentifrício contendo triclosan-gantrez - zinco-pirofosfato na gengivite experimental em humanos. **Revista Periodontia**, Rio de Janeiro, v.6, p. 20-24. 1997. Suplemento.

NOGUEIRA, J. H. C. et al. Inibição do crescimento de *Aspergillus flavus* por cromenos constituintes do óleo de mentrasto (*Ageratum conyzoides*). In: JORNADA PAULISTA DE PLANTAS MEDICINAIS, 8., São Paulo, 2007. **Jornal Brasileiro de Fitomedicina...** São Paulo, 2007. v.5. p.176.

OGAARD, B. Orthodontic appliances and enamel demineralization. Part 2. Prevention and treatment of lesions. **American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics: official publication of the American Association of Orthodontists, its constituent societies, and the American Board of Orthodontics**, St. Louis, v. 94, n. 2, p. 123-128, Aug. 1988.

_____. Prevalence of white spot lesions in 19-year-olds: a study on untreated and orthodontically treated persons 5 years after treatment. **American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics: official publication of the American Association of Orthodontists, its constituent societies, and the American Board of Orthodontics**, St. Louis, v. 96, n. 5, p. 423–427, Nov. 1989.

OGAARD, B. et al. Fluoride level in saliva after bonding orthodontic brackets with a fluoride containing adhesive. **American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics: official publication of the American Association of Orthodontists, its constituent societies, and the American Board of Orthodontics**, St. Louis, v. 111, n. 2, p. 199-202, Feb. 1997.

OLIVEIRA, R. A. G. **Introdução ao estudo de plantas medicinais**. João Pessoa: UFPB/CAPES/PROIN, 1997.

OLIVEIRA, D. C. de et al. Redução do índice de placa com Listerine: avaliação do índice de placa em relação ao uso de Listerine e/ou escovação. **RGO - Revista Gaúcha de Odontologia**, Porto Alegre, v. 46, n. 2, p. 101-108, abr./jun.1998.

ONODA, Y.; SCHIEVING, F.; ANTEN, N. P. R. Effects of light and nutrient availability on leaf mechanical properties of plantago major: a conceptual approach. **Annals of Botany**, Oxford, v. 101, n. 5, p. 727-736, Apr. 2008.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD – OMS. **Pautas para a evaluación de medicamentos herbarios**. Ginebra, 1991. Disponível em: < http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/pautas_para_la_evaluacion_de_medicamentos.pdf >. Acesso em: 10 fev. 2013.

OSAWA, K. Inhibitory effects of aqueous extract of cacao bean husk on collagenase of *Bacteroides gingivalis*. **The Bulletin of Tokyo Dental College**, Tokyo, v. 31, n. 2, p. 125-128, 1990.

PALOMBO, E. Traditional Medicinal Plant Extracts and Natural Products with Activity against Oral Bacteria: Potential Application in the Prevention and Treatment of Oral Diseases. **Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM**, Oxford, v. 2011, p. 1-15, Jan. 2011.

PANIZZA, S. **Plantas que curam: cheiro de mato**. 17. ed. São Paulo: Ibrasa, 1998. 279p.

PANZERI, H. et al.. Avaliação da ação do triclosan em várias associações comuns em dentifrícios. **Revista ABO Nacional**, São Paulo, v. 9, n.1, p. 18-23, 2001.

PAOLINO, V.J.; KASHKET, S. Inhibition by cocoa extracts of biosynthesis of extracellular polysaccharide by human oral bacteria. **Archives of Oral Biology**, Oxford, v. 30, p. 359-63, 1985.

PARFITT, G. J.; MJÖR, I. A. A clinical evaluation of localized gingival recession in children. **Journal of Dentistry for Children**, Chicago, v. 31, p. 257-262, 1964.

PESSOA, Fernando. **Mensagem**: poemas esotéricos. Madrid: ALLCA XX, 1997. (Colección Archivos: 1ª reimpressão; 28).

PETERSEN, P.E. et al. The global burden of oral disease and risks to oral health. **Bulletin of the World Health Organization**, Geneva, v. 83, n. 9, p. 661-669, 2005.

PIACEZZI NASCIMENTO, A. et al. Efficacy of mouthrinse spray in inhibiting cariogenic biofilm formation on toothbrush bristles. **Brazilian Journal of Oral Sciences**, Piracicaba, v. 7, n. 24, p. 1989-1992, jan./mar. 2008.

PIRES J. R.; ROSSA JUNIOR, C.; PIZZOLITTO, A. C. In vitro antimicrobial efficiency of a mouthwash containing triclosan/gantrez and sodium bicarbonate. **Brazilian Oral Research**, São Paulo, v. 21, n. 4, p. 342-347, Oct./Dec. 2007. Available from < <http://www.scielo.br/pdf/bor/v21n4/a11v21n4.pdf> >. Access on: 21 June 2013.

POGGI, P. et al. Mouthrinses with alcohol: cytotoxic effect on human gingival fibroblasts in vitro. **Journal of periodontology**, Chicago, v. 74, n. 5, p. 623-9, 2003.

PORTO, T. S. et al. Pimarane-type diterpenes: antimicrobial activity against oral pathogens. **Molecules**, Basel, v. 14, n. 1, p.191-199, Jan. 2009.

POTRICH, F. B. et al. Antiulcerogenic activity of hydroalcoholic extract of *Achillea millefolium* L.: involvement of the antioxidant system. **Journal of ethnopharmacology**, Limerick, v. 130, n. 1, p. 85-92, July. 2010.

RADFORD, J. R. et al. Effect of use 0.05% cetylpyridinium chloride mouthwash on normal oral flora. **Journal of Dentistry**, Kidlington, v. 25, n. 1, p. 35-40, Jan. 1997.

RASOOLI, I. et al. Phytotherapeutic prevention of dental biofilm formation. **Phytotherapy research: PTR**, London, v. 22, n. 9, p. 1162-1167, Sept. 2008.

RATES, S. M. K. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. **Revista brasileira de farmacognosia: órgão oficial da Sociedade Brasileira de Farmacognosia**, Maringá, v. 11, n. 2, p. 57-69, 2001.

REY, L. **Dicionário de Termos Técnicos de Medicina e Saúde**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 825p.

RODRIGUES, A. C. C.; GUEDES, M. L. S. Utilização de plantas medicinais no Povoado Sapucaia, Cruz das Almas – Bahia. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu-SP, v. 8, n. 2, p. 1-7, 2006.

ROSAN, B; LAMONT, R. J. Dental plaque formation. **Microbes and infection / Institut Pasteur**, Paris, v.2, n.13, p. 1599-1607, 2000.

RUKAYADI, Y; HWANG, J. K. In vitro activity of xanthorrhizol against *Streptococcus mutans* biofilms. **Letters in applied microbiology**, Oxford, v. 42, n. 4, p. 400-404, 2006.

SAKER, M. M.; KAWASLITY, S. A. Tissue culture and flavonoid content of *Nepeta* and *Plantago* species endemic in Egypt. **Fitoterapia**, Milano, v. 69, n. 4, p. 358-364, 1998.

SALLUM, E. J. et al. Clinical and microbiologic changes after removal of orthodontic appliances. **American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics : official publication of the American Association of Orthodontists, its constituent societies, and the American Board of Orthodontics**, St. Louis, v. 126, n. 3, p. 363–366, Sept. 2004.

SAMUELSEN, A. B. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. (PMID:10904143). **Journal of ethnopharmacology**, Limerick, v. 71, n. 1-2, p. 1-21, 2000.

SANTOYO, S. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. **Journal of food protection**, Ames, v. 68, n. 4, p. 790-795, 2005.

SCHEIE, A. A. Modes of action of currently known chemical antiplaque agents other than chlorhexidine. **Journal of dental research**, Chicago, v. 68, p. 1609-1616, 1989.

SEGUNDO, A. S. et al. Efetividade do gluconato de clorexidina a 0,12% e do digluconato de clorexidina a 2% adquiridos em diferentes dentais e farmácias na cidade de Cuiabá, sobre *Candida albicans*. **Revista Periodontia**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 1, p. 41-5, mar. 2007.

SEGURA, M. E. **Estudos dos compostos de inclusão tipo hospedeiro-convidado entre a beta-ciclodextrina e a clorexidina: avaliação in vitro.** 1999, 101f. Tese (Doutorado em Odontologia)-Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

SEMENOFF, T. A. D. V.; SEMENOFF-SEGUNDO, A.; BIASOLLI, E. R. Efetividade antimicrobiana in vitro de enxaguatórios bucais frente aos micro-organismos *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. **Revista Odonto Ciência**, Porto Alegre, v. 23, n. 4, p. 351-354, 2008.

SETTHEETHAM, W.; ISHIDA, T. Study of genotoxic effects of antidiarrheal medicinal herbs on human cells in vitro. **The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health**, Bangkok, v. 26, n. 1, p. 306-10, 1995. Suppl.

SEYMOUR, R. Additional properties and uses of essential oils. **Journal of Clinical Periodontology**, Malden, v. 30, n. 15, p.19-21, 2003.

SHAFI, I. Fluoride varnish reduces white spot lesions during orthodontic treatment. **Evidence-Based Dentistry**, London, v. 9, n. 3, p. 81, 2008.

SHEEN, E., OWENS, J., ADDY, M. The effect of toothpaste on the propensity of chlorhexidine and cetylpyridinium chloride to produce staining in vitro: a possible predictor of inactivation. **Journal of Clinical Periodontology**, Malden, v. 28, n. 1, p. 46, Jan. 2001.

SHIM, J. Y. et al. Antiplaque and antigingivitis effects of mouthrinse containing cetylpyridinium chloride, triclosan and dipotassium glycyrrhizinate. **Journal of Periodontal & Implant Science**, Seoul, v. 42, n.2, p. 33-38, Apr. 2012.

SINGH, A.; DAING. A.; DIXIT, J. The effect of herbal, essential oil and chlorhexidine mouthrinse on de novo plaque formation. **International Journal of Dental Hygiene**, Oxford, v. 11, n.1, p. 48-52, Feb. 2013.

SIQUEIRA, A. C. M. F.; NOGUEIRA, J. C. B. Essências brasileiras e sua conservação genética no Instituto Florestal de São Paulo. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2., 1992, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Instituto Florestal, 1992. p. 1187. (Publicado na Revista do Instituto Florestal, v. 4, parte 4, p. 1187, edição especial, mar.1992).

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. **The Journal of periodontology**, Chicago, v. 63, n. 4, p. 322-331, Apr. 1992.

SOEJARTO, D. D. Biodiversity prospecting and benefit sharing: perspectives from the field. **Journal of ethnopharmacology**, Limerick, v.51, m. 1-3, p.1-15, Apr. 1996.

SOUZA, G. C. de et al. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. **Journal of ethnopharmacology**, Limerick, v. 90, n. 1, p. 135-143, Jan. 2004.

STUDIO-Ryu. **Plantain**: a.k.a Broadleaf Plantain, Greater Plantago. Available on: <http://www.theurbanabo.com/urban_plants.php?pid=4>. Access on: 12 feb. 2013.

TANG, E. L. K.; WEI, S. H. Y. Assessing treatment effectiveness of removable and fixed orthodontic appliances with the occlusal index. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, St. Louis, v. 98, p. 550–555, 1990.

TANNER, A. et al. Cultivable anaerobic microbiota of severe early childhood caries. **Journal of clinical microbiology**, Washington, v. 49, p. 1464-1474, 2011.

THE UNITED STATES Pharmacopeia. 23th. ed. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, 1995.

THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Cariologia clínica**. São Paulo: Santos; 1995.

TOKUS, Ana. **Cárie no 13... da azar?** 13 maio 2011. Disponível em: <http://medodedentista.com.br/2011/05/carie-no-13-da-azar.html>. Acesso em: 13 fev. 2013.

TORRES, C. R. G. et al. Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na odontologia. **RPG – Revista da Pós-Graduação da FOUSP**, São José dos Campos, v. 3, n. 2, p. 43-52, jul./dez. 2000.

TROTT, J. R.; LOVE, B. An analysis of localized gingival recession in 766 Winnipeg high school students. **The Dental Practitioner and Dental Record**, Bristol, v. 16, n. 6, p. 209-213, Feb. 1966.

TUFEKCI, E. et al. Effectiveness of an essential oil mouthrinse in improving oral health in orthodontic patients. **The Angle orthodontist**, Appleton, v. 78, n. 2, p. 294–298, Mar. 2008.

UZEDA, M. **Microbiologia oral**: etiologia da cárie, doença periodontal e infecções endodônticas. Rio de Janeiro: Medsi, 2002. 104 p.

VELASCO-LEZAMA, R. et al. Effect of *Plantago major* on cell proliferation in vitro. **Journal of ethnopharmacology**, Limerick, v. 103, n.1, p. 36-42, Jan. 2006.

VIAZIS, A. D.; CORINALDESI, G.; ABRAMSON, M. M. Gingival recession and fenestration in orthodontic treatment. **Journal of Clinical orthodontics: JCO**, Hempstead, v. 24, n. 10, p. 633-636, Oct. 1990.

WAGGAS, A. M.; BALAWI, A. E. Neurophysiological study on possible protective effect of rosemary (*rosemarinus officinalis*) leaves extract in male albino rats treated with acrylamide. **American-Eurasian Journal of Scientific Research**, Deira, v. 3, n. 2, p. 163-171, 2008.

WATANABE, E. et al. Determination of the maximum inhibitory dilution of cetylpyridinium chloridebased mouthwashes against *Staphylococcus aureus*: an in vitro study. **Journal of Applied Oral Science: Revista FOB**, Bauru, SP, v. 16, n. 4, p. 275-259, 2008.

WAGNER, H.; ULRICH-MERZENICH, G. Synergy research: approaching a new generation of pHytopHarmaceuticals. **Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology**, Stuttgart, v. 16, n. 2-3, p. 97–110, Mar. 2009.

WEINER, M. A. **Earth medicine-earth food**: plant remedies - drugs, and natural foods of the North American Indians. London: Collier MacMillan, 1972.

WORLD HEALTH ORGANIZATION-WHO. **Drug policies and management**: Medicinal Plants. WHO Document WHA 31.33. Geneva: WHO, 1978.

_____. **Oral health surveys**: basic methods. Third Edition. Geneva: WHO, 1988.

_____. **Promotion and development of training and research in traditional medicine**. Geneva: WHO, 1977.

WILLERSHAUSEN, B.; GRUBER, I.; HAMM, G. Índice de placa e sangramentos gengivais: a influência de ingredientes herbários. **Revista da Associação Paulista de Cirurgões Dentistas**, São Paulo, v. 48, n. 3, p. 1335-1340, maio/jun.1994.

XAVIER, M. N.; RAMOS, I. N. C; XAVIER FILHO, L. **A Fitoterapia no combate às afecções bucais**. João Pessoa: Editora Idéia, 1995. 212p.

YAMASHITA, Y. Role of the Streptococcus mutans gtf genes in caries induction in the specific-pathogen-free rat model. **Infection and Immunity**, Washington, v. 61, n. 9, p. 3811–3817, Sept. 1993.

YATSUDA, R. et al. Effects of Mikania genus plants on growth and cell adherence of mutans streptococci. **Journal of Ethnopharmacology**, Philadelphia, v. 97, n. 2, p. 183-289, Feb. 2005.

YÉVENES, I. et al. Comparison of mouthrinses containing chlorhexidine and other active agents with chlorhexidine mouthrinse-gel: effects on de novo plaque formation. **Revista Odonto Ciência**, Porto Alegre, v. 24, n. 4, p. 345-348, 2009.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; YURI, V. C. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 147-152, jan./fev. 2001.

ZANIN, S. M. W. Enxaguatório bucal: princípios ativos e desenvolvimento de fórmula contendo extrato hidroalcoólico de Salvia officinalis L. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 8, n. 1, p. 19-24, Jan./Jun. 2007.

ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SÃO CARLOS/UFSCAR

PROJETO DE PESQUISA

Título: Avaliação de enxaguantes bucais comercial e não comercial na atividade da placa bacteriana em braquetes ortodônticos.

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 07075712.0.0000.5504

Pesquisador: Celene Marques Bussadori

Instituição: UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 112.562

Data da Relatoria: 09/10/2012

Apresentação do Projeto:

É uma pesquisa aplicada, descritiva, de campo, quantitativa, que tem como objetivo avaliar e comparar as possíveis atividades biológica e terapêutica de um enxaguatório bucal não comercial à base de plantas *Nasturtium officinale* (agrião), *Rosmarinum officinalis* (alecrim), *Tabebuia impetiginosa* (ipê roxo), *Achillea millefolium* (mil-folhas) e *Plantago major* (tanchagem), desenvolvido no Laboratório de Botânica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCFar) e o enxaguatório comercial Cepacol®, na formação da placa bacteriana ao redor dos braquetes ortodônticos, utilizando 40 pacientes divididos em dois grupos, dos quais serão retirados os braquetes como amostras e analisados.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo deste trabalho é comparar as possíveis atividades biológica e terapêutica de um enxaguatório bucal não comercial a base de plantas e um comercial na formação de placas bacterianas nos braquetes ortodônticos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Do projeto: "Não existem desconfortos esperados. Trata-se do uso diário como bochechos, proporcionando um auxílio na sua higiene. Caso ocorra algum desconforto ou reação não esperada, suspender o uso imediato e entrar em contato rapidamente com o pesquisador."

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

-

Endereço: WASHINGTON LUIZ KM 235

Bairro: JARDIM GUANABARA

CEP: 13.565-905

UF: SP **Município:** SÃO CARLOS

Telefone: 1633-5180

Fax: 1633-6180

E-mail: cephumanos@power.ufscar.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SÃO CARLOS/UFSCAR

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados

Recomendações:

-

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

-

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

SAO CARLOS, 01 de Outubro de 2012

Assinado por:
Daniel Vendruscolo
(Coordenador)

Endereço: WASHINGTON LUIZ KM 235

Bairro: JARDIM GUANABARA

CEP: 13.565-905

UF: SP **Município:** SAO CARLOS

Telefone: 1633-5180

Fax: 1633-6180

E-mail: cephumanos@power.ufscar.br