

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

MAURÍCIO JOSÉ SANTOS MOREIRA
Cartão UFRGS 144397

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE UM
ENXAGUATÓRIO BUCAL CONTENDO MALVA E DE SEUS COMPONENTES**

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lina Naomi Hashizume

PORTO ALEGRE
2011

MAURÍCIO JOSÉ SANTOS MOREIRA

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE UM
ENXAGUATÓRIO BUCAL CONTENDO MALVA E DE SEUS COMPONENTES**

Trabalho de conclusão de curso apresentado na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de cirurgião-dentista.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lina Naomi Hashizume

PORTO ALEGRE

2011

DEDICATÓRIA

Baseado em evidências, este trabalho é dedicado ao meu pai, José Francisco César Moreira e à minha mãe, Nelcy Moreira, autores e referências de valores estatisticamente significativos ($p=0,0001$) na construção da minha conduta como profissional e, acima de tudo, como ser humano.

Maurício Moreira

AGRADECIMENTOS

Agradeço às pessoas que contribuíram diretamente para a construção deste trabalho, desde seu planejamento até a sua execução:

- à professora Lina Naomi Hashizume por suas orientações sempre com extrema gentileza, educação, paciência e didática durante todo percurso deste trabalho.

- à professora Maria Beatriz Cardoso Ferreira por suas contribuições com ideias, correções, sugestões e avaliações.

- ao meu amigo, xará e doutorando em Cariologia/Dentística na Faculdade de Odontologia da UFRGS, Maurício dos Santos Moura, por suas valiosas contribuições para a execução do trabalho.

- ao professor Roger Keller por suas explicações e sugestões na elaboração das análises estatísticas.

- à Luísa Mercado pela colaboração na preparação dos materiais sem os quais não poderíamos realizar este trabalho.

SUMÁRIO

Resumo	6
Abstract	7
Introdução	8
Artigo científico	12
Considerações finais	25
Referências	26
Anexo 1	30
Anexo 2	31
Anexo 3	33

RESUMO

Os agentes antimicrobianos contidos nos enxaguatórios bucais visam o controle do biofilme dental, de forma que requerem pouca habilidade do indivíduo para a sua utilização, ao contrário do controle mecânico. Nos últimos anos, as pesquisas por produtos de origem natural com ação farmacológica têm crescido. Alguns destes vêm mostrando interessante atividade antimicrobiana, tal como a malva (*Malva sylvestris*). Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana de um enxaguatório bucal contendo malva (Malvatricin[®]) e de seus componentes (tirotricina, quinosol e tintura de malva) sobre *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp. e um *pool* de microrganismos da cavidade bucal. A metodologia utilizada foi a da difusão em ágar-cilindro em placas. Utilizaram-se dez placas para cada microrganismo e foram testadas as seguintes soluções: clorexidina, tirotricina, Malvatricin[®], quinosol e tintura de malva. As placas foram incubadas por 24 horas a 37°C em anaerobiose. Após 24 horas, mensuraram-se os diâmetros das zonas de inibição. Foram utilizados os testes de Kruskal-Wallis e *U* de Mann-Whitney para comparar o efeito de cada substância sobre os microrganismos testados. Os resultados mostraram que Malvatricin[®] apresentou atividade antimicrobiana sobre todos os microrganismos testados, ainda que menor do que a clorexidina que obteve as maiores zonas de inibição. O quinosol apresentou resultado semelhante ao de Malvatricin[®], mostrando-se efetivo para inibir o crescimento microbiano de todos os microrganismos. A tirotricina e a tintura de malva apresentaram pouca ou nenhuma atividade antimicrobiana. Portanto, sugere-se que o produto comercial Malvatricin[®] apresenta atividade antimicrobiana contra *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp. e sobre um *pool* de microrganismos da cavidade bucal, e este efeito deve-se, principalmente, à ação do quinosol.

PALAVRAS-CHAVE: enxaguatório bucal, fitoterápico, malva, tirotricina, quinosol

ABSTRACT

The antimicrobial agents contained in mouthwashes aim the dental biofilm control, so they require little individual's ability to use it, unlike the mechanical control. In recent years, it was observed an increase in researches on natural products with pharmacological activity. Some of these have shown interesting antimicrobial activity, such as *Malva sylvestris*. Thus, the purpose of this study was to evaluate *in vitro* the antimicrobial activity of a mouthwash containing *Malva sylvestris* (Malvatricin[®]) and its components (tyrothricin, hydroxyquinoline and *Malva sylvestris* dye) on *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp. and a pool of microorganisms from the oral cavity. The methodology used was the cylinder-agar diffusion plates. Ten plates were used for each organism and tested the following solutions: chlorhexidine, tyrothricin, Malvatricin[®], hydroxyquinoline and *Malva sylvestris* dye. The plates were incubated for 24 hours at 37°C in anaerobiosis. After 24 hours, the diameters of inhibition zones were measured. The Kruskal-Wallis and Mann-Whitney *U* tests were used to compare the effect of each substance on the test microorganisms. The results showed that Malvatricin[®] present antimicrobial activity against all microorganisms tested, though smaller than the chlorhexidine which had the highest inhibition zones. The hydroxyquinoline showed similar result to Malvatricin[®], being effective to inhibit microbial growth of all organisms. The tyrothricin and *Malva sylvestris* dye showed little or no antimicrobial activity. Therefore, it is suggested that the commercial product Malvatricin[®] showed antimicrobial activity against *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp. and on a pool of microorganisms from the oral cavity, and this effect is due mainly to the action of hydroxyquinoline.

KEYWORDS: mouthwash, herbal medicine, *Malva sylvestris*, tyrothricin, hydroxyquinoline

INTRODUÇÃO

A natureza microbiana como fator etiológico da gengivite (LÖE; THEILADE; JENSEN, 1965) e da cárie dentária (ORLAND, 1954) já é conhecida há bastante tempo. Desta forma, o sucesso tanto da prevenção quanto da terapia destas doenças está diretamente relacionado ao controle do biofilme supragengival, realizado por meio de sua remoção mecânica durante a escovação dentária e o uso do fio dental. Entretanto, uma grande parcela dos indivíduos falha no controle mecânico do biofilme, visto a alta prevalência da gengivite em diferentes populações (NEVES; PASSOS; OLIVEIRA, 2010, CHAMBRONE; LIMA; CHAMBRONE, 2008). Ainda que a prevalência da cárie dentária tenha diminuído nos últimos anos, esta continua sendo a maior responsável pela perda dentária na população (BRASIL, 2010). Assim, o uso complementar de agentes químicos poderia ser uma forma de superar a deficiência mecânica, uma vez que requer um mínimo de adesão e habilidade do indivíduo para a sua utilização.

Apesar de o dentífrício ser, pela frequência do seu uso, o veículo ideal para a utilização de agentes químicos antimicrobianos, várias formulações nos enxaguatórios bucais têm sido utilizadas.

A eficácia de um antimicrobiano parece estar diretamente relacionada ao tempo, medido em horas, que este fica atuando na cavidade oral (KORNMAN, 1986). Assim, os enxaguatórios bucais deveriam apresentar boa substantividade, entendida como a capacidade de retenção da substância no local de ação, e lenta liberação, evitando que o seu efeito seja rapidamente neutralizado pelo fluxo salivar (DITTERICH et al. 2007).

A clorexidina é o antisséptico mais estudado e, até o momento, o mais eficaz para o controle do biofilme supragengival (LÖE; SCHIOTT, 1970, ADDY, 1986, GJERMO, 1989). Trata-se de uma bisbiguanida dicatiônica, o que a torna reativa com ânions. Seu espectro antimicrobiano atinge bactérias gram-positivas e gram-negativas, sendo eficaz também contra fungos, incluindo a cândida, e alguns vírus, tais como o HBV e o HIV (WADE; ADDY, 1989). Entretanto, o uso prolongado da clorexidina pode levar ao aparecimento de efeitos colaterais locais, tais como manchas nos dentes, alteração no paladar, além de estímulo à formação de cálculo

supragengival (FLOTRA et al. 1971). Assim, seu uso limita-se às situações em que a higiene oral mecânica esteja comprometida (ADDY, 1986).

Uma vez que a clorexidina apresenta diversos efeitos locais indesejados quando administrada por um longo período, pesquisas pelo desenvolvimento de novos antissépticos se fazem úteis. Diante disso, os produtos de origem vegetal assumem um papel importante dentro das pesquisas em Odontologia, uma vez que podem minimizar o aparecimento de efeitos colaterais locais (MORAN; ADDY; ROBERTS, 1992).

A pesquisa por produtos de origem natural com ação farmacológica tem crescido nos últimos anos. Isto é decorrente da busca por medicamentos que tenham, além da atividade farmacológica, baixa toxicidade, biocompatibilidade e preço mais acessível. Entretanto, estes produtos só devem entrar no mercado quando amparados por estudos laboratoriais e clínicos. Na literatura odontológica existe um pequeno número de publicações disponíveis sobre os compostos naturais (OLIVEIRA et al. 2007).

Fitoterápicos são substâncias obtidas a partir de plantas que podem ser utilizadas como remédios artesanais sob a forma de chá, soluções, comprimidos, dentre outros (FRANCISCO, 2010). A utilização de plantas como medicação pela população é decorrente da crença de que os medicamentos oriundos de extratos naturais têm menor probabilidade de causar efeitos colaterais e são mais eficazes que os medicamentos alopáticos, além de terem um custo mais baixo. No entanto, sabe-se que os fitoterápicos também acarretam efeitos colaterais e possuem contraindicações, sendo necessário conhecer seus princípios ativos, os aspectos relacionados à qualidade da planta e sua procedência a fim de que possam ser utilizados com segurança (SOYAMA, 2007).

O enxaguatório bucal Malvatricin[®], popularmente conhecido como fitoterápico pelo fato de apresentar malva em sua preparação, tem como componentes ativos a tirotricina e o quinosol. Segundo a bula fornecida pelo fabricante, o Laboratório Daudt Ltda., Rio de Janeiro, este antisséptico tem “indicações de uso para aftas, dor de garganta e afecções da boca”. Entretanto, o Formulário Nacional de Fitoterápicos (BRASIL, 2010) define fitoterápicos como medicamentos obtidos empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais, excluindo, assim, Malvatricin[®] desta categoria. Não é considerado um

fitoterápico aquele medicamento que possui substâncias ativas isoladas (de qualquer origem) em sua composição, nem as associações destas com extratos vegetais (BRASIL, 2010).

Alguns estudos têm sugerido que Malvatricin[®] pode apresentar eficácia antimicrobiana, tanto *in vitro* (MONFRIN; RIBEIRO, 2000, DRUMOND et al. 2004), quanto *in vivo* (WEYNE, 2003).

A tirotricina é um antibiótico natural, proveniente do *Bacillus brevis*, composta por gramicidina (20 a 25%) e tirocidina (cerca de 60%). Pode ter efeito bacteriostático ou bactericida dependendo de sua concentração, atuando sobre bactérias gram-negativas (MONFRIN; RIBEIRO, 2000). Alguns autores (MATULA; HILDEBRANT; NAHLER, 1988) demonstraram redução de 54,5% dos microrganismos anaeróbios presentes na saliva com o uso de tirotricina. Por ser extremamente tóxica, o seu uso restringe-se a soluções tópicas (SWEETMAN, 2010). Entretanto, estudos mostram que antibióticos não devem ser utilizados com fins de controle de placa bacteriana, tanto sistêmica quanto topicamente, uma vez que apresentam efeitos colaterais específicos importantes, tal como a resistência bacteriana (GENCO, 1981, SLOTS; RAMS, 1990).

O quinosol – também conhecido como sulfato de 8-quinolinol, 8-oxiquinolona, 8-hidroxiquinolona e hidroxiquinolona – possui ação antisséptica, antibacteriana, antifúngica e propriedades desodorantes (SWEETMAN, 2010). Assim, o quinosol tem sido utilizado para tratamento tópico em pele, área orofaríngea e vaginal (THE MERCK Index, 2006, SWEETMAN, 2010). Em um estudo que comparou, *in vitro*, a atividade antibacteriana de produtos fitoterápicos sobre bactérias cariogênicas (DRUMOND et al. 2004), os autores sugeriram que a superioridade antimicrobiana de Malvatricin[®] em relação aos outros produtos analisados, frente às cepas de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus sanguis* e *Lactobacillus casei*, deve-se à presença de quinosol e tirotricina em sua composição.

A malva, planta da família *Malvaceae*, é muito usada pela medicina popular, pois a ela atribuem-se propriedades anti-inflamatórias, calmantes, expectorantes e emolientes e antimicrobianas. Além disso, pelo fato de dissolver mucosidades, também é indicada para tosses, enfermidades da garganta e do peito (TORRES et al. 2000). O seu “uso interno” é recomendado como expectorante nos casos de

afecções respiratórias, e o seu “uso externo”, nos casos de contusões e processos inflamatórios da boca e garganta (BRASIL, 2010). Ainda, autores (BUFFON et al. 2001) relataram que a malva apresenta também taninos, óleos essenciais e flavonoides, substâncias estas que podem justificar o efeito antimicrobiano da malva.

No Brasil, não existe uma metodologia oficial para avaliação da atividade antimicrobiana dos enxagatórios bucais (BRASIL, 2005). Assim, muitos destes produtos são receitados aos pacientes com base em literatura não-científica e informações constantes em propaganda do fabricante. Algumas substâncias, quando testadas tanto *in vivo* quanto *in vitro*, acabam não confirmando a eficácia antimicrobiana pretendida, podendo ter como consequência prática o agravamento das condições de saúde bucal, em função da falsa ideia de limpeza conferida pelo bochecho. Há de se ressaltar, ainda, que a atividade antimicrobiana de um antisséptico *in vitro* não corresponde, necessariamente, à sua eficácia *in vivo* (GJERMO; LYCHE BAASTAD; ROLLA, 1970).

ARTIGO CIENTÍFICO

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE UM
ENXAGUATÓRIO BUCAL CONTENDO MALVA E DE SEUS COMPONENTES**

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE UM ENXAGUATÓRIO BUCAL CONTENDO MALVA E DE SEUS COMPONENTES

Maurício Moreira*; Lina Naomi Hashizume**

* Aluno do curso de graduação em Odontologia da UFRGS

** Professora adjunta do Departamento de Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia da UFRGS

RESUMO

Os agentes antimicrobianos contidos nos enxaguatórios bucais visam o controle do biofilme dental, de forma que requerem pouca habilidade do indivíduo para a sua utilização, ao contrário do controle mecânico. Nos últimos anos, as pesquisas por produtos de origem natural com ação farmacológica têm crescido. Alguns destes vêm mostrando interessante atividade antimicrobiana, tal como a malva (*Malva sylvestris*). Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana de um enxaguatório bucal contendo malva (Malvatricin[®]) e de seus componentes (tirotricina, quinosol e tintura de malva) sobre *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp. e um *pool* de microrganismos da cavidade bucal. A metodologia utilizada foi a da difusão em ágar-cilindro em placas. Utilizaram-se dez placas para cada microrganismo e foram testadas as seguintes soluções: clorexidina, tirotricina, Malvatricin[®], quinosol e tintura de malva. As placas foram incubadas por 24 horas a 37°C em anaerobiose. Após 24 horas, mensuraram-se os diâmetros das zonas de inibição. Foram utilizados os testes de Kruskal-Wallis e *U* de Mann-Whitney para comparar o efeito de cada substância sobre os microrganismos testados. Os resultados mostraram que Malvatricin[®] apresentou atividade antimicrobiana sobre todos os microrganismos testados, ainda que menor do que a clorexidina que obteve as maiores zonas de inibição. O quinosol apresentou resultado semelhante ao de Malvatricin[®], mostrando-se efetivo para inibir o crescimento microbiano de todos os microrganismos. A tirotricina e a tintura de malva apresentaram pouca ou nenhuma atividade antimicrobiana. Portanto, sugere-se que o produto comercial Malvatricin[®] apresenta atividade antimicrobiana contra *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp. e sobre um *pool* de microrganismos da cavidade bucal, e este efeito deve-se, principalmente, à ação do quinosol.

PALAVRAS-CHAVE: enxaguatório bucal, fitoterápico, malva, tirotricina, quinosol

ABSTRACT

The antimicrobial agents contained in mouthwashes aim the dental biofilm control, so they require little individual's ability to use it, unlike the mechanical control. In recent years, it was observed an increase in researches on natural products with pharmacological activity. Some of these have shown interesting antimicrobial activity, such as *Malva sylvestris*. Thus, the purpose of this study was to evaluate *in vitro* the antimicrobial activity of a mouthwash containing *Malva sylvestris* (Malvatricin[®]) and its components (tyrothricin, hydroxyquinoline and *Malva sylvestris* dye) on *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp. and a pool of microorganisms from the oral cavity. The methodology used was the cylinder-agar diffusion plates. Ten plates were used for each organism and tested the following solutions: chlorhexidine, tyrothricin, Malvatricin[®], hydroxyquinoline and *Malva sylvestris* dye. The plates were incubated for 24 hours at 37°C in anaerobiosis. After 24 hours, the diameters of inhibition zones were measured. The Kruskal-Wallis and Mann-Whitney *U* tests were used to compare the effect of each substance on the test microorganisms. The results showed that Malvatricin[®] present antimicrobial activity against all microorganisms tested, though smaller than the chlorhexidine which had the highest inhibition zones. The hydroxyquinoline showed similar result to Malvatricin[®], being effective to inhibit microbial growth of all organisms. The tyrothricin and *Malva sylvestris* dye showed little or no antimicrobial activity. Therefore, it is suggested that the commercial product Malvatricin[®] showed antimicrobial activity against *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp. and on a pool of microorganisms from the oral cavity, and this effect is due mainly to the action of hydroxyquinoline.

KEYWORDS: mouthwash, herbal medicine, *Malva sylvestris*, tyrothricin, hydroxyquinoline

1. INTRODUÇÃO

O biofilme dental é o principal fator etiológico da cárie e das doenças periodontais (LÖE; THEILADE; JENSEN, 1965, MARSH, 2005). Desta forma, o sucesso tanto da prevenção quanto da terapia destas doenças está diretamente relacionado ao controle do biofilme supragengival, realizado por meio de sua remoção mecânica durante a escovação dentária e o uso do fio dental. Entretanto, uma grande parcela dos indivíduos falha no controle mecânico do biofilme, visto a alta prevalência da gengivite em diferentes populações (CHAMBRONE; LIMA; CHAMBRONE, 2008, NEVES; PASSOS; OLIVEIRA, 2010). Ainda que a prevalência da cárie dentária tenha diminuído nos últimos anos, esta continua sendo a maior responsável pela perda dentária na população brasileira (BRASIL, 2010). Assim, o uso complementar de agentes químicos contidos em enxaguatórios bucais poderia ser uma forma de superar a deficiência mecânica, uma vez que requer um mínimo de adesão e habilidade do indivíduo para a sua utilização.

A pesquisa por produtos de origem natural com ação farmacológica tem crescido nos últimos anos. Isto é decorrente da busca por medicamentos que tenham, além da atividade farmacológica, baixa toxicidade, biocompatibilidade e preço mais acessível. Diversos produtos de origem vegetal se mostram potencialmente interessantes no que se refere a sua atividade antimicrobiana (YANAGIDA, 2000). Dentre estes, destaca-se a malva (*Malva sylvestris*). Muito utilizada pela medicina popular, à malva atribuem-se propriedades anti-inflamatórias, calmantes, expectorantes e emolientes e antimicrobianas. Além disso, pelo fato de dissolver mucosidades, também é indicada para tosses, enfermidades da garganta e do peito (TORRES et al. 2000). Ainda, autores (BUFFON et al. 2001) relataram que a malva apresenta também mucilagem, taninos, óleos essenciais e flavonoides, substâncias estas que podem justificar o efeito antimicrobiano da malva.

No mercado brasileiro é comercializado um enxaguatório bucal contendo malva (Malvatricin[®]) em sua formulação, dentre outros componentes. Este antisséptico tem como princípios ativos a tirotricina e o quinosol.

Embora a eficácia antimicrobiana de Malvatricin[®] já tenha sido relatada, tanto *in vitro* (MONFRIN; RIBEIRO, 2000, DRUMOND et al. 2004), quanto *in vivo* (WEYNE, 2003), os estudos não puderam distinguir a ação antibacteriana de cada componente específico da fórmula. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana do enxaguatório bucal Malvatricin[®] e de seus componentes (tirotricina, quinosol e tintura de malva) sobre *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp. e um *pool* de microrganismos da cavidade bucal.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Microrganismos

Os microrganismos utilizados neste estudo foram *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp. e um *pool* de microrganismos da cavidade bucal. Os microrganismos eram provenientes de ensaios clínicos prévios realizados com saliva humana e se encontravam disponíveis no Laboratório de Bioquímica e Microbiologia da UFRGS. O *pool* de microrganismos era composto por bactérias gram-positivas (*Staphylococcus*, *Streptococcus*, entre outras) e gram-negativas (*Neisseria*, *Veillonella*, *Fusobacterium*, entre outras) na sua maioria.

2.2. Produtos e componentes analisados

Neste estudo foi avaliada uma solução antisséptica pronta para uso contendo malva em sua formulação (Malvatricin[®], Laboratório Daudt de Oliveira Ltda., Rio de Janeiro, Brasil) e os seus componentes: tirotricina (Laboratório Sandoz, Paraná, Brasil), quinosol (Laboratório Sigma Aldrich, São Paulo, Brasil) e tintura de malva (Farmácia Art & Pharma, Porto Alegre, Brasil). Os componentes foram preparados em água destilada estéril e em concentrações idênticas àquelas encontradas no produto comercial Malvatricin[®]. As concentrações utilizadas foram: tirotricina 0,1 mg/mL; quinosol 1 mg/mL; tintura de malva 0,005 mg/mL. Como controle positivo foi utilizada uma solução de clorexidina 0,12% (PerioGard[®], Colgate-Palmolive, São Paulo, Brasil).

2.3. Teste de difusão em ágar

Para a verificação do potencial antimicrobiano do enxaguatório bucal contendo malva (Malvatricin[®]) e seus diferentes componentes, a metodologia utilizada foi a da difusão em ágar-cilindro em placas.

A partir de uma cultura recente (24 horas), a concentração do inóculo foi padronizada em espectrofotômetro (580 nm), comparando a sua turbidez com o padrão 0,5 da escala de Mc Farland. O resultado da absorbância ficou entre 0,08 e 0,10, o que equivale a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL (UNITED STATES PHARMACOPEIA CONVENTION, 1990).

Foram preparadas dez placas de Petri com ágar Brain Heart Infusion (Himedia, Mumbai, Índia) para cada um dos microrganismos a serem testados. Este número de amostra foi estabelecido por meio do cálculo amostral baseado no estudo de MOREIRA et al. (2009) com nível de significância de 5% e poder do teste de 80%. A partir dos diferentes inóculos padronizados, foram transferidos 100 µL destes para tubos de ensaio contendo 10 mL de ágar Brain Heart Infusion (BHI) fundido e resfriado. Depois de homogeneizado, o conteúdo do tubo de ensaio foi vertido na placa de Petri (*pour plate*), conforme descrito por KOO et al. (1999).

Com as duas camadas de meio uniformemente sobrepostas e já solidificadas, cinco cilindros metálicos, previamente lavados com água destilada e esterilizados, medindo 10 mm de altura, diâmetro externo e interno de 8 e 6 mm respectivamente, foram dispostos sobre as placas de uma forma equidistante.

No interior de cada cilindro, colocou-se 40 µL de cada substância a ser testada, nesta ordem: clorexidina, tirotricina, Malvatricin[®], quinisol e tintura de malva.

As placas foram mantidas por duas horas em temperatura ambiente para permitir a difusão dos agentes através do ágar. Após este período, retiraram-se os cilindros, e as placas de Petri foram incubadas a 37°C em anaerobiose.

Após 24 horas, as placas foram retiradas da estufa bacteriológica e os diâmetros da zona de inibição mensurados por um único examinador com auxílio de um paquímetro digital. Considerou-se a medida do diâmetro, em milímetros.

2.4. Processamento dos dados e análise estatística

Os grupos experimentais de cada microrganismo testado foram comparados

por meio do teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste *U* de Mann-Whitney. Os resultados foram expressos por mediana e percentis 25% e 75% (em mm) das zonas de inibição formadas. O nível de significância adotado foi de 5%. A análise estatística foi realizada com o auxílio do Software SPSS for Windows, versão 15.0 (Microsoft Corporation, Seattle, Estados Unidos).

3. RESULTADOS

Os resultados obtidos para as medianas dos diâmetros e os percentis 25% e 75% das zonas de inibição, formadas após tratamento com as substâncias (clorexidina, tirotricina, Malvatricin[®], quinosol e tintura de malva), estão expressos na Tabela 1.

A Figura 1 mostra os resultados obtidos (zonas de inibição) com as substâncias testadas frente aos *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp. e um pool de microrganismos da cavidade bucal.

Tabela 1. Mediana e percentis 25% e 75% (mm) das zonas de inibição para cada microrganismo de acordo com cada tratamento (n=10).

Microrganismos	Tratamentos				
	Clorexidina	Tirotricina	Malvatricin [®]	Quinosol	Tintura de malva
<i>Streptococcus mutans</i> ^a	30,065* (29,32 / 30,60)	0,00** (0,00 / 0,00)	23,475* (22,72 / 24,82)	27,175* (25,35 / 28,065)	0,00** (0,00 / 0,00)
<i>Lactobacillus</i> spp. ^a	15,54* (14,51 / 15,98)	5,66* (5,445 / 6,225)	8,615** (7,46 / 9,14)	9,33** (8,23 / 9,655)	0,00* (0,00 / 0,00)
Pool de microrganismos ^a	20,895* (20,34 / 21,41)	0,00** (0,00 / 2,43)	11,235* (11,06 / 11,56)	12,535* (11,85 / 14,55)	4,295** (0,00 / 9,51)

^a Diferença estatisticamente significativa entre os grupos, pelo teste de Kruskal-Wallis, $P = 0,000$.

* Diferença estatisticamente significativa em relação a todos os demais tratamentos para cada microrganismo avaliado, pelo teste *U* de Mann-Whitney, $P < 0,005$.

** Diferença estatisticamente significativa em relação aos grupos assinalados com *, pelo teste *U* de Mann-Whitney, $P < 0,05$.

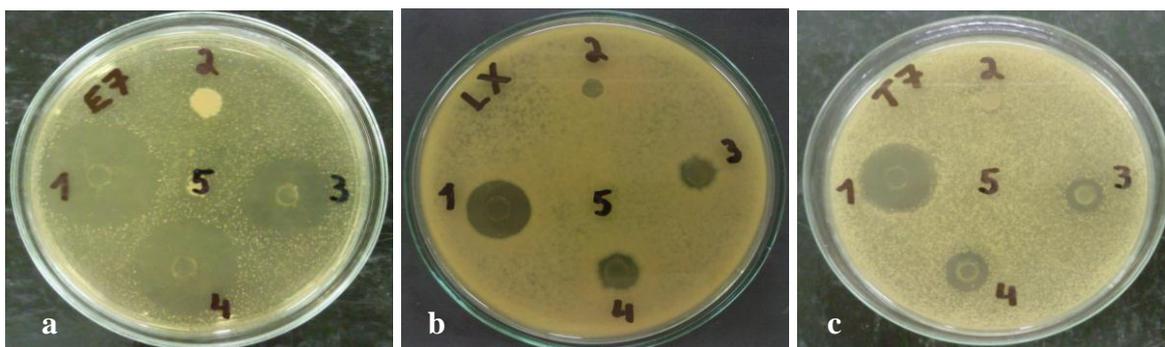


Figura 1 – Placas com *Streptococcus mutans* (a), *Lactobacillus* spp. (b) e *pool* de microrganismos da cavidade bucal (c) e as zonas de inibição formadas a partir das seguintes substâncias: clorexidina (1), tirotricina (2), Malvatricin[®] (3), quinosol (4) e tintura de malva (5).

4. DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou o efeito antimicrobiano de um enxaguatório bucal contendo malva em sua formulação (Malvatricin[®]) e de seus componentes sobre os principais microrganismos associados à cárie dental (*Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* spp.) e sobre um *pool* de microrganismos da cavidade bucal pelo fato de representar a microbiota salivar total do indivíduo.

O método utilizado neste estudo avalia a capacidade que um microrganismo tem de se multiplicar na presença de certas concentrações de substâncias tidas como antimicrobianas. Aplicam-se os produtos a serem testados no interior de cilindros colocados sobre uma camada de ágar em uma placa de Petri. O antimicrobiano se difunde no ágar, e a cepa bacteriana semeada cresce até encontrar a concentração inibitória mínima e, a partir do ponto de aplicação, forma-se uma zona de inibição ao redor do cilindro.

A clorexidina demonstrou as maiores zonas de inibição frente a todos os microrganismos testados. Este resultado concorda com outros estudos (LÖE; SCHIOTT, 1970, ADDY, 1986, GJERMO, 1989, WADE; ADDY, 1989, FONSECA, 1994) que avaliaram o efeito antimicrobiano de antissépticos. A clorexidina é a única alternativa que se tem hoje como agente químico substitutivo, e não apenas como coadjuvante ao controle mecânico.

O quinosol possui ação antisséptica, antibacteriana, antifúngica e propriedades desodorantes (SWEETMAN, 2010). Contudo, não foram encontrados

na literatura estudos que relatem o efeito antimicrobiano do quinosol sobre microrganismos da cavidade bucal.

Malvatricin[®] e o quinosol apresentaram uma elevada eficácia antimicrobiana frente a todos os microrganismos testados, ainda que menor do que a da clorexidina. Sobre os *Lactobacillus* spp., os dois produtos (Malvatricin[®] e quinosol) inibiram o seu crescimento de forma eficaz e sem diferença estatisticamente significativa entre si. Entretanto, em relação ao *Streptococcus mutans* e ao *pool* de microrganismos da saliva, foi observado um efeito antimicrobiano superior do quinosol sobre Malvatricin[®]. Este resultado poderia ser explicado por uma possível associação do quinosol com algum(s) componente(s) da formulação do produto, levando a uma redução do potencial antimicrobiano de Malvatricin[®] sobre estes microrganismos. Alguns estudos (MONFRIN; RIBEIRO, 2000, DRUMOND et al. 2004) já haviam demonstrado a eficácia antibacteriana de Malvatricin[®]. Entretanto, cabe ressaltar que ambos os trabalhos não puderam distinguir a ação antibacteriana de cada componente específico na composição do produto.

A tirotricina é um antibiótico natural, proveniente do *Bacillus brevis*, composta por gramicidina (20 a 25%) e tirocidina (cerca de 60%). Neste estudo, a tirotricina foi capaz de inibir o crescimento de *Lactobacillus* spp., ainda que em proporção menor do que a clorexidina, Malvatricin[®] e o quinosol. Um estudo avaliou a sensibilidade de *Lactobacillus* a antissépticos bucais (BACARELLI; RIBEIRO, 2000) e verificou que apenas 68,24% das cepas foram sensíveis a Malvatricin[®], provavelmente devido à seletividade da tirotricina a bactérias gram-negativas, enquanto que os *Lactobacillus* são bactérias gram-positivas. Em relação ao *Streptococcus mutans*, a tirotricina não teve ação sobre o seu crescimento, não tendo, desta forma, diferença significativa em relação à tintura de malva. Sobre o *pool* de microrganismos da cavidade bucal, a tirotricina exerceu pequena atividade antimicrobiana, embora também não tenha diferido estatisticamente da tintura de malva.

A tintura de malva, na concentração testada neste estudo, não apresentou atividade antimicrobiana contra *Lactobacillus* spp.. Entretanto, mostrou um pequeno efeito inibitório frente ao *Streptococcus mutans* e ao *pool* de microrganismos da cavidade bucal, não tendo diferido estatisticamente da tirotricina. A literatura se mostra controversa no que diz respeito ao efeito

antimicrobiano da malva. Alguns estudos demonstraram que a malva possui efeito antimicrobiano sobre *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus subtilis* (DE SOUZA et al. 2003, OLIVEIRA, 2010). Enquanto outros autores (DITTERICH et al. 2007) que avaliaram *in vitro* a atividade antimicrobiana de substâncias naturais presentes nos dentifrícios, encontraram em Malvatricin Anti-Placa[®] o maior efeito antibacteriano. Porém, afirmaram que este resultado era devido à presença do triclosan na formulação e não pela ação da tintura de malva. Outro estudo *in vitro* também discordou do efeito antimicrobiano da tintura de malva ao avaliá-la sobre *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* (GEBARA et al. 1996).

O antisséptico bucal Malvatricin[®] é popularmente conhecido como fitoterápico pelo fato de apresentar malva em sua preparação. Entretanto, o Formulário Nacional de Fitoterápicos (BRASIL, 2010) define fitoterápicos como medicamentos obtidos quando se empregam, exclusivamente, matérias-primas ativas vegetais, excluindo, assim, Malvatricin[®] desta categoria.

Apesar de a tirotricina ter apresentado pequeno (para *Lactobacillus* spp.) ou nenhum (sobre *Streptococcus mutans* e *pool* de microrganismos da saliva) efeito sobre os microrganismos avaliados, sugere-se que produtos que contenham antibióticos em sua formulação, tal como Malvatricin[®], não sejam utilizados com fins de controle de biofilme dental, tanto sistêmica quanto topicamente, uma vez que apresentam efeitos colaterais específicos importantes, tal como a resistência bacteriana (GENCO, 1981, SLOTS; RAMS, 1990). Isto poderia causar um desequilíbrio ecológico ao biofilme dental favorecendo, inclusive, espécies microbianas mais patogênicas e virulentas.

5. CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo sugerem que o produto comercial Malvatricin[®] apresenta atividade antimicrobiana contra *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp. e sobre um *pool* de microrganismos da cavidade bucal, e esta eficácia deve-se, principalmente, à ação da substância quinosol presente em sua composição.

REFERÊNCIAS

ADDY, M. Chlorhexidine compared with other locally delivered antimicrobials. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 13, no. 10, p. 957–964, Nov. 1986.

BACCARELI, J.C.; RIBEIRO, M.C. Sensibilidade dos Lactobacillus a anti-sépticos bucais. **Rev. Ciênc. Méd.**, Campinas, v. 9, n. 3, p. 99-104, set./dez. 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia brasileira**. Brasília, 2010. Disponível em: <[http:// www.anvisa.gov.br/farmacopeia/index.htm](http://www.anvisa.gov.br/farmacopeia/index.htm)>. Acesso em: 15 mar 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Coordenação Nacional de Saúde Bucal**. Primeiros resultados do Projeto S.B. Brasil são anunciados pelo Ministério da Saúde. 2010. Disponível em: <<http://www.sbbrasil2010.org>>. Acesso em: 15 mar 2011.

BUFFON, M. da C.M. et al. Avaliação da eficácia dos extratos de Malva sylvestris, Calêndula officinalis, Plantago major e Curcuma zedoarea no controle do crescimento das bactérias da placa dentária. Estudo “in vitro”. **Rev. Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 2, n. 1, p. 31-38, jan./jun. 2001.

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

DITTERICH, R.G. et al. Atividade antimicrobiana “in vitro” de substâncias naturais presentes nos dentifrícios. **Odontol. Clín.-Cient.**, Recife, v. 6, n. 4, p. 303-307, out./dez. 2007.

DRUMOND, M.R.S. et al. Estudo Comparativo in vitro da atividade antibacteriana de produtos fitoterápicos sobre bactérias cariogênicas. **Pesq. Bras.Odontoped. Clín. Integ.**, João Pessoa, v. 4, n. 1, p. 33-38, jan./abr. 2004.

FONSECA, Y.P.C. Clorexidina: seu uso e indicações. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v. 48, n. 5, set./out. 1994.

GEBARA, E.C.E. Estudo in vitro da ação antimicrobiana de substâncias naturais sobre *S. mutans* e *S. sobrinus*. **Rev. Odontol. Univ. São Paulo**, São Paulo, v. 10, n. 4, p. 251-256, out./dez. 1996.

GENCO, R.J. Antibiotics in the treatment of human periodontal diseases. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 52, no. 9, p. 545–558, Sept. 1981.

GJERMO, P. Chlorhexidine and related compounds. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 68, p. 1602-1608, 1989.

KOO, H. et al. In vitro antimicrobial activity of propolis and *Arnica montana* against oral pathogens. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v. 45, no. 2, p. 141-148, Feb. 2000.

LÖE, H.; SCHIOTT, C.R. The effect of mouth rinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. **J. Periodontal Res.**, Copenhagen, v. 5, no. 2, p. 79–83, 1970.

LÖE, H.; THEILADE, E.; JENSEN, S.B. Experimental gingivitis in man. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 36, p. 177-187, May/June 1965.

MARSH, P.D.; NYVAD, B.A. Microbiota oral e biofilmes formados sobre os dentes. In: FEJERSKOV, O. (Ed.). **Cárie dentária**. São Paulo: Liv. Santos, 2005. Cap. 3, p. 29-47

MONFRIN, R.; RIBEIRO, M.C. Avaliação in vitro de anti-sépticos bucais sobre a microbiota da saliva. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v. 54, n. 5, p. 400-407, set./out. 2000.

MOREIRA, A.C.A. et al. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de antissépticos bucais. **Rev. Ciênc. Méd. Biol.**, Salvador, v. 8, n. 2, p. 153-161, maio/ago. 2009.

NEVES, A.M.; PASSOS, I.A.; OLIVEIRA, A.F.B. Estudo da prevalência e severidade de gengivite em população de baixo nível socioeconômico. **Odontol. Clín.-Cient.**, Recife, v. 9, n. 1, p. 65-71, jan/mar. 2010.

OLIVEIRA, F.Q. et al. Espécies vegetais indicadas na odontologia. **Rev. Bras. J. Pharmacogn.**, São Paulo, v. 17, n. 3, p. 466-476, jul./set. 2007.

SLOTS, J.; RAMS, T.E. Antibiotics in periodontal therapy: advantages and disadvantages. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 17, no. 7, pt.2, p. 479-493, Aug. 1990.

DE SOUZA, G.C. et al. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. **J. Ethnopharmacol.**, v. 90, no. 1, p. 135-143, Jan. 2004.

SWEETMAN, S. (Ed.). **Martindale**: the complete drug reference. London: Pharmaceutical Press; Greenwood Village, Co.: Thomson Healthcare, 2010. Disponível em: <<http://www.thomsonhc.com/home/dispatch>>. Acesso em: 06 set. 2010. Acesso restrito a assinantes.

TORRES, C.R.G. et al. Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na Odontologia. **Rev. Fac. Odontol. São José dos Campos**, São José dos Campos, v. 3, n. 2, p. 43-52, jul./dez. 2000.

UNITED STATES PHARMACOPEIA CONVENTION. **The United States Pharmacopeia**: the national formulary. 22nd ed. Easton: USP, 2067. p. 1990.

WADE, W.; ADDY, M. In vitro activity of a chlorhexidine-containing mouthwash against subgingival bacteria. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 60, no. 9, p. 521-525, Sept. 1989.

WEYNE, S. Avaliação clínica de dois enxaguatórios bucais: Malvatricin e Flogoral. **Odontis**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 8, p. 3-4, abr./jun. 2003.

YANAGIDA, A. et al. Inhibitory effects of apple polyphenols and related compounds on cariogenic factors of mutans streptococci. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, v. 48, no. 11, p. 5666-5671, Nov. 2000.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O método utilizado neste estudo de difusão em ágar-cilindro em placas é válido, pois é reproduzível, de baixo custo e fácil execução para determinar o efeito antimicrobiano de substâncias.

Fitoterápicos são medicamentos obtidos se empregando, exclusivamente, matérias-primas ativas vegetais. Não é considerado um fitoterápico aquele medicamento que possui substâncias ativas isoladas (de qualquer origem) em sua composição, nem as associações destas com extratos vegetais. O enxaguatório bucal contendo malva em sua composição avaliado neste estudo (Malvatricin[®]), não é considerado um produto fitoterápico, pois possui além da tintura de malva, outras substâncias ativas isoladas (quinosol e tirotricina) em sua composição.

A tirotricina e a tintura de malva, nas concentrações contidas no produto comercial Malvatricin[®], mostraram pouca eficácia antimicrobiana sobre os microrganismos testados (*Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp. e sobre um *pool* de microrganismos da cavidade bucal), enquanto que o quinosol apresentou uma elevada atividade antimicrobiana frente a todos os microrganismos testados

O enxaguatório bucal contendo malva testado neste estudo (Malvatricin[®]) mostrou-se eficaz para inibir o crescimento de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp. e sobre um *pool* de microrganismos da cavidade bucal. Baseado nos resultados deste estudo sugere-se que a eficácia deste produto comercial deve-se principalmente à presença do quinosol contido em sua formulação do que pela ação da malva.

Apesar de a tirotricina ter apresentado pequeno (para *Lactobacillus* spp.) ou nenhum (sobre *Streptococcus mutans* e *pool* de microrganismos da saliva) efeito sobre os microrganismos avaliados, sugere-se que produtos que contenham antibióticos em sua formulação não sejam utilizados com fins de controle de biofilme dental, tanto sistêmica quanto topicamente, uma vez que apresentam efeitos colaterais específicos importantes, tal como a resistência bacteriana.

Outros estudos são necessários para que se conheça a verdadeira relevância clínica dos achados deste estudo *in vitro*.

REFERÊNCIAS DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

ADDY, M. Chlorhexidine compared with other locally delivered antimicrobials. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 13, no. 10, p. 957–964, Nov. 1986.

BACCARELI, J.C.; RIBEIRO, M.C. Sensibilidade dos Lactobacillus a anti-sépticos bucais. **Rev. Ciênc. Méd.**, Campinas, v. 9, n. 3, p. 99-104, set./dez. 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia brasileira**. Brasília, 2010. Disponível em: <[http:// www.anvisa.gov.br/farmacopeia/index.htm](http://www.anvisa.gov.br/farmacopeia/index.htm)>. Acesso em: 15 mar 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução para registro de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes**. Brasília, 2005. Disponível em: <<http://bit.ly/i9x7Qw>> Acesso em: 09 dez. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Coordenação Nacional de Saúde Bucal**. Primeiros resultados do Projeto S.B. Brasil são anunciados pelo Ministério da Saúde. 2010. Disponível em: <<http://www.sbbrazil2010.org>>. Acesso em: 15 mar 2011.

BUFFON, M. da C.M. et al. Avaliação da eficácia dos extratos de Malva sylvestris, Calêndula officinalis, Plantago major e Curcuma zedoarea no controle do crescimento das bactérias da placa dentária. Estudo “in vitro”. **Rev. Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 2, n. 1, p. 31-38, jan./jun. 2001.

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

DITTERICH, R.G. et al. Atividade antimicrobiana “in vitro” de substâncias naturais presentes nos dentifrícios. **Odontol. Clín.-Cient.**, Recife, v. 6, n. 4, p. 303-307, out./dez. 2007.

DRUMOND, M.R.S. et al. Estudo Comparativo in vitro da atividade antibacteriana de produtos fitoterápicos sobre bactérias cariogênicas. **Pesq. Bras.Odontoped. Clín. Integ.**, João Pessoa, v. 4, n. 1, p. 33-38, jan./abr. 2004.

FLOTRA, L. et al. Side effects of chlorhexidine mouthwashes. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v. 79, no. 2, p. 119-125, Apr. 1971.

FONSECA, Y.P.C. Clorexidina: seu uso e indicações. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v. 48, n. 5, set./out. 1994.

FRANCISCO, K.M.S. Fitoterapy: an option in odontological treatment. **Rev. Saúde UnG**, Guarulhos, v. 4, n. 1, p. 18-24, 2010.

GEBARA, E.C.E. Estudo in vitro da ação antimicrobiana de substâncias naturais sobre *S. mutans* e *S. sobrinus*. **Rev. Odontol. Univ. São Paulo**, São Paulo, v. 10, n. 4, p. 251-256, out./dez. 1996.

GENCO, R.J. Antibiotics in the treatment of human periodontal diseases. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 52, no. 9, p. 545–558, Sept. 1981.

GJERMO, P.; LYCHE BAASTAD, K.; ROLLA, C. The plaque-inhibiting capacity of 11 antibacterial compounds. **J. Periodontal Res.**, Copenhagen, v. 5, no. 2, p. 102-109, 1970.

GJERMO, P. Chlorhexidine and related compounds. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 68, p. 1602-1608, 1989.

KOO, H. et al. In vitro antimicrobial activity of propolis and *Arnica montana* against oral pathogens. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v. 45, no. 2, p. 141-148, Feb. 2000.

KORNMAN, K.S. Antimicrobial agents. In: LÖE, H.; KLEIMAN, D.V. (Ed.). **Dental plaque control measures and oral hygiene practices**. Oxford: IRL Press, 1986. p. 121-142.

LÖE, H.; SCHIOTT, C.R. The effect of mouth rinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. **J. Periodontal Res.**, Copenhagen, v. 5, no. 2, p. 79–83, 1970.

LÖE, H.; THEILADE, E.; JENSEN, S.B. Experimental gingivitis in man. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 36, p. 177-187, May/June 1965.

MARSH, P.D.; NYVAD, B.A. Microbiota oral e biofilmes formados sobre os dentes. In: FEJERSKOV, O. (Ed.). **Cárie dentária**. São Paulo: Liv. Santos, 2005. Cap. 3, p. 29-47.

MATULA, C.; HILDEBRANT, M.; NAHLER, G. Decontamination of the oral cavity. Effect of six local anti-microbial preparations in comparison to water and parafilm as controls. **J. Int. Med. Res.**, Northampton, v. 16, no. 2, p. 98-106, Mar./Apr. 1988.

THE MERCK Index. 14th ed. Whitehouse Station: Merck, 2006.

MONFRIN, R.; RIBEIRO, M.C. Avaliação in vitro de anti-sépticos bucais sobre a microbiota da saliva. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v. 54, n. 5, p. 400-407, set./out. 2000.

MORAN, J.; ADDY, M.; ROBERTS, S. A comparison of natural product, triclosan and chlorhexidine mouthrinses on 4-day plaque re-growth. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 19, no. 8, p. 578-582, Sept. 1992.

MOREIRA, A.C.A. et al. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de antissépticos bucais. **Rev. Ciênc. Méd. Biol.**, Salvador, v. 8, n. 2, p. 153-161, maio/ago. 2009.

NEVES, A.M.; PASSOS, I.A.; OLIVEIRA, A.F.B. Estudo da prevalência e severidade de gengivite em população de baixo nível socioeconômico. **Odontol. Clín.-Cient.**, Recife, v. 9, n. 1, p. 65-71, jan/mar. 2010.

OLIVEIRA, F.Q. et al. Espécies vegetais indicadas na odontologia. **Rev. Bras. J. Pharmacogn.**, São Paulo, v. 17, n. 3, p. 466-476, jul./set. 2007.

ORLAND, F.J. et al. Use of the germ-free animal technique in the study of experimental dental caries. **J. Dent. Res.**, v. 33, no. 2, p. 147-174, April. 1954.

SLOTS, J.; RAMS, T.E. Antibiotics in periodontal therapy: advantages and disadvantages. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 17, no. 7, pt.2, p. 479-493, Aug. 1990.

DE SOUZA, G.C. et al. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. **J. Ethnopharmacol.**, v. 90, no. 1, p. 135-143, Jan. 2004.

SOYAMA, P. Plantas medicinais são pouco exploradas pelos dentistas. **Rev. Ciênc. Cult.**, São Paulo, v. 59, n. 1, p. 12-13, jan./mar. 2007.

SWEETMAN, S. (Ed.). **Martindale**: the complete drug reference. London: Pharmaceutical Press; Greenwood Village, Co.: Thomson Healthcare, 2010. Disponível em: <<http://www.thomsonhc.com/home/dispatch>>. Acesso em: 06 set. 2010. Acesso restrito a assinantes.

TORRES, C.R.G. et al. Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na Odontologia. **Rev. Fac. Odontol. São José dos Campos**, São José dos Campos, v. 3, n. 2, p. 43-52, jul./dez. 2000.

UNITED STATES PHARMACOPEIA CONVENTION. **The United States Pharmacopeia**: the national formulary. 22nd ed. Easton: USP, 2067. p. 1990.

WADE, W.; ADDY, M. In vitro activity of a chlorhexidine-containing mouthwash against subgingival bacteria. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 60, no. 9, p. 521-525, Sept. 1989.

WEYNE, S. Avaliação clínica de dois enxaguatórios bucais: Malvatricin e Flogoral. **Odontis**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 8, p. 3-4, abr./jun. 2003.

ANEXO 1

Teste de avaliação de distribuição normal

Teste de hipótese na comparação de duas curvas de distribuição de dados

Testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk mostram os resultados de avaliação de normalidade. Ambos testam a hipótese de que os dados da amostra estão normalmente distribuídos. No caso de amostras pequenas, o teste de Shapiro-Wilk é considerado mais poderoso, de modo que SPSS apresenta seus resultados quando a amostra apresenta menos de 50 casos.

Microorganismo		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	DF	Sig.	Statistic	df	Sig.
Zona de inibição	<i>Lactobacillus</i>	,139	49	,018	,914	49	,002
	<i>Streptococcus</i>	,271	50	,000	,754	50	,000
	Totais	,184	50	,000	,878	50	,000

a. Lilliefors Significance Correction

Neste trabalho, como o tamanho de amostra é pequeno, SPSS mostra o resultado do teste de Shapiro-Wilk. Mas, independentemente do teste – Kolmogorov-Smirnov ou Shapiro-Wilk – a conclusão é de que os dados não apresentam distribuição normal. Portanto, foi escolhido para análise estatística dos dados, o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis seguido pelo teste *U* de Mann-Whitney.

ANEXO 2

Bula do Periogard®

Solução Bucal Periogard (250ml)

Periogard é uma solução que contém Gluconato a 0,12% (ou digluconato formulado para uma base livre de Clorhexidina na concentração de 0,067%) e os seguintes componentes inativos: Água, glicerina, etanol, polisorbato 20, composição aromática com sabor predominante de menta, sacarinato de sódio, FD&C Blue, nº1. O nome químico do Gluconato de Clorhexidina é: 1,1-bis hexametileno (5-p-clorofenil biguanida) di-D-Gluconato.

Informações:

O princípio ativo, à base livre de Clorhexidina é solúvel em água e dissocia-se rapidamente em pH fisiológico liberando Clorhexidina carregada positivamente. O mecanismo de ação antimicrobiana da Clorhexidina relaciona-se à sua carga catiônica, que se une às paredes celulares microbianas e a outros complexos, alterando o equilíbrio osmótico do micróbio. A Clorhexidina é bactericida para os microorganismos gram positivos e negativos e para algumas leveduras.

Indicação:

Periogard é indicado como auxiliar no tratamento de gengivites e prevenção de doenças periodontais em pessoa impossibilitadas de fazer o tratamento bucal - Periogard deve ser parte de um programa controlado pelo cirurgião dentista. A eficácia clínica de Periogard, não foi demonstrada no tratamento de periodontite e gengivite ulcerativa necrosante aguda (GUNA)

Contra-Indicações:

Periogard não deve ser indicado para pessoas com hipersensibilidade ou resposta alérgica a Clorhexidina.

Advertências:

Não demonstrou a eficácia clínica do produto contra a periodontite. Resultados clínicos experimentais indicam que o uso de uma solução bucal de Gluconato de Clorhexidina pode aumentar os depósitos de cálculo supragengival, os quais devem ser removidos através de limpeza profissional periódica. Usar somente para bochechos. Não engolir. Usar somente sob recomendação do dentista. Deve ser mantida longe do alcance das crianças.

Precauções:

A presença ou ausência de inflamação gengival após o uso do produto não deve ser considerada como indicação de periodontite. Podem ocorrer manchas nos dentes e restaurações observáveis após uso por tempo prolongado do produto. Este tempo varia de pessoa para pessoa. Estas manchas são externas ao esmalte dental, não afetam a saúde e podem ser removidas por profilaxia em consultório odontológico. Pode ocorrer perda do paladar que retorna após a interrupção do uso do produto.

Uso na infância e na gravidez: Não se estabeleceu a eficácia clínica e segurança do produto em crianças e mulheres grávidas

Dosagem Posologia:

Deve-se bochechar 15ml de solução não diluída (uma tampa cheia) pela manhã e à noite, após higiene bucal. O uso de Periogard deve ser iniciado após profilaxia em consultório e seguir fazendo higiene bucal diária.

Atenção: Não bocheche com água imediatamente após bochecho com Periogard, pois isto pode acentuar a percepção do sabor amargo do produto.

ANEXO 3

Bula do Malvatricin® PPU

Antisséptico da boca e garganta. Solução pronta para uso.

Indicações:

Afecções da boca, aftas e dor de garganta.

Composição:

Cada 15 mL contém: Tirotricina 1,50 mg; Quinosol 15,00 mg; Veículo q.s.p. 15,0 mL. Veículos: Ácido Cítrico, Álcool Etílico, Essência de Menta, Fosfato de Sódio Dibásico, Glicerol, Hidróxido de Sódio Lentilhas, Mentol Cristal, Metabissulfito de Sódio, PEG 40 Óleo de Rícino Hidrogenado, Sacarina Sódica, Sorbitol, Tintura de Malva, Corante Azul Brilhante e Água Deionizada.

Contraindicações:

É contraindicado em pacientes alérgicos a este medicamento. "Não há contraindicação relativa a faixas etárias".

Precauções:

Este medicamento pode ser utilizado durante a gravidez desde que sob orientação médica ou odontológica.

Modo de usar:

Adultos: A solução Malvatricin® Pronta para Uso (PPU) já está pronta para uso, não devendo ser diluída em água. Bochechar e/ou gargarejar o volume contido na tampa medida, 3 a 4 vezes ao dia, ou de acordo com as instruções do dentista ou do médico. Nos quadros agudos, usar de 2 em 2 horas.

Crianças: Molhar uma haste flexível com ponta de algodão no produto e passar nas áreas afetadas da boca.

Para uma melhor ação do produto, é aconselhável não comer ou beber durante 30 minutos após o uso. Não ingerir. Conservar o frasco bem fechado em temperatura ambiente (15 a 30°C) e ao abrigo da luz solar. Não use medicamento com o prazo de validade vencido.

Siga corretamente o modo de usar; não desaparecendo os sintomas, procure orientação médica ou odontológica.

TODO MEDICAMENTO DEVE SER MANTIDO FORA DO ALCANCE DAS CRIANÇAS.

Este produto possui álcool em sua composição.

