



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

LUCIANE DE JESUS CARVALHO

EFICÁCIA ANTIMICROBIANA DE ENXAGUANTES EM BACTÉRIAS BUCAIS

BELÉM

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

LUCIANE DE JESUS CARVALHO

EFICÁCIA ANTIMICROBIANA DE ENXAGUANTES EM BACTÉRIAS BUCAIS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do grau de Cirurgiã-Dentista.

Orientadora: Profª Dra. Danielle Tupinambá Emmi

BELÉM

2018

LUCIANE DE JESUS CARVALHO

EFICÁCIA ANTIMICROBIANA DE ENXAGUANTES EM BACTÉRIAS BUCAIS

Data da Defesa: 20/08/2018

Julgamento: _____

Banca examinadora:

Profª Dra. Danielle Tupinambá Emmi – Orientadora

Profª Dra. Marizeli Viana de Aragão Araújo- Examinadora

Profª Dra. Andréa Maia Corrêa Joaquim - Examinadora

Profª Dra. Ana Cláudia Braga Amoras Alves – suplente

Dedico

Ao meu grande e maravilhoso Deus, aos meus pais, às minhas irmãs, a cada membro da minha família, e a cada pessoa que fez parte dessa trajetória até aqui, vocês foram essenciais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, ao meu maravilhoso **Deus**, que com Sua infinita misericórdia me sustentou até aqui. Por nunca ter me desamparado e por ter me guiado e guardado durante todo o caminho trilhado. Por ter suprido cada uma de minhas necessidades e ter me mostrado que eu sempre poderei mais do que eu imaginaria fazer.

Aos meus pais, **Cleodete Joana Nobre de Jesus** e **Benedito Jorge Sarges de Carvalho**, que se mostram incansáveis quando se trata de me apoiarem em meus sonhos e incentivam-me a ser a cada dia melhor, por jamais pouparem esforços para me ajudar em tudo que faço, amo vocês.

À minha irmã **Érica**, por me incentivar ao melhor, por todo o apoio financeiro e emocional. A minha irmã **Lucicleide**, por ser uma rocha firme e amiga, por tantas vezes ter me socorrido naquelas emergências estudantis. A minha irmã **Cleide**, pela paciência, por ter sido minha paciente no 5º semestre. A minha irmã **Elane** por ser a melhor irmã-maquadora que existe. Obrigada, minhas irmãs, por cada momento dessa caminhada vocês estarem presentes, por sempre terem me ajudado nas dificuldades, por todo apoio emocional, pelo companheirismo, amo vocês.

À **Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Pará**, por ser a instituição na qual eu pude concluir minha graduação. À **Direção**, aos meus **Queridos Professores** que passaram tanto conhecimento, que nos ensinaram tanto e que nos inspiram a sermos profissionais dedicados ao nosso ofício. Ao corpo técnico, em especial, as atendentes das clínicas e as queridas -tias!! da limpeza que foram partes importantes em todas as clínicas.

A minha orientadora **Profª Draª Danielle Tupinambá Emmi**, que é muito mais que uma professora, mas uma inspiração. Que através do seu jeito especial, dedicado e cativante de ser passa um amor e paixão pela odontologia que me contagiou. Por ter me

dado a oportunidade de aprender com uma bolsa de iniciação científica, por cada conhecimento e incentivo passados durante toda a produção desse TCC, por cada ensinamento durante todos os meus dias de monitoria. Muito obrigada!

A **Profª Draª Marizeli Viana de Aragão Araújo**, por ter me estendido suas mãos em um dos momentos mais difíceis da minha vida, por ser uma das maiores fontes de inspiração que levarei dessa faculdade. Por ser uma profissional exemplar, por ter me ensinado tanto em cada dia de monitoria, em cada trabalho orientado. Muito obrigada!

Ao **Profº Dr. Alberdan Silva Santos**, a **Profª Draª Márcia Gleice da Silva Souza** e a toda equipe do Laboratório de Investigação Sistemática em Biotecnologia e Biodiversidade Molecular (LabISisBio) do Instituto de Ciências Exatas e Naturais da Universidade Federal do Pará, que foram peças muito importantes em toda a realização desse trabalho, com todos seus conhecimentos em pesquisa.

Ao **Programa de Bolsa de Iniciação Científica da UFPA**, pelo ano de bolsa concedida, incentivando a pesquisa e apoiando os alunos nessa trajetória acadêmica.

À **minha querida turma 20** por todos os conhecimentos partilhados e anos de aprendizado que fizeram dessa classe **a turma do amor**, não apenas por amarmos o que fazemos, mas por agirmos com amor uns com os outros, sempre prontos a ajudar.

As minhas amigas **Sara Moraes**, **Gessica Rafaela**, e **Thais Lobato** (minha dupla querida), que foram mais que amigas durante todos esses 5 anos, foram verdadeiras irmãs. Sempre dividindo conhecimento, apoiando uma a outra, por noites mal dormidas estudando juntas, por serem o abraço amigo da outra em momentos difíceis. Não foi fácil, mas vencemos. Amo vocês!

Às minhas amigas e pacientes **Alessandra Santos**, **Milena Carvalho** e **Pamela Letícia** por serem participantes dessa história e do meu crescimento nessa formação profissional.

Às pessoas da **minha querida IBMA-Icuí**, em especial ao **Pastor Amâncio** e **Pastora Nane**, aos meus líderes **Rociclei** e **Patrícia**, por serem minha família em Cristo, por serem meus grandes intercessores, por cada oração durante essa trajetória. Aos meus amigos e companheiros **Levitas**. Muito Obrigada!

Ao meu amigo e namorado **Gabriel Barros**, por toda dedicação e companheirismo. Por não medir esforços para me ajudar, por muitas vezes ter visto de perto as dificuldades que enfrentei e ter me ajudado a vencê-las, por ser meu grande incentivador. Muito obrigada!

Ao restante da **minha família**, em especial meus tios **Valdeci** e **Rosangela**, meu primo e paciente **Hernan Carvalho**; meus primos **Josiane Rodrigues**, **Jean Carvalho**; meus avós maternos **Cleide Nobre** e **João Leal**; meus avós paternos **Benedito Carvalho** e **Luci Sarges** (in memoriam), obrigada pelo apoio e incentivo.

A todos que fizeram parte diretamente ou indiretamente de toda essa trajetória da graduação. Nos momentos de dificuldades, nos momentos de alegria, nos momentos de luta, durante minhas conquistas, por tudo vivido até aqui. Enfim, para todos os momentos: meu muito obrigada!

SUMÁRIO

Artigo elaborado de acordo com as normas do *American Journal Of Dentistry*

INTRODUÇÃO	4
MÉTODOS	6
RESULTADOS	8
DISCUSSÃO	9
REFERÊNCIAS	14
QUADRO E TABELA	18
ANEXO	22

EFICÁCIA ANTIMICROBIANA DE ENXAGUANTES EM BACTÉRIAS BUCAIS

Luciane de Jesus Carvalho

Aluna da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Pará (UFPA).

Integrante do Programa Institucional de Bolsa de Iniciação Científica – PIBIC/ UFPA.

Danielle Tupinambá Emmi

Doutora em Odontologia. Professora Adjunta da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Pará.

Autor correspondente:

Danielle Tupinambá Emmi

Av. Augusto Corrêa, n.01 – Cidade Universitária José da Silveira Netto – Guamá –
CEP: 66.075-110 - Belém-Pará-Brasil

E-mail: dtemmi@ufpa.br

EFICÁCIA ANTIMICROBIANA DE ENXAGUANTES EM BACTÉRIAS BUCAIS

RESUMO

Objetivo: Avaliar a atividade antimicrobiana de enxaguatório bucal desenvolvido com óleos vegetais de tucumã (*Astrocaryum vulgare*) e pupunha (*Bactris gasipae*) frente a microrganismos presentes na cavidade oral e relacionados à cárie e doença periodontal, comparando sua eficácia com produtos comerciais largamente utilizados. **Materiais e métodos:** Foi utilizado o método de disco difusão em Ágar em o meio semi-sólido. Os testes foram feitos em enxaguantes naturais nas concentrações de 5% e 10% dos óleos vegetais e comparados a produtos utilizados no mercado a base de clorexidina, triclosan e cloreto de cetilpiridínio. A sensibilidade dos produtos foi avaliada frente a cepas de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (ATCC 29522), *Lactobacillus fermentum* (ATCC 9338), *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10557). Os valores em milímetros das amostras dos halos formados foram processados em matriz de dados do Microsoft Office Excel e submetidos à análise descritiva. **Resultados:** Os maiores halos de inibição em *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Lactobacillus fermentum* foram provocados pela clorexidina – CLX (respectivamente 35,0mm e 30,0mm) e pelo enxaguante experimental com 5% dos óleos vegetais - Enx 5% (20,0mm e 20,0mm respectivamente). Já para espécie *Streptococcus mutans*, os maiores halos foram observados pelo triclosan – TRICL (29,0mm) e com o enxaguante experimental 5% - Enx 5% (28,0mm). Para a espécie *Streptococcus sanguinis*, a maior inibição se deu na utilização do triclosan, não havendo atividade antimicrobiana constatada com o cloreto de cetilpiridínio – CCP e os enxaguantes experimentais nas duas concentrações testadas. Os enxaguantes desenvolvidos

com óleos vegetais nas concentrações de 5% e 10% apresentaram eficácia na ação antimicrobiana, independente da concentração de óleo testada, frente ao *Streptococcus mutans*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Lactobacillus fermentum*, contudo não apresentaram efeito antimicrobiano frente ao *Streptococcus sanguinis*.

Palavras-chave: Enxaguantes bucais. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.
Lactobacillus fermentum. *Streptococcus mutans*. *Streptococcus sanguinis*

Relevância clínica: Os enxagatórios bucais necessitam da comprovação da sua segurança e eficácia antimicrobiana. No entanto, os estudos que avaliam a eficácia destes produtos ainda é pouco explorada e divulgada. Sendo assim, esta pesquisa buscou avaliar enxaguantes experimentais desenvolvidos com óleos vegetais amazônicos, que despontam como alternativa para o controle do biofilme comparando-o a produtos largamente utilizados no mercado.

INTRODUÇÃO

A cavidade bucal é dotada de diferentes sítios ecológicos como a língua, superfície dos dentes, mucosas e bolsas anaeróbicas, o que a torna um nicho ecológico complexo e colonizado por uma microbiota diversa¹. Estes microrganismos se organizam e as interações entre as espécies bacterianas, desde os primeiros estágios de colonização até a formação do biofilme maduro são os principais agentes etiológicos das doenças infecciosas orais, como cárie dentária, gengivite e periodontite,^{2,3}.

Os *Streptococcus* são importantes membros do biofilme bucal, pois fermentam carboidratos, são acidúricos e acidogênicos e possuem a capacidade de iniciar a colonização das superfícies dentais cobertas com a película adquirida, permitindo a agregação subsequente de outras espécies de microrganismos bucais. As bactérias do gênero *Lactobacillus* compreendem um grupo com papel mais importante na progressão, do que na instalação da cárie dental, mas também com a capacidade de tolerar ambientes com baixo pH. Ambas espécies são Gram-positivas e anaeróbias facultativas^{4,5}.

A doença periodontal é causada em sua maior parte, pela infecção de bactérias específicas Gram-negativas podendo levar a destruição do tecido conjuntivo, ligamento periodontal e osso alveolar⁶. O *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* caracteriza-se como um importante patógeno periodontal em função, principalmente, de seus fatores de virulência responsáveis por facilitar a colonização, a invasão e a destruição dos tecidos periodontais, sendo o principal microrganismo relacionado a periodontite agressiva⁷. Esta bactéria utiliza como importante fonte de energia o ácido láctico, resíduo metabólico de *Streptococcus* e

*Lactobacillus*², evidenciando o papel crítico dos *Streptococcus* na interação microbiana para o desenvolvimento do biofilme⁸.

Dessa forma, o controle do biofilme, por meio da escovação dentária e uso do fio dental se torna essencial para a garantia da saúde bucal. Além disso, o uso de enxaguatórios bucais como adjuvantes da higiene bucal mecânica mostra-se eficaz no controle de microrganismos, uma vez que estes produtos contêm substâncias antimicrobianas, o que possibilita a prevenção das patologias bucais e a manutenção de dentes e tecidos de suporte saudáveis⁹. Estudo clínico recente mostrou que a escovação dentária complementada pelo uso de enxaguante reduziu em 83% as bactérias do biofilme após 4 semanas de uso¹⁰.

Embora a utilização de enxaguantes seja cada vez mais comum e indicada por cirurgiões dentistas como método complementar de higiene bucal, os procedimentos de controle de qualidade relacionados com a atividade antimicrobiana destes produtos contra bactérias da cavidade oral ainda são escassos, evidenciando a necessidade de mais estudos que comprovem sua eficácia^{11,12}.

Algumas contraindicações e efeitos adversos dos agentes antimicrobianos presentes atualmente nos enxaguantes comercializados, bem como, o aumento da resistência de muitas espécies bacterianas, tem levado a um crescimento das pesquisas por ativos vegetais que ofereçam eficácia antimicrobiana com menos efeitos deletérios aos tecidos orais. Neste contexto, torna-se de grande relevância a avaliação de extratos e substâncias bioativas, com aplicação direcionada para a prevenção da cárie e infecções de caráter anaeróbico, com perspectivas para novas abordagens terapêuticas.

Óleos vegetais são fontes de ácidos graxos mono e poli-insaturados, que são considerados efetivos para promoção de saúde¹³. Neste sentido, os óleos comestíveis de *Astrocaryum vulgare* e *Bactris gasipae*, que apresentam rica composição de ácidos graxos, mostraram em estudo *in situ*, reduzir a agregação bacteriana e a perda mineral do esmalte¹⁴, propiciando o desenvolvimento de um enxaguante bucal com potencial antimicrobiano.

Com isto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a atividade antimicrobiana de enxaguatório bucal desenvolvido com óleos vegetais de tucumã (*Astrocaryum vulgare*) e pupunha (*Bactris gasipae*) frente a microrganismos presentes na cavidade oral relacionados à cárie e à doença periodontal, comparando sua eficácia com produtos comerciais largamente utilizados.

MATERIAL E MÉTODOS

Linhagens Bacterianas

As linhagens de bactérias utilizadas neste estudo foram cedidas pela coleção do Laboratório de Microrganismos de Referência do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Osvaldo Cruz (FIOCRUZ). As cepas e seus códigos de origem são: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (ATCC 29522), *Lactobacillus fermentum* (ATCC 9338), *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10557). Cada cepa liofilizada foi reativada de acordo com as indicações da FIOCRUZ, sendo cultivadas em meio de cultura para cada tipo bacteriano (Quadro 01).

Preparo da suspensão bacteriana para os ensaios

Foram transferidos 9mL do meio líquido estéril para tubos de ensaio de 25mL.

A partir de uma cultura fresca, retirou-se uma alíquota da suspensão de bactérias e transferiu-se para o tubo contendo a solução salina. A suspensão bacteriana foi homogeneizada em vórtex e a turbidez ajustada a 0,5 McFarland (equivalente a $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônia para cada mL - UFC/mL). Para o preparo da solução padrão de BaSO₄ (sulfato de bário), denominada de solução 0,5 de McFarland, acrescentou-se uma alíquota de 0,5mL de BaCl₂ 0,048 mol/L (1,175% v/v BaCl₂ • 2H₂O) a 99,5mL de H₂SO₄ 0,18mol/L (1% v/v), homogeneizando constantemente para manter a suspensão. A densidade correta do controle de turbidez foi verificada usando um espectrofotômetro com fonte de luz de 1cm e cubeta apropriada para determinar a absorbância. A absorbância da solução padrão 0,5 de McFarland varia de 0,08 a 0,10, utilizando um comprimento de onda de 625 nm¹⁵.

Produtos analisados

Os produtos utilizados para o teste de atividade antimicrobiana estão descritos no Quadro 2, com seus respectivos princípios ativos, concentrações e fabricantes. Os produtos não apresentavam álcool em sua composição, continham fluoreto de sódio na concentração de 226ppm de íon flúor, devido a compatibilidade deste fluoreto com os demais componentes dos enxaguantes. Os produtos comerciais foram adquiridos em farmácias locais, enquanto que o enxaguante experimental foi desenvolvido uma semana antes das análises antimicrobianas. A clorexidina foi manipulada para o estudo na Farmácia *A Fórmula* (Belém, PA, BR) devido os produtos comerciais disponíveis no mercado, normalmente associarem a clorexidina à outros princípios ativos.

Método de Disco-Difusão em Ágar

Foi utilizado o método de disco difusão em Ágar, no qual uma alíquota da suspensão bacteriana preparada a 0,5 McFarland foi semeada uniformemente sobre toda a superfície do meio de cultura contido na placa de Petri. Discos estéreis de papel-filtro de 5mm de diâmetro foram levemente dispostos sobre o meio semi-sólido em pontos equidistantes dessa placa. Para cada bactéria foi utilizado meio de cultivo de acordo com especificações da FIOCRUZ. Diferentes discos foram impregnados com alíquotas de 10µL das amostras a serem avaliadas^{16,17}. As placas de culturas com os discos foram incubadas à temperatura de 36°C por até 72h, com visualização a cada 24 horas.

Os ensaios foram realizados em triplicata, e os resultados, obtidos por meio da mensuração do diâmetro dos halos de inibição formados ao redor dos discos, após 72h, com o auxílio de régua e calculados pela média aritmética dos diâmetros, expressos em milímetros (mm) para obter-se os parâmetros de inibição entre as substâncias utilizadas nos discos de papel^{16,17}. Utilizou-se como controle negativo um disco impregnado com hexano.

Análise de dados

Foi obtida a média das medidas dos halos formados em cada produto. Estes valores foram processados em matriz de dados do Microsoft Office Excel e submetidos à análise descritiva para obtenção das medidas de tendência central e variabilidade dos halos de inibição (mm).

RESULTADOS

Na Tabela 1 é possível observar que os microrganismos *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Lactobacillus fermentum* e *Streptococcus mutans*

mostraram-se sensíveis a todos os enxaguantes testados, independente do princípio ativo utilizado. Já a espécie *Streptococcus sanguinis* foi inibida apenas pelo Clorexidine (CLX) e Sanifill Cuidado Total® (TRICL).

Os maiores halos de inibição em *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* foram provocados pela clorexidina – CLX e pelo enxaguante experimental com 5% dos óleos vegetais - Enx 5% (respectivamente 35,0mm e 30,0mm). E em *Lactobacillus fermentum* foram pelos enxaguantes experimentais com 10% e 5% de óleos vegetais (23,0mm e 20,0mm respectivamente). Já para espécie *Streptococcus mutans*, os maiores halos foram observados pelo triclosan – TRICL (29,0mm) e com o enxaguante experimental 5% - Enx 5% (28,0mm). Para a espécie *Streptococcus sanguinis*, a maior inibição se deu na utilização do triclosan, não havendo atividade antimicrobiana constatada com o cloreto de cetilpiridínio – CCP e os enxaguantes experimentais nas duas concentrações testadas.

A Figura 1 mostra a cromatografia em camada delgada (TLC) dos óleos utilizados na elaboração dos enxaguantes experimentais, evidenciando a predominância de triacilglicerol (TAG) composto de ácidos graxos e por carotenoides.

DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo mostraram que os enxaguantes bucais experimentais nas concentrações de 5% e 10% de óleos vegetais apresentaram atividade antimicrobiana em *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Lactobacillus fermentum* e *Streptococcus mutans*, sendo que o enxaguante experimental com 5% mostrou-se superior ao produto com 10% dos óleos. A melhor eficácia apresentada na menor concentração do enxaguante experimental (5%) pode estar relacionada às

características físicas do produto, que se apresenta como uma solução mais densa, dificultando sua difusão no meio de cultura.

Os enxaguantes experimentais apresentam como princípio ativo, a associação dos óleos extraídos dos frutos de *Astrocaryum vulgare* (tucumã) e *Bactris gasipae* (pupunha) que apresentam rica composição lipídica, representada pelos ácidos graxos (Figura 1). Esses óleos demonstraram efetividade na prevenção à cárie em estudo *in situ*¹⁴, e sua concentração nos produtos desenvolvidos levou em consideração, a concentração do princípio ativo dos enxaguantes comerciais.

A literatura ressalta a utilização de óleos vegetais para promoção de saúde bucal e controle do biofilme, devido a natureza lipossolúvel dos óleos, representada pelos ácidos graxos mono e poli-insaturados¹³, o que permite a interação com estruturas celulares que tenham constituição lipídica, resultando no aumento da permeabilidade das membranas, podendo provocar desequilíbrio eletrolítico e morte celular¹⁸. Além disso, o enriquecimento de lipídios na formação da película pode alterar suas propriedades físico-químicas, dificultando a adesão bacteriana, pois os lipídios conferem características hidrofóbicas a superfície dental dificultando a colonização de bactérias e diminuindo a susceptibilidade a cárie¹⁹.

Os produtos odontológicos contendo substâncias naturais apresentam boas perspectivas no mercado, devido à aceitação popular da fitoterapia, podendo ser introduzidos desde que amplamente amparados por estudos laboratoriais e clínicos²⁰.

No Brasil, os enxagatórios bucais são categorizados como produtos de higiene pessoal e cosméticos, sendo as formulações classificadas como produtos de grau 2, demandando a comprovação da sua segurança e eficácia antimicrobiana²¹. No entanto, apesar da larga utilização dos enxaguantes bucais e das diversas

marcas disponíveis no mercado, existem poucos estudos que mostram suas atividades antimicrobianas em diferentes microrganismos que estão envolvidos nas doenças bucais. Neste enfoque, este estudo procurou avaliar a eficácia antimicrobiana de produtos comerciais distintos com diferentes princípios ativos, em bactérias iniciadoras do processo de cárie (*Streptococcus mutans* e *Streptococcus sanguinis*), bactérias responsáveis pela progressão da doença cárie (*Lactobacillus fermentum*) e microrganismos relacionados a doença periodontal (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*).

Moreira *et al.*¹¹ destacaram a necessidade de estudos que avaliem a eficácia de medicamentos, sobretudo de antissépticos, o que ainda é pouco explorada e divulgada. Muitas vezes, os cirurgiões dentistas fazem as indicações dos produtos baseadas no que é recomendado pelos fabricantes, sendo imprescindível a realização de testes *in vitro* para confirmar a ação do produto.

A clorexidina é considerada o padrão ouro de ação antimicrobiana. Esta característica deve-se principalmente ao amplo espectro de ação em bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos, além de sua substantividade. Os resultados deste estudo corroboram com a afirmativa, pois a clorexidina apresentou atividade em todos os microrganismos testados, com destaque para a inibição em *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, onde o produto ocasionou o maior halo de inibição em comparação aos demais produtos analisados (Tabela 1). Devido o uso prolongado da clorexidina causar alguns efeitos colaterais como manchamento dos dentes e língua e alteração do paladar, Juiz *et al.*²² sugerem a combinação da clorexidina à ativos naturais, visando minimizar os efeitos colaterais e maximizar a atividade antimicrobiana do antisséptico.

Estudo realizado por Pinto-Filho *et al.*²³ mostrou que o triclosan foi igualmente eficaz à clorexidina na inibição de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Contudo, a presente pesquisa demonstrou melhor comportamento do triclosan frente às bactérias iniciadoras do processo de cárie do que nas bactérias periodontais.

O cloreto de cetilpiridínio (CCP) é um detergente catiônico que apresenta menor eficácia clínica devido a sua baixa substantividade¹¹. Nesta pesquisa o CCP foi o princípio ativo que demonstrou os menores halos de inibição bacteriana em todos os microrganismos testados, concordando com os achados de Pinto-Filho *et al.*²⁴ que constataram que a ação inibitória do triclosan em *Streptococcus mutans* foi superior ao cloreto de cetilpiridínio. No entanto, o estudo de Muniz²⁵, que avaliou o efeito de diferentes enxaguantes bucais em bactérias cariogênicas, mostrou que o princípio ativo cloreto de cetilpiridínio presente nos enxaguantes Cepacol e Oral-B apresentou melhor eficácia antimicrobiana frente a *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius* e *Streptococcus oralis*, quando comparado a produtos contendo óleos essenciais, triclosan e clorexidina.

Os enxaguantes experimentais desenvolvidos com 5% e 10% dos óleos vegetais apresentaram eficácia antimicrobiana na maioria das espécies testadas, com exceção dos *Streptococcus sanguinis*. Estudo de Bernardes *et al.*²⁶ mostrou que o óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* apresentou baixa atividade contra *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus salivarius* e *Streptococcus sobrinus*.

Apesar dos enxaguantes experimentais 5% e 10% testados não apresentarem eficácia em *Streptococcus sanguinis*, o produto composto por 5% de óleo apresentou eficácia antimicrobiana em *Streptococcus mutans* similar ao triclosan. Em *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* demonstrou halo de inibição com valores menores apenas do que a clorexidina e, para *Lactobacillus fermentum*,

a média do halo de inibição foi igual à clorexidina. Já o enxaguante composto por 10% dos óleos vegetais demonstraram halos maiores que a clorexidina em *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus fermentum*, mas apresentaram pouca eficácia em *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Os resultados mostrados neste estudo para os enxaguantes com princípios ativos naturais discordam de pesquisas com produtos desenvolvidos com outros princípios ativos naturais em sua composição, como o Água Rabelo®, constituído por aroeira, eucalipto e hortelã, que não mostrou atividade inibitória em bactérias cariogênicas^{27,28}.

Os enxaguantes bucais experimentais desenvolvidos com os óleos vegetais de *Astrocaryum vulgare* (tucumã) e *Bactris gasipae* (pupunha) nas concentrações de 5% e 10% evidenciaram potencial atividade antimicrobiana na maioria dos microrganismos cariogênicos testados, assim como em microrganismos relacionados à doença periodontal. Os enxaguantes não demonstraram ação inibitória em *Streptococcus sanguinis*.

Os enxaguatórios testados apresentaram diferentes potenciais antimicrobianos nos testes *in vitro*. A clorexidina (Clorexidine®) apresentou os melhores resultados em *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, enquanto o triclosan (Sanifill Cuidado Total®) demonstrou melhor eficácia em *Streptococcus sanguinis*. Já o cloreto de cetilperidínio (Oral B Complete®) foi o princípio ativo que ocasionou os menores halos de inibição em todas as bactérias cariogênicas. Quanto aos enxaguantes com princípio ativo natural, constatou-se que o produto experimental com 5% dos óleos foi o mais efetivo em *Streptococcus mutans*, enquanto o composto por 10% dos óleos demonstrou a melhor eficácia em *Lactobacillus fermentum*.

REFERÊNCIAS

1. Crielaard W, Zaura E, Schuller AA, Huse SM, Montin RC, Keijser BJ. Exploring the oral microbiota of children at various developmental stages of their dentition in the relation to their oral health. *BMC Medical Genomics*, Zeist. 2011; 4(22):1-13.
2. Zoumpopoulou G, Pepelassi E, Papaioannou W, Georgalaki M, Maragkoudakis PA, Tarantilis PA. Incidence of bacteriocins produced by food – related lactic acid bacteria active towards oral pathogens. *Int J Mol Sci*. 2013; 14(3):4640-54.
3. Jakubovics NS, Kolenbrander PE. The road to ruin: the formation of disease-associated oral biofilms. *Oral Dis*. 2010; 16(8):729-39.
4. Zheng LY, Itzek A, Chen ZY, Kreth J. Oxygen dependent pyruvate oxidase expression and production in *Streptococcus sanguinis*. *Int J Oral Sci*. 2011; 3(2): 82-89.
5. Leites ACBR, Pinto MB, Sousa ER. Aspectos microbiológicos da cárie dental. *Salusvita*. 2006; 25(2): 135-48.
6. Stamatova I, Meurman JH Probióticos e doença periodontal. *Periodontol*. 2000. 2009; 51: 141–151.
7. Souza AADA, Bezerra CFR, Lima KC, Melo MCN. *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* e sua relação com a periodontite agressiva – Revisão de literatura. *R. Periodontia*. 2008; 18(1): 20-25.
8. Dufour D, Leung V, Lévesque CM. Bacterial biofilm: structure, function, and antimicrobial resistance. *Endodontic Topics*. 2012; 22:2–16.

9. Williams D, Lewis M. Pathogenesis and treatment of oral candidosis. *J Oral Microbiol.* 2011 Jan 28. doi:10.3402/jom.v3i0.5771.
10. Haraszthy VI, Sreenivasan PK. Microbiological and clinical effects of an oral hygiene regimen. *Contemporary Clinical Trials Communications.* 2017; 8: 85–89
11. Moreira ACA, Pereira MHQ, Porto MR, Rocha LAP, Nascimento BC, Andrade PM. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de antissépticos bucais. *Rev Cien Med Biol* 2009; 8(2): 153-161
12. Uzeda M, Magalhães FAC, Colombo APV, Lima KC. A comparative *in vitro* study of antimicrobial activity of six commercial mouthwashes against salivary bacteria. *Rev Cienc Plural* 2015; 1(1): 15-21
13. De Lorgeril M, Salen P. The Mediterranean-style diet for the prevention of cardiovascular diseases. *Public Health Nutr.* 2006; 9:118-23.
14. Emmi DT. Influência dos óleos do tucumã (*Astrocaryum vulgare*) e da pupunha (*Bactris gasipae*) na composição do biofilme dental e dinâmica do processo de cárie em esmalte: um estudo *in situ* [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2013. 96p.
15. ANVISA 2006. Termo de Cooperação nº 37-Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Controle Interno de qualidade para testes de sensibilidade a antimicrobianos, março de 2006. Manual de testes antimicrobianos. Disponível em:http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/manual_testes_antimicrobianos.pdf acesso em 02 de junho de 2014.
16. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 1966; 45(4): 493-496

17. NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard— Eighth Edition. NCCLS document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania. 19087-1898 USA, 2003.
18. Castro RD, Lima EO. Atividade antifúngica *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus globulus L.* sobre *Candida spp.* Rev Odontol UNESP. 2010; 39(3): 179-184.
19. Kensche A, Reich M, Kümmerer K, Hanning M, Hanning C. Lipids in preventive dentistry. Clin Oral Invest. 2013; 17: 669-85.
20. Gebara ECE, Zardetto CGC, Mayer MPA. Estudo *in vitro* da ação antimicrobiana de substâncias naturais sobre *S. mutans* e *S. sobrinus*. Rev Odontol. Univ São Paulo 1996; 10(4): 251-256.
21. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n. 04, de 30 de janeiro de 2014. Dispõe sobre os requisitos técnicos para a regularização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e dá outras providências, conforme Anexos I e II desta Resolução.
22. Juiz P JL, Alves R JC, Barros T F. Uso de produtos naturais como coadjuvante no tratamento da doença periodontal. Rev Bras Farmacogn. 2010; 20(1): 134-139.
23. Pinto-Filho JM, Araújo PC, Costa LFM. Avaliação microbiológica de antissépticos bucais em bactérias do biofilme dental - estudo *in vitro*. PerioNews. 2011; 5(5): 520.

24. Pinto-Filho JM, Araújo RPC, Costa LFM, Monteiro AMA, Pinheiro CS. Eficácia da atividade antimicrobiana de diferentes colutórios bucais sobre *Streptococcus mutans*: Estudo *in vitro*. Ortho Sci Orthod Sci Pract. 2009; 2(7/8):693-696.
25. Muniz KGG. Atividade Antimicrobiana In Vitro De Enxagatórios Buciais Sobre Bactérias Do Biofilme Dentário [Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Odontologia]. Campina Grande: Universidade Estadual da Paraíba, 2014. 22p.
26. Bernardes WA, Lucarini R, Tozatti MG, Souza MG, Silva ML, Filho AA, et al. Antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* against oral pathogens: relevance of carnosic acid and carnosol. Chem Biodivers. 2010; 7(7):1835-1840.
27. Ribeiro ASC, Pinto ATM, Silva DJ, Peixoto ITA. Atividade Antimicrobiana de Diferentes Colutórios Fitoterápicos. Ens Cienc Saúde. 2015; 19(4): 178-183.
28. Drumond MRS, Castro RD, Almeida RVD, Padilha WWN. Estudo comparativo *in vitro* da atividade antibacteriana de produtos fitoterápicos sobre bactérias cariogênicas. Pesq Bras Odontop Clin Integ. 2004; 4(1): 33-38.

QUADROS, TABELA E FIGURA**Quadro 01:** Meios de cultura utilizados no cultivo de cada bactéria

Bactéria	Meio de cultura
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	Brain Heart Infusion Agar
<i>Lactobacillus fermentum</i>	Caldo Lactobacilus MRS
<i>Streptococcus mutans</i>	Trypticase soy Agar TSA
<i>Streptococcus sanguinis</i>	Trypticase soy Agar TSA

Quadro 2: Produtos analisados na pesquisa, princípio ativo, concentração e fabricante.

Produto	Princípio ativo	Concentração	Fabricante
Enxaguante bucal experimental	Óleos de <i>Astrocaryum vulgare</i> e <i>Bactris gasipae</i> combinados	5%	Produção experimental dos autores
Enxaguante bucal experimental	Óleos de <i>Astrocaryum vulgare</i> e <i>Bactris gasipae</i> combinados	10%	Produção experimental dos autores
Oral B Complete®	Cloreto de cetilperidínio	0,053%	Procter & Gamble S/A, Queimados, RJ, BR.
Sanifill Cuidado Total®	Triclosan	0,03%	Cosmed Indústria de Cosméticos e Medicamentos, Barueri, SP, BR.
Clorexidine	Digluconato de clorexidina	0,12%	A Fórmula, Farmácia de manipulação, Belém, PA, BR.

Tabela 1: Média e Desvio Padrão dos halos de inibição, em milímetros, formados pela utilização de diferentes princípios ativos de enxaguantes bucais em microrganismos orais. Belém, 2018.

Microrganismos	Halos de inibição (mm)					
	CLX	TRICL	CCP	Enx 5%	Enx 10%	Hexano
<i>A.actinomycetemcomitans</i>	35,0 ^{±1,2}	20,0 ^{±0,0}	23,0 ^{±1,4}	30,0 ^{±2,2}	10,0 ^{±1,2}	0,0
<i>Streptococcus sanguinis</i>	13,0 ^{±1,4}	40,0 ^{±1,2}	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Lactobacillus fermentum</i>	20,0 ^{±0,7}	18,0 ^{±1,4}	18,0 ^{±0,0}	20,0 ^{±1,2}	23,0 ^{±1,7}	0,0
<i>Streptococcus mutans</i>	23,0 ^{±0,3}	29,0 ^{±0,7}	15,0 ^{±0,0}	28,0 ^{±2,2}	25,0 ^{±1,2}	0,0

*CLX: Clorexidina; TRICL: Triclosan; CCP: cloreto de cetilpiridínio; Enx 5%: enxaguante experimental com 5% dos óleos de pupunha e tucumã; Enx 10%: enxaguante experimental com 10% dos óleos de pupunha e tucumã; Hexano: controle negativo.

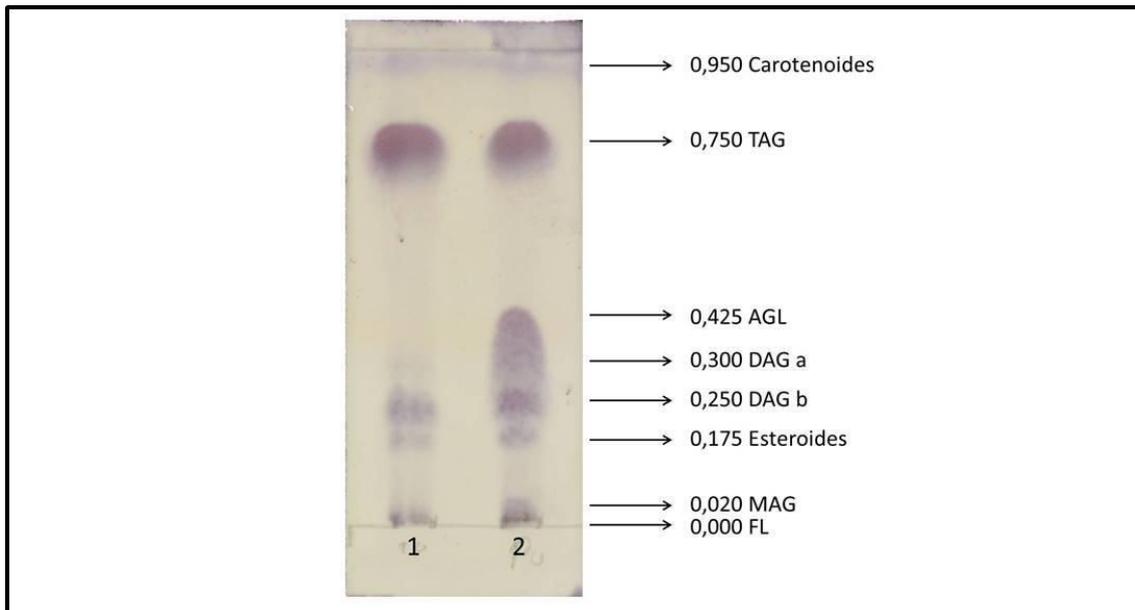


Figura 1: Perfil químico CCD dos óleos de *Astrocaryum vulgare* (tucumã) - amostra 1 e *Bactris gasipae* (pupunha) - amostra 2.

TAG – triacilglicerol; *DAG* – diacilglicerol; *AGL* – ácidos graxos livres; *MAG* – monoacilglicerol; *FL* – fosfolipídios.

ANEXO: Normas da Revista *American Journal of Dentistry*

Information for Authors

The **AMERICAN JOURNAL OF DENTISTRY** is published six times a year in February, April, June, August, October and December by *Mosher & Linder, Inc.*

The **AJD** invites submission of research manuscripts and reviews related to the clinical practice of dentistry. Manuscripts are considered for publication with the understanding that they have not been published elsewhere in any form or any language, are submitted solely to the **AJD**, and if accepted for publication in the **AJD**, they will not be published elsewhere in the same form or in any other language, without the consent of the Editor. Manuscripts are reviewed by at least two referees.

Statements and opinions expressed in the articles and communications herein are those of the author(s) and not necessarily those of the Editor, Managing Editor, Editorial Board members or publisher of the **AMERICAN JOURNAL OF DENTISTRY**.

All correspondence from the Editorial Office will be made with the designated Corresponding Author unless otherwise specified in a letter by the authors.

PREPARATION OF MANUSCRIPTS. Papers should be written in proper American English, double spaced, with liberal margins, and **only submitted by E-mail to the Editor**, with the text and tables in Microsoft Word files and illustrations in JPEG image format.

Papers reporting results of original research should be divided into Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements (if any), and References.

CLINICAL RESEARCH PAPERS. Need to follow the CONSORT Statement (Needleman I, et al. *Am J Dent* 2008;21: 7-12).

DISCLOSURE STATEMENT. The *American Journal of Dentistry* is instituting a policy to disclose conflicts of interest, as well as sponsorship of studies published in the Journal. Please provide information regarding any conflict of interest relationships of all authors, or state that each author has no conflict.

Examples of common financial relationships include: employment, consultancies, stock ownership, honoraria, and paid expert testimony. You can read more about other potential conflict of interests and the general policy at: <http://www.nlm.nih.gov/pubs/factsheets/supplements.html> and <http://www.icmje.org/#conflicts>

COPYRIGHT RELEASE. The following statement, signed by all authors, should accompany all manuscripts:

"All manuscript's copyright ownership is transferred from the author(s) of the article (title of article), to the American Journal of Dentistry in the event the work is published. The manuscript has not been published in any form or any language and is only submitted to the American Journal of Dentistry".

TITLE PAGE should include the title of the manuscript, all authors' full names and degrees, affiliations to institution or private practice, designation and address of corresponding author, telephone and fax numbers and e-mail address.

Disclosure statement

ABSTRACT PAGE should follow the title page and only contain: the title of the manuscript, the abstract and the clinical significance sections. On the abstract page, the name(s) of the author(s) should not appear. The abstract should have the following sections: Purpose, Methods, and Results.

CLINICAL SIGNIFICANCE. As a separate sentence after the abstract, a short statement should highlight the clinical significance of the manuscript.

REFERENCES. All references and only those cited in the text should appear in the list of references. They should be numbered consecutively as they appear in the text of the paper. Reference formatting programs should not be used.

When a paper cited has three or more authors, it should appear in the text thus: Gwinnett *et al.*¹ In the Reference section, article references must include the names and initials of all the authors, the full title of the paper, the abbreviated title of the journal, year of publication, the volume number, and first and last page numbers, *e.g.*:

Journals:

1. Thornton JB, Retief DH, Bradley EA. Marginal leakage of two glass ionomer cements: Ketac-Fil and Ketac-Silver. *Am J Dent* 1988; 1: 35-38.

Abstracts:

2. Alpeggiani M, Gagliani M, Re D. Operator influence using adhesive systems: One bottle vs. multi bottles. *J Dent Res* 1998;77: 942 (Abstr 2487).

Online abstracts:

3. Bayne SC, Wilder Jr AD, Perdigão J, Heymann HO, Swift EJ. 4-year wear and clinical performance of packable posterior composite. *J Dent Res* 2003;86 (Sp 1s A): (Abstr 0036).

Papers in the course of publication should only be entered in the references if they have been accepted for publication by a journal and then given in the standard manner in the text and in the list of references with the journal title, accompanied by "In press," *e.g.*:

3. Crim GA, Abbott LJ. Effect of curing time on marginal sealing by four dentin bonding agents. *Am J Dent*, In press.

Book and monograph references should include author, title, city, publisher, year of publication, and page numbers, *e.g.*:

4. Malone WFP, Koth DL. *Tylman's theory and practice of fixed prosthodontics*. St. Louis: Ishiyaku Euro-America, 1989; 110-123.

5. Ripa LW, Finn SB. The care of injuries to the anterior teeth of children. In: Finn SB. *Clinical pedodontics*. 4th ed, Philadelphia: WB Saunders, 1973; 125.

Personal communications should only appear in paren-theses in the text and not in the list of references.

ILLUSTRATIONS. Illustrations should be numbered, provided with suitable legends, and kept to the minimum essential for proper presentation of the results. Color illustrations will be published at the authors' expense. Contact the Managing Editor at (954) 888-9101 or amjdent@amjdent.com.

Legends are required for all illustrations and should be typed as a group on a separate page. For photomicrographs, legends must specify original magnification and stain (if used).

TABLES should be logically organized and should supplement the information provided in the text. Each table should be typed on a separate page with the number, title and footnotes. Tables should be kept to the minimum essential for proper presentation of the results.

Permissions from author and publisher must be obtained for the direct use of previously published material including text, photographs, drawings, etc. The original permission should be then included with the manuscript.

REPRINTS. For reprints contact the Business Office at (954) 888-9101 or amjdent@amjdent.com.

ADDRESS. All manuscripts should be sent to the Editor by e-mail only to: godoy@amjdent.com