

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
NÍVEL MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA
PERIODONTIA**

Dissertação

**SOLUÇÕES COLUTÓRIAS A BASE DE
CLOREXIDINA E ÓLEOS ESSENCIAIS EM
FORMULAÇÕES COM E SEM ÁLCOOL: UMA
ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E DE
PERCEPÇÃO GUSTATIVA**

RÔMULO CANTARELLI

Porto Alegre, julho de 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM CLÍNICA ODONTOLOGIA/PERIODONTIA

SOLUÇÕES COLUTÓRIAS A BASE DE CLOREXIDINA E ÓLEOS
ESSENCIAIS EM FORMULAÇÕES COM E SEM ÁLCOOL: UMA ANÁLISE
MICROBIOLÓGICA E DE PERCEPÇÃO GUSTATIVA

Rômulo Cantarelli

Dissertação apresentada como requisito obrigatório para obtenção do título de **Mestre em Odontologia** na área de concentração em Clínica Odontológica/Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Cassiano Kuchenbecker Rösing

CIP - Catalogação na Publicação

Cantarelli, Rômulo

SOLUÇÕES COLUTÓRIAS A BASE DE CLOREXIDINA E ÓLEOS
ESSENCIAIS EM FORMULAÇÕES COM E SEM ÁLCOOL: UMA
ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E DE PERCEPÇÃO GUSTATIVA /
Rômulo Cantarelli. -- 2015.

39 f.

Orientador: Cassiano Kuchenbecker Rösing.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia,
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Porto
Alegre, BR-RS, 2015.

1. óleos essenciais. 2. álcool. 3. clorexidina. 4.
ensaio clínico. 5. saliva. I. Rösing, Cassiano
Kuchenbecker, orient. II. Título.

RESUMO

Objetivo: O objetivo deste ensaio clínico duplo-cego randomizado e cruzado foi avaliar se a presença de álcool nas formulações de clorexidina e de óleos essenciais é capaz de influenciar significativamente a quantidade bacteriana em saliva, assim como verificar o impacto da presença do álcool sobre a percepção gustativa.

Materiais e métodos: 20 indivíduos, 17 mulheres e 3 homens, com idades variando entre 18 a 38 anos, em bom estado de saúde, foram randomizados para bochechar de forma cruzada, as seguintes substâncias: gluconato de clorexidina com álcool, gluconato de clorexidina sem álcool, óleos essenciais com álcool e óleos essenciais sem álcool. Amostras de saliva estimulada foram colhidas antes e depois de cada bochecho e preparadas em meio de cultura viável para um amplo espectro de bactérias. Os resultados obtidos foram expressos em percentual de redução de UFC/ml de saliva. Uma escala visual analógica (EVA) foi usada para avaliar a percepção gustativa após cada bochecho.

Resultados: Não foram observadas diferenças significativas sobre o percentual de redução de bactérias salivares em relação às soluções de clorexidina ($p = 0,55$), ou de óleos essenciais ($p = 0,85$). Já a preferência gustativa em relação aos óleos essenciais foi fortemente afetada pela presença de álcool ($p = 0,0001$), o que não ocorreu na comparação entre as soluções de clorexidina ($p = 0,052$).

Conclusão: a presença do álcool não interfere na eficácia antimicrobiana de colutórios a base de clorexidina ou óleos essenciais. A presença de álcool nos óleos essenciais é avaliada de forma mais negativa em termos de percepção gustativa

Palavras chave: bochechos, clorexidina, óleos essenciais, álcool, ensaio clínico, eficácia, saliva.

ABSTRACT

Objective: The objective of this randomized, double-blind crossover clinical trial was to evaluate the presence of alcohol in chlorhexidine and essential oils formulations is able to significantly influence the bacterial quantity in saliva, as well as to check the impact of the presence of alcohol on taste perception.

Methods: 20 subjects, 17 women and three men, aged between 18 and 38 years old, in good health, were randomized to rinse crosswise, the following substances: chlorhexidine gluconate with alcohol, chlorhexidine gluconate without alcohol, essential oils with alcohol and essential oils without alcohol. Stimulated saliva samples were collected before and after each rinse and prepared in the midst of viable culture for a broad spectrum of bacteria. The results were expressed as percent reduction of CFU/ml saliva. A visual analogue scale (VAS) was used to evaluate the taste perception after each rinse.

Results: No statistically significant differences were observed in bacterial reduction between the Chlorhexidine ($p = 0.55$), as well as for the essential oils ($p = 0.85$) formulations. However, the taste preference in relation to essential oils was strongly affected by the presence of alcohol ($p = 0.0001$), which did not occur in the comparison between the chlorhexidine solutions ($p = 0.052$).

Conclusion: The presence of alcohol does not interfere in the antimicrobial efficacy of chlorhexidine or essential oils. The presence of alcohol in the essences oils is evaluated more negatively in terms of taste perception.

Key-words: mouthwashes, chlorhexidine, essential oils, clinical trial, efficacy, alcohol, saliva.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente à Universidade Federal do Rio Grande do Sul e a todos seus funcionários e colaboradores, que fazem desta instituição uma referência no ensino, pesquisa e demais áreas em que atua, e um orgulho para mim.

Agradeço em especial ao Programa de Pós Graduação da Faculdade de Odontologia da UFRGS e a todos seus professores, que desenvolvem um trabalho sério e apaixonado. Ao longo desses dois anos, me senti contagiado por sua filosofia reflexiva, olhar crítico, seriedade e responsabilidade com que exercem seu papel de formação, pesquisa e inovação. Tornei-me um admirador deste trabalho.

Agradeço ao grupo da Periodontia - UFRGS, por toda camaradagem e aprendizado ao longo dos trabalhos executados. Tanto nos momentos de clínica quanto nos debates singulares dos seminários quinzenais. Ao meu orientador Cassiano, minha admiração e um muitíssimo obrigado por sua expertise e boa vontade, fazendo as coisas acontecerem e mostrando o norte nos momentos de dúvida. Ao professor Juliano Cavagni, agradeço por contribuir para um melhor acabamento desta dissertação.

Um agradecimento especial para todos os meus colegas de mestrado, que dividiram esta caminhada comigo, em especial a Andreas Rados, amigo desde os tempos de graduação, e, a Francisco Wilker Mustafa Gomes Muniz, sempre disposto a ajudar nos momentos de dúvida. Amigos de futuro brilhante. Dividir este caminho com vocês foi uma honra.

Agradeço aos graduandos Matheus Grunevald, Eduardo Liberato da Silva e Tiago Herpich, que participaram da coleta de dados para o presente estudo. Sem vocês tudo teria sido mais difícil. Um agradecimento especial ao doutorando Harry Rivera, pela disposição na coleta de dados, presteza e amizade neste período pós-coleta, especialmente na análise. Foste fundamental.

Agradeço a todo grupo do Laboratório de Bioquímica e Microbiologia Bucais da Faculdade de Odontologia da UFRGS, que me acolheram numa “imersão” microbiológica, onde convivi com todos num período bastante intenso de trabalho. Luisa Mercado, Rodrigo Arthur e Thais Negrini, vocês foram especiais. Fizeram toda a diferença nesta etapa, me ensinando, orientando e auxiliando quando precisei. Um forte abraço a vocês.

Agradeço aos pacientes que se dispuseram a participar. Sem sua boa vontade, não teríamos chegado aqui.

Minha família, minha base... Rovani, pai querido e incentivador, um exemplo. Jane, mãe amorosa e doce. Adriana, madrastra amiga e companheira. Karen, irmã amada e fonte de inspiração. Um muito obrigado a vocês. Amo a cada um de modo singular, e agradeço pelo simples fato de fazerem parte da minha vida. Nenhuma ressalva maior é necessária perante o amor sincero e verdadeiro de pessoas que se ajudam e se protegem, estando perto ou longe. Esse é o real sentido da família. Vocês me ensinaram.

Finalmente, agradeço a ti, Mary Kroeff, minha mulher, amante e amiga. Você que divide o passar dos dias comigo, me incentiva e me dá forças. Todos os momentos são melhores ao teu lado. Te amo.

Além de tudo isso, um agradecimento para todos aqueles amigos, colegas e parentes que não foram citados, mas que de alguma forma passaram, ou passam por minha vida, contribuindo para que eu tenha bons dias e siga em frente com um sorriso no rosto.

Sumário

ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA	8
OBJETIVO.....	15
METODOLOGIA	16
<i>Descrição da Amostra</i>	16
<i>Elegibilidade</i>	16
Critérios de Inclusão.....	16
Critérios de Exclusão:	16
<i>Desenho experimental</i>	17
<i>Desenvolvimento da pesquisa</i>	17
<i>Processamento de amostras e avaliação microbiológica</i>	19
<i>Análise estatística</i>	20
RESULTADOS.....	22
DISCUSSÃO.....	24
CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	30
ANEXO A.....	33
ANEXO B	37

ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA

Estratégias do cuidado à saúde, de uma forma geral, baseiam-se fortemente em prevenção e manutenção. Esta lógica permeia desde o planejamento em políticas e medidas em âmbito populacional até a prática clínica do manejo das mais diversas afecções em saúde. Medidas visando prevenção e manutenção, de modo geral, envolvem menor morbidade, transtornos e custos. Esta lógica também se aplica à saúde bucal.

Doenças periodontais (gingivite e periodontite) e doença cárie são as mais prevalentes na cavidade oral (Haas *et al.*, 2015), sendo consenso o papel etiológico atribuído aos biofilmes dentários no desenvolvimento destas doenças. Da mesma forma, está bastante sedimentado na literatura que o controle adequado destes biofilmes, especialmente do biofilme supragengival evita o desencadeamento destes processos na grande maioria dos casos, bem como provê manutenção da saúde dental e gengival após seus tratamentos, sendo fortemente recomendado por inúmeros autores (Haas *et al.*, 2012; Chapple *et al.*, 2015). Assim, esforços empregados em desenvolver, avaliar e melhorar os materiais e técnicas associados ao controle de placa são extremamente importantes e altamente justificáveis.

A forma mais executada de controle de placa pelos povos ocidentais é a escovação mecânica das superfícies dentais, associada a dentifrícios. Esta promove a desorganização da placa e impede que se desencadeiem processos patológicos, haja vista que a patogenicidade da comunidade bacteriana depende do nível de sua organização (Susin *et al.*, 2004).

Outro instrumento importante para a manutenção da saúde bucal é o fio dental, que garante uma correta limpeza das faces interproximais dos dentes, as quais dificilmente são adequadamente higienizadas apenas com a escovação (Oppermann *et al.*, 2010). Em diversas situações, que variam desde incapacidade motora, falta de motivação, estágios pós-cirúrgicos e uso de dispositivos ortodônticos, este controle acontece de forma insatisfatória. Muitos estudos falharam em comprovar a eficácia do fio dental. Em revisão sistemática recente Salzer *et al.*, 2015, indicam uma pequena magnitude de efeito do seu uso. Neste ponto, torna-se importante a associação de métodos adjuntos que viabilizem um melhor controle de placa, dentre os quais se incluem as soluções colutórias.

Soluções colutórias a base de clorexidina e óleos essenciais possuem ampla documentação e resultados positivos quanto a controle de placa e desfechos inflamatórios das gengivas (Van Leeuwen, Slot e Van der Weijden, 2011; Stoeken, Paraskevas e van der

Weijden, 2007). A clorexidina é o composto ativo mais eficiente quando em formulações para bochechos, avaliando-se desfechos de redução de placa, gengivite e microrganismos viáveis em saliva. (Addy e Moran, 1997; Erriu *et al.*, 2013; Ajay Rao *et al.*, 2014). Entretanto, seu uso contínuo, especialmente por longos períodos, causa manchamento e alteração do paladar como efeitos adversos. Assim, sua indicação é limitada para o uso prolongado (Ros-Llor e Lopez-Jornet, 2014).

Os óleos essenciais são compostos fenólicos que apresentam amplo espectro de atuação e têm sido documentados na literatura como sendo efetivos como coadjuvantes ao controle mecânico do biofilme tanto em desfechos relacionados a placa quanta a gengivite. Poucos efeitos adversos são citados na literatura, merecendo destaque o gosto forte e a sensação de queimação, provavelmente associados à presença de álcool. (Gunsolley, 2006).

Tanto clorexidina quanto óleos essenciais, tradicionalmente apresentam álcool em sua composição. O álcool é comumente utilizado em diversos colutórios como um solvente para as demais substâncias e como um prolongador do prazo de validade do produto (Eley, 1999). Contudo, o álcool é o responsável por proporcionar um sabor forte e, muitas vezes, desagradável para alguns pacientes e consumidores. Como uma tentativa de solucionar essa problemática, a indústria lançou alguns produtos sem a adição de álcool. Porém, a literatura ainda é bastante escassa em estudos que comparem o efeito de colutórios em formulações com e sem álcool. Além disso, não há estudos que avaliem a influência do álcool na escolha por um antisséptico bucal. Neste contexto, é importante que se estude de forma aprofundada a literatura, com vistas a verificar eventuais lacunas existentes, procurando contribuir para a construção do conhecimento na temática.

Óleos essenciais e clorexidina promovem inicialmente uma ação bactericida, e após, bacteriostática (Addy, 1986). Essas substâncias causam o rompimento da parede celular bacteriana e a inibição de seu sistema enzimático, afetando a formação do biofilme dental (de Freitas *et al.*, 2003). Tanto clorexidina quanto óleos essenciais possuem um longo histórico de uso e indicações, com vasto material bibliográfico. Gunsolley, 2006, em uma revisão sistemática com metanálise sobre agentes antimicrobianos, em estudos com pelo menos seis meses de acompanhamento, suportou os efeitos antiplaca e antigengivite de óleos essenciais e clorexidina.

Em inquérito realizado, Cantarelli *et al.*, 2011 constataram que preço e sabor são fatores que influenciam fortemente a escolha na hora da compra. Assim, as formulações contendo álcool poderiam ser negativamente avaliadas, tendo em vista o sabor forte.

Atualmente, a indústria trouxe ao mercado formulações sem álcool, que diferem das tradicionais. Isso se deve tanto a uma demanda mercadológica daqueles consumidores que não se sentem confortáveis com o forte sabor atribuído ao álcool, quanto a uma preocupação de parte da comunidade científica com uma possível relação das formulações alcoólicas com afecções bucais, tais como câncer de boca. A primeira destas justificativas tem suporte, uma vez que o sabor é importante. Entretanto, até o momento, não existem estudos que tenham demonstrado que o álcool contido nas soluções colutórias faz parte da cadeia causal do câncer de boca (Lemos e Villoria, 2008; Cole, Rodu e Mathisen, 2003).

A clorexidina é um antisséptico do grupo das bisguanidas e é considerada a mais eficaz no controle de placa e prevenção de gengivite, sendo o que se tem de mais próximo de um substitutivo ao controle mecânico. Pode apresentar ação bactericida ou bacteriostática, a depender de sua concentração. Exerce ação mais potente contra microrganismos Gram-positivos que Gram-negativos. Esta superioridade da clorexidina em relação a outros antissépticos é atribuída à sua substantividade, ou seja, a capacidade de se manter ativa por mais tempo na cavidade oral. (Addy 1986).

Por esta razão, Addy e Moran, 1997, em sua revisão, indicam o uso da clorexidina para situações onde o controle de placa se mostra deficiente ou impraticável. Por exemplo: pacientes em pós-operatório da cavidade oral, pacientes ortodônticos, pacientes que sofrem de aftas menores recorrentes, hospitalizados, imunocomprometidos ou idosos institucionalizados. Apontam-na também como adjuvante nas fases de manutenção de pacientes em tratamento periodontal, halitose ou com alto risco de cárie. Salientam ser possível seu uso na forma de sprays, géis, gomas de mascar ou dentifrícios, em alternativa ao tradicional bochecho. Destacam que salvo os casos em que o controle mecânico é impraticável, este deve ser o principal método, sendo o bochecho a base de clorexidina um auxiliar por curto ou médio prazo, devido a seus já citados efeitos adversos.

Ennibi *et al.*, 2013, testaram em um ensaio clínico randomizado duplo cego, a eficácia do controle de placa de duas soluções e um controle negativo: clorexidina 0,12% com álcool e outra a base de formaldeído com 0,1 % de clorexidina. Sua amostra foi de 30 participantes em um modelo experimental onde os indivíduos se abstinham de qualquer método de controle de

placa que não os bochechos ao longo de 7 dias. Seus resultados apontaram uma diferença estatisticamente significativa para o grupo que usou clorexidina com álcool.

Propondo-se a avaliar bochechos como alternativas ao fio dental para limpeza interproximal, Zimmer *et al.*, 2006, através um índice modificado de placa interproximal, testaram os seguintes tratamentos em 156 voluntários divididos em 4 grupos: escovação e bochecho com 0,06% de clorexidina e 0,025% de flúor; escovação e bochecho com 0,1% de cloreto de cetilpiridíneo e 0,025% de flúor; escovação e fio; e escovação apenas. Ao final de oito semanas, todos os grupos apresentaram redução nos índices avaliados, com diferença estatisticamente significativa para os grupos com bochechos, sugerindo que a adoção diária destes, junto à escovação tradicional, pode prover maior controle de placa interproximal que o uso de fio dental.

O efeito antiplaca e antimicrobiano da clorexidina, e a superioridade no quesito de sua efetividade atribuído à sua substantividade quando comparado aos demais agentes antimicrobianos conferiu à clorexidina especial atenção em estudos voltados ao controle de infecção nosocomial em UTIs. A teoria é que patógenos das vias aéreas são capazes de se alojar na cavidade oral, junto aos biofilmes bucais, aumentando assim as incidências de pneumonia em pacientes internados, em especial os entubados por mais de 48 horas. Scannapieco *et al.*, 2009, objetivou avaliar a frequência necessária do uso de clorexidina 0,12% na descontaminação oral de pacientes entubados em uma UTI dos EUA, avaliando desfechos microbiológicos e clínicos, como desenvolvimento de pneumonia. Os pacientes foram randomizados para grupos que recebiam higiene por parte das enfermeiras com uma solução de clorexidina 0,12% com álcool uma vez ao dia, clorexidina 0,12% com álcool 2 vezes ao dia, placebo e clorexidina 0,12% uma vez cada ao dia e placebo 2 vezes ao dia. O número de participantes foi 175. Os autores citam que alguns estudos prévios apontam para uma diminuição de desfechos de pneumonia em pacientes entubados com regimes diários de clorexidina para limpeza da cavidade bucal, mas que há também estudos que não apontam diferença entre seu uso e o uso de um placebo. Neste estudo foi relatado diminuição de *Staphylococcus aureus*, porém, não houve diminuição do número de casos de pneumonia quando comparado ao placebo. Segundo Vilela *et al.*, 2015, em uma revisão sistemática do tema, há uma grande heterogeneidade nestes estudos, com resultados bastantes variáveis atribuído à inúmeros prováveis vieses.

A formulação clássica dos Óleos Essenciais é composta por dois óleos essenciais fenólicos relacionados: timol 0,064% e eucaliptol 0,092%, misturados com mentol 0,042% e

metil salicilato 0,06%, em um veículo hidroalcoólico a 22%. É uma das fórmulas mais tradicionais dentre este tipo de produto, e é usado por milhões de pessoas mundo afora. Possui um complexo mecanismo de ação contra bactérias, a depender de sua concentração. Quando altas, age na lise da parede bacteriana e precipitação de suas proteínas. Em baixas concentrações, age inativando enzimas essenciais para a vida da bactéria. (Stoeken, Paraskevas e van der Weijden, 2007). Nesta revisão sistemática de estudos de longo prazo sobre os óleos essenciais utilizados regularmente e de forma conjunta com escovação, os autores, avaliaram como desfecho principal a gengivite e como desfecho secundário o acúmulo de placa. Concluíram que este produto traz benefício adicional quando usado de forma adjunta ao controle mecânico não supervisionado.

Em outra revisão sistemática Van Leeuwen, Slot e Van der Weijden, 2011, comparando Óleos Essenciais em fórmula padrão e Clorexidina, em estudos com pelo menos 6 meses de acompanhamento, indicou superioridade antiplaca da clorexidina. No quesito de inflamação gengival, ambas as substâncias apresentam bons resultados, reforçando a indicação dos óleos essenciais para uso diário, por apresentar menores efeitos adversos que a clorexidina. Este estudo destaca e atribui melhores resultados no controle de placa a clorexidina por conta de sua substantividade, comprovada por estudos *ex vivo* (Addy e Llewelyn, 1978; Schiott *et al.*, 1970), que apontam queda na contagem microbiana em saliva para 10 a 20% após doses únicas de bochechos, mantendo-se nestes níveis por intervalos de 7 a 12 horas.

Carretero Pelaez *et al.*, 2004, em uma revisão de literatura, questionam a relação do álcool presente em colutórios bucais e o câncer de boca. Baseiam-se no argumento de que alguns produtos disponíveis no mercado possuem altas concentrações de álcool, e, pela forma como são usados, ficando mais tempo em contato com a mucosa oral do que durante a ingestão de bebidas alcoólicas, podem ter efeitos nocivos, especialmente nos indivíduos fumantes. Destacam também, que apesar de haver comprovação de que o álcool presente nos colutórios pode causar lesões hiperqueratósicas tanto em homens quanto em modelos animais, a evidência para se estabelecer uma relação causal deste com o câncer de boca é fraca, bem como é questionável uma maior eficácia antiplaca do produto por conta da presença do álcool.

Estudos relacionam o consumo do álcool com outras doenças da cavidade bucal, como periodontite (Amaral Cda, Vettore e Leao, 2009) e inúmeros tipos de câncer (Bagnardi *et al.*, 2015). Entretanto, os mesmos estudos indicam uma relação dose-resposta para esta interação.

Em um estudo *in vitro*, Sissons, Wong e Cutress, 1996, os autores concluíram que, a despeito da conhecida sensibilidade de bactérias planctônicas ao álcool, é necessária prolongada aplicação e concentrações acima de 40% para inibirmos a formação de placa, inviabilizando seu uso com finalidade antimicrobiana nos colutórios. Na concentração de 10 a 20%, há um efeito conservante. Em concentrações até 5%, comumente encontradas em compostos a base de clorexidina, o álcool aumentaria sua efetividade pela estabilização da mistura e redução do risco de contaminação do produto.

Em um estudo comparando clorexidina com álcool e sem álcool, foi identificada superioridade de ambas em relação ao placebo, entretanto sem diferença estatisticamente significativa entre elas. O desfecho avaliado foi acúmulo de placa e inflamação gengival, em 30 pacientes com gengivite. Os autores concluíram que clorexidina sem álcool apresenta efetividade clínica e que pode ser indicada para aqueles que apresentem alguma restrição ao álcool. (Todkar *et al.*, 2012)

Abouassi *et al.*, 2014, em um estudo *in vitro*, com desfecho de contagem microbiana, avaliou se a presença de saliva seria capaz de alterar a eficácia da clorexidina. Os autores dividiram em 4 cada amostra de saliva estimulada colhida em 20 participantes. Centrifugaram estas amostras e separaram as bactérias sobrenadantes, as quais foram submetidas a contato com os quatro seguintes testes: clorexidina em saliva sem álcool, clorexidina em saliva e 7% de álcool, clorexidina em solução salina sem álcool e clorexidina em solução salina com 7% de álcool. Algumas amostras permaneceram ativas por 1 e outras por 3 minutos. Após isto a clorexidina foi neutralizada, e as amostras incubadas. Os resultados apontaram diferença pequena, porém, estatisticamente significativa, indicando que a presença de saliva é capaz de interferir na ação da clorexidina, mantendo uma maior viabilidade bacteriana. Os autores relataram que as amostras de clorexidina com saliva e 7% de etanol não apresentaram este problema, bem como aquelas que tiveram tempo de ação antes da neutralização da clorexidina de 3 minutos.

A sensação de “boca seca” após uso de bochechos, em especial os com álcool, também é relatada na literatura (Kerr *et al.*, 2015). Em estudo de 3 meses de duração, 120 participantes saudáveis, sem história de baixo fluxo salivar ou xerostomia, foram divididos em 2 grupos. Um manteve regimes de bochecho com óleos essenciais com álcool e outro com um bochecho sem álcool disponível no mercado americano. Ao final dos 3 meses avaliou-se fluxo salivar e sensação de boca seca. Não houve diferença estatisticamente significativa entre o baseline e o fim do estudo em relação a esses desfechos, bem como entre os grupos.

Em estudo comparando clorexidina com álcool e um produto herbal, Botelho *et al.*, 2009 constataram desfechos positivos para clorexidina tanto nos parâmetros clínicos avaliados quanto na diminuição de unidades formadoras de colônia de *Streptococcus mutans* coletados em saliva. Os autores também reportaram como efeitos adversos mais comuns ao uso da clorexidina a queimação e perda do paladar, relatados por 9 indivíduos de sua amostra, que era composta por 55 voluntários. O estudo teve sete dias de duração.

No intuito de testar diferenças entre bochechos de óleos essenciais com e sem álcool, Marchetti *et al.*, 2011 demonstraram em um modelo de 3 dias de acúmulo de placa, que o colutório de óleos essenciais sem álcool inibiu menos a formação de biofilme que a solução tradicional.

Em recente revisão sistemática da literatura Van Leeuwen, Slot e Van der Weijden, 2014, avaliaram biofilme supragengival e inflamação gengival, comparando óleos essenciais em fórmula padrão com álcool com um veículo alcoólico, ou aquoso. Essa revisão constatou que soluções de óleos essenciais proporcionaram maiores reduções de placa e de inflamação gengival que os veículos alcoólicos. Além disso, os controles alcoólicos não apresentaram diferenças estatísticas quando comparadas aos controles aquosos.

Pôde-se observar na literatura que a temática do uso de álcool nos colutórios ainda é contraditória e passível de pesquisas, tanto no que se refere aos efeitos antimicrobianos *in vitro* quanto à efetividade clínica. Outra lacuna a ser explorada remete aos movimentos anti-uso do álcool, tanto por seus potenciais efeitos adversos quanto pela percepção gustativa atribuída a sua presença. Ademais, de acordo com uma corrente de opiniões, o álcool deve ser banido da composição de bochechos, especialmente para crianças e adolescentes, que poderiam desenvolver gosto pelo uso da substância. Nesse sentido, há um movimento da indústria para a eliminação do álcool dos colutórios, que demanda ser criticamente avaliado, no sentido de que se minimizem eventuais perdas de qualidade dos efeitos. Isto justifica a realização do presente estudo.

OBJETIVO

O objetivo deste estudo é avaliar se a presença de álcool nas formulações de clorexidina e de óleos essenciais é capaz de influenciar significativamente a quantidade bacteriana em saliva, assim como verificar o impacto da presença do álcool sobre a percepção gustativa.

METODOLOGIA

Descrição da Amostra

A amostragem do presente estudo se deu por conveniência, sendo composta por 20 participantes (17 mulheres e 3 homens, todos em bom estado de saúde, com idade variando de 18 a 38 anos), sendo eles pacientes e alunos das clínicas da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, em Porto Alegre, Brasil. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS. (ANEXO A)

Elegibilidade

A elegibilidade para o estudo foi avaliada através de uma entrevista prévia simplificada. Aqueles que perfizeram os critérios foram convidados a participar, mediante assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO B).

Critérios de Inclusão

Os seguintes critérios de inclusão foram adotados:

- idade entre 18 e 40 anos;
- presença de pelo menos 24 dentes em boca;
- não fumantes.

Critérios de Exclusão:

Os critérios de exclusão foram os seguintes:

- presença ou história de periodontite (pelo menos 1 sítio com profundidade de sondagem >3mm e perda de inserção >2mm);
- gestantes;
- lactantes;
- usuários de próteses dentárias tipo ponte fixa, prótese removível, dispositivos ortodônticos;
- indivíduos etilistas ou abstêmios de álcool;
- aqueles que fizeram uso de antibióticos sistêmicos pelo menos três meses previamente à realização do estudo.

Dos 24 participantes que foram recrutados e entrevistados, 4 não foram incluídos. As razões para não inclusão foram: um candidato apresentou sinais de periodontite e três haviam feito uso prévio de antibióticos sistêmicos. A Figura 1 demonstra o fluxograma de recrutamento do estudo, até a sua análise final.

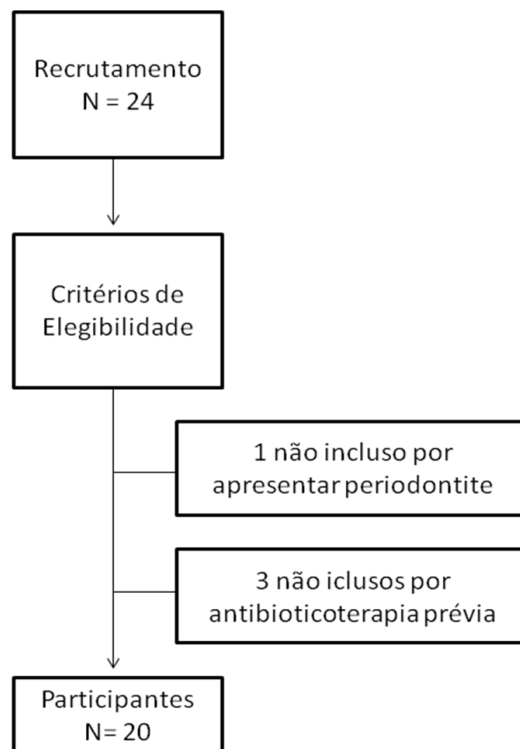


Figura 1: Fluxograma da seleção de participantes para o estudo

Desenho experimental

Um desenho experimental do tipo ensaio clínico randomizado de eficácia, cruzado e duplo cego foi adotado. Todos os participantes utilizaram todas as substâncias experimentais, com um período de washout de no mínimo 7 dias entre os momentos experimentais.

Desenvolvimento da pesquisa

Os seguintes colutórios foram avaliados:

- 1- Gluconato de clorexidina 0,12% em solução alcoólica (Periogard, Colgate).
- 2- Gluconato de clorexidina 0,12% em solução aquosa (Periogard, Colgate).
- 3- Óleos essenciais em solução alcoólica (Listerine, Johnson & Johnsons).
- 4- Óleos essenciais em solução aquosa (Listerine Zero, Johnson & Johnsons).

Os colutórios testados foram acondicionados em frascos opacos na dosagem recomendada e codificados segundo randomização realizada a partir de tabela de números aleatórios gerada por computador. Um pesquisador externo aos procedimentos experimentais foi responsável pela geração e guarda da sequência de números aleatórios para garantir o cegamento.

Os indivíduos envolvidos na pesquisa foram orientados a não beber, comer ou realizar métodos químicos ou mecânicos de controle do biofilme por pelo menos 1 hora antes da coleta de saliva estimulada.

As coletas ocorreram nas clínicas odontológicas da Faculdade de Odontologia da UFRGS.

Primeiramente era fornecida cera parafínica inerte, a qual foi mastigada por 1 minuto pelos participantes, a fim de acostumarem-se com a estimulação salivar. Na sequência, sem dispensar a cera, saliva estimulada foi coletada em frascos estéreis ao longo de 5 minutos. Esta primeira amostra constituiu o baseline.

Em seguida, os participantes receberam a substância experimental designada para o momento, a qual era bochechada por 1 minuto. Imediatamente após dispensar a substância, era entregue ao paciente uma Escala Visual Analógica (EVA), para que ele assinalasse um ponto sobre uma linha reta de 10 centímetros (quanto mais à esquerda ele assinalasse, mais próximo do “pior gosto possível” e quanto mais a direita, mais próximo do “melhor gosto possível”). Essa análise objetivou aferir sua percepção gustativa em relação ao colutório bochechado. Após isto, eram aguardados 5 minutos, e então se repetia o procedimento para coleta de saliva estimulada, que veio a constituir a amostra final.

A Figura 2 demonstra o Fluxograma do experimento.

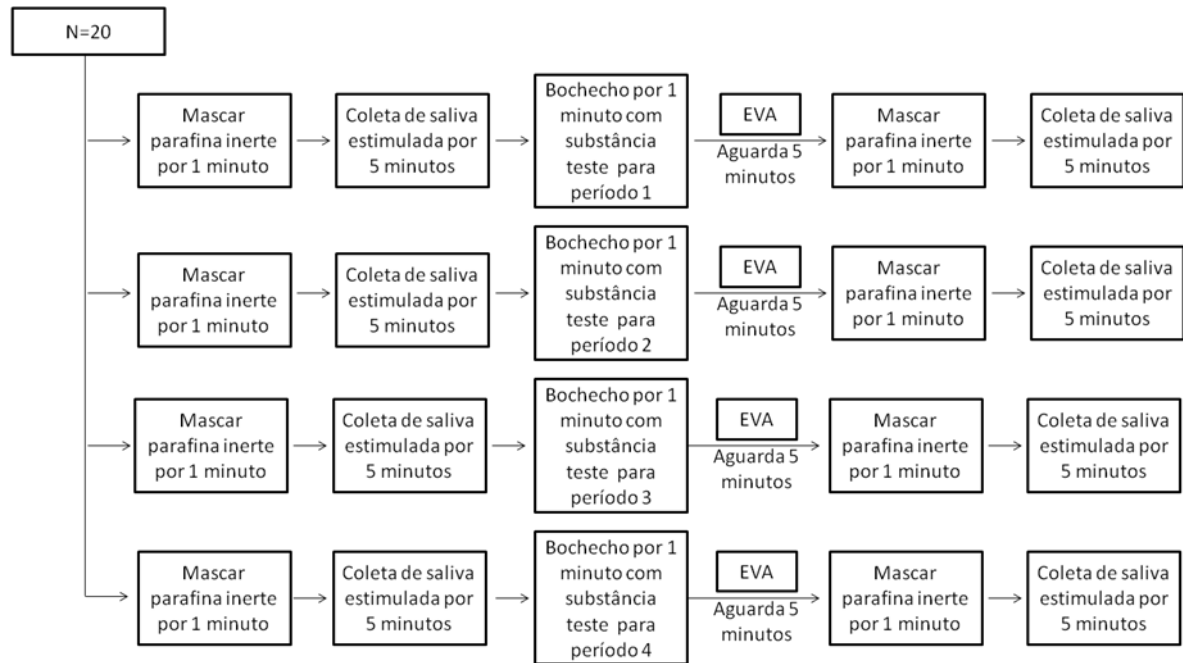


Figura 2: Fluxograma experimental. Todos os participantes testaram todas as substâncias.

Processamento de amostras e avaliação microbiológica

O pesquisador responsável pelo processamento das amostras microbiológicas permaneceu cego para as soluções experimentais. Os frascos contendo as amostras de saliva eram mantidos em gelo e processados em até 2 horas após a coleta. A análise microbiológica se deu no Laboratório de Bioquímica e Microbiologia Bucais da Faculdade de Odontologia da UFRGS.

O processamento foi realizado em bancada com fluxo de ar, pós-descontaminação através de álcool 70% e 15 minutos de radiação ultravioleta para evitar contaminação das amostras.

Cada amostra foi processada a partir da técnica de diluição seriada, onde 0,1 ml de saliva eram pipetados, com o uso de ponteiros estéreis, em um tubo Eppendorf estéril contendo 0,9 ml de solução salina estéril a 1,6%. Deste preparo, era novamente coletado 0,1 ml, e pipetado em outros 0,9 ml de solução salina estéril, e assim sucessivamente até serem obtidas 8 amostras, diluídas decimalmente uma após a outra.

Das diluições seriadas eram então pipetados 0,25 ml em amostras dobradas, sobre ágar sangue, um meio de cultura altamente nutritivo e não específico, que viabiliza o desenvolvimento de um amplo espectro de microrganismos aeróbios. Estas placas eram incubadas em estufa a 37°C por 48 horas. Após isto, procedia-se a quantificação de unidades

formadoras de colônia (UFC) com o auxílio de um estereomicroscópio. Após a contagem, os valores foram transformados em UFC/ml de saliva, através da seguinte fórmula.

$$(\text{ufc} \times 100/25) \times 10^f = \text{UFC/ml de saliva}$$

ufc = número de unidades formadoras de colônia contabilizados na placa

f = fator de diluição em que foram contabilizadas as unidades formadoras de colônia

UFC = número de unidades formadoras de colônia por ml de saliva após transformação

A Figura 4 exemplifica a relação da diluição com o resultado microbiológico após a incubação.

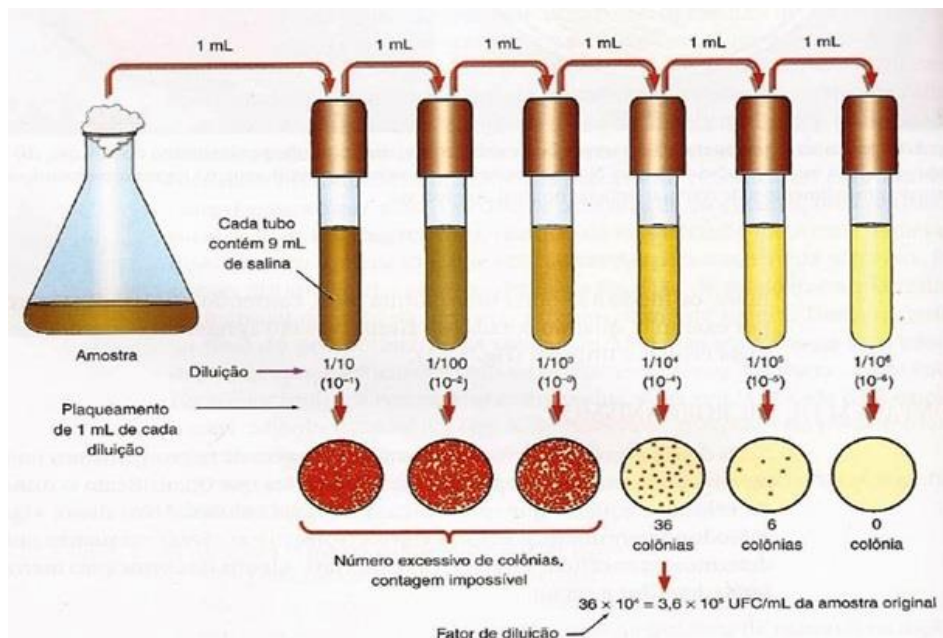


Figura 4: Ilustração da diluição seriada e plaqueamento. Fonte: http://fitopatologia1.blogspot.com.br/2013_06_01_archive.html

Análise estatística

Dois desfechos primários foram avaliados: contagem bacteriana e percepção gustativa através da Escala Visual Analógica (EVA). Ambos os desfechos foram testados para normalidade e uma distribuição assimétrica foi detectada. Os resultados descritivos para a contagem microbiana foram expressos através de mediana, valores mínimo e máximo e percentis 25 e 75. Os dados de EVA foram expressos através de médias e desvios-padrão. As comparações foram efetuadas entre as soluções de clorexidina e óleos essenciais, em função da presença do álcool. Não foram comparadas clorexidina e óleos essenciais entre si. Para as

comparações entre soluções alcoólicas e não alcoólicas, utilizou-se o teste de Wilcoxon, assumindo-se $p < 0,05$ como diferença estatisticamente significativa.

RESULTADOS

Todos os participantes que iniciaram o experimento passaram por todas as fases, gerando adesão de 100% ao estudo.

As tabelas 1 e 2 descrevem os resultados de redução de quantidade de unidades formadoras de colônia na saliva, após bochechos com clorexidina e óleos essenciais, com e sem álcool. Observa-se que para as duas substâncias, a presença do álcool não interferiu no percentual de redução a ponto de serem detectadas diferenças estatisticamente significativas. É importante destacar a extrema variabilidade nos resultados. A análise dos percentis 25 aponta para um efeito mais consistente da clorexidina com álcool em relação à clorexidina sem álcool (Tabela 1). Essa situação não é tão definida para os óleos essenciais, embora o percentil 25 também apresente diferenças numéricas amplas, entretanto, no sentido oposto da situação da clorexidina (Tabela 2).

Tabela 1 – Mediana, percentil 25, percentil 75, valores mínimo e máximo do percentual de redução de unidades formadoras de colônia (aeróbios totais) na saliva após bochechos de solução de clorexidina 0,12% com e sem álcool.

Tratamento	Mediana	Mínimo	Máximo	Percentil 25	Percentil 75	p*
Clorexidina com álcool	94,04	-61,29	99,90	81,89	99,01	0,55
Clorexidina sem álcool	90,07	-41,13	99,50	2,23	98,08	

*Teste de Wilcoxon

Tabela 2 – Mediana, percentil 25, percentil 75, valores mínimo e máximo do percentual de redução de unidades formadoras de colônia (aeróbios totais) na saliva após bochechos de solução óleos essenciais com e sem álcool.

Tratamento	Mediana	Mínimo	Máximo	Percentil 25	Percentil 75	p*
Óleos Essenciais com álcool	90,07	-41,13	99,50	2,23	98,08	0,85
Óleos Essenciais sem álcool	87,65	-10,29	99,31	21,47	95,16	

*Teste de Wilcoxon

A avaliação da percepção gustativa foi realizada através da marcação em escala visual analógica. As Tabelas 3 e 4 demonstram as médias e desvios-padrão dessas mensurações. Observa-se uma diferença estatisticamente significativa na percepção gustativa dos óleos essenciais em função da presença do álcool, sendo que esta composição é avaliada como menos agradável em termos de gosto (Tabela 4). Na comparação entre clorexidina com e sem álcool, não houve diferença estatisticamente significativa (Tabela 3).

Tabela 3 – Avaliação da percepção gustativa (média de escala visual analógica) após bochechos de solução de clorexidina com e sem álcool.

Tratamento	Média	Desvio Padrão	p*
Clorexidina com álcool	4.39	2.2	0.052
Clorexidina sem álcool	5.55	2.94	

*Teste de Wilcoxon

Tabela 4 – Avaliação da percepção gustativa (média de escala visual analógica) após bochechos de solução de óleos essenciais com e sem álcool.

Tratamento	Média	Desvio Padrão	p*
Óleos Essenciais com álcool	3.10	2.58	0.001
Óleos Essenciais sem álcool	6.55	2.62	

*Teste de Wilcoxon

DISCUSSÃO

O presente estudo objetivou avaliar o impacto da presença de álcool em soluções colutórias a base de clorexidina e de óleos essenciais sobre bactérias salivares e sobre a percepção gustativa dos usuários. Verificou-se que não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os colutórios com e sem álcool no que se refere a percentual de redução de bactérias salivares, independentemente da substância. Em relação à percepção gustativa, os indivíduos participantes demonstraram menor satisfação com o gosto dos óleos essenciais com álcool em comparação à substância sem álcool. Essa diferença não foi observada em relação à clorexidina.

Para responder à pergunta de pesquisa em tela, desenhou-se um ensaio clínico randomizado de eficácia. O referido ensaio contou como grupos experimentais soluções comercialmente disponíveis de óleos essenciais e clorexidina com e sem álcool. O desenho duplo-cego, com delineamento cruzado objetivou que não houvesse interferência do conhecimento sobre as soluções em teste, assim como objetivou que a avaliação fosse realizada nos mesmos indivíduos, minimizando a variabilidade entre pessoas, típica de desenhos em paralelo. Ademais, a ordem de utilização foi randomicamente determinada, tentando evitar que adaptações acontecessem, especialmente em relação à percepção gustativa, em função do tempo de experimento. Assim, todas as substâncias foram alocadas em todas as posições do desenvolvimento experimental. Além disso, essa estratégia permite que não se tenha, no mesmo dia, todo um grupo sendo testado, o que, frente a qualquer viés fora de controle poderia afetar negativamente os resultados. Nesse sentido, a chance de erro sistemático afetar os resultados fica minimizada (Rosing e Susin, 1999).

O presente estudo contou com indivíduos jovens que aceitaram participar do estudo. Trataram-se de pacientes e alunos da Faculdade de Odontologia da UFRGS. Estudos com voluntários membros da comunidade acadêmica podem ser sujeitos a vieses, tendo em vista seu conhecimento e atitudes. No caso específico do presente estudo, como a análise é de eficácia, provavelmente não houve interferência dessa situação. Da mesma forma, o desenho cruzado, em que todos os participantes são expostos a todos os grupos em teste, minimiza essa questão. A análise do presente estudo conta com 20 voluntários, o que pode parecer um número insuficiente. Entretanto, estudos com agentes para controle químico do biofilme têm-

se valido de números semelhantes (Sennhenn-Kirchner *et al.*, 2009; Marchetti *et al.*, 2011). Um ponto importante a ser ressaltado é que não houve perdas de indivíduos no presente estudo. Também é importante destacar que, conforme esperado pelo tipo de desenho e substâncias em teste, não ocorreram efeitos adversos.

É importante ressaltar que a análise realizada pelo presente estudo faz comparações individualizadas por tipo de agente. Não é objetivo desta pesquisa comparar clorexidina com óleos essenciais, uma vez que a literatura em relação a este tema já é ampla e infere que são substâncias com objetivos diversos. A primeira tem objetivo de substituir, quando necessário, medidas de controle mecânico e a segunda é tradicionalmente veiculada como um coadjuvante ao mesmo (Van Leeuwen, Slot e Van der Weijden, 2011). Revisões sistemáticas da literatura têm demonstrado essa questão, principalmente no que se refere a utilizações em longo prazo. Sabe-se que em prazos mais extensos, a clorexidina tende a apresentar um espectro maior de efeitos adversos, o que, muitas vezes, limita sua indicação para essas finalidades.

Estudos de eficácia de agentes químicos para controle de placa têm sido realizados na literatura há muitos anos. Um dos clássicos nessa questão foi publicado por Gjermo, Baastad e Rolla, 1970, que demonstrou eficácia antimicrobiana de 11 compostos, dentre os quais sais de clorexidina e compostos quaternários de amônia. Uma das questões importantes relatadas nesse clássico é que a capacidade antibacteriana *in vitro* é somente uma parte da efetividade clínica. Assim, estudos de efetividade demandam uso em períodos mais longos. Essa é uma possível limitação de translação dos resultados deste estudo, entretanto faz parte da trajetória de determinação de efetividade. Os resultados obtidos em períodos curtos (eficácia) como no presente estudo podem ser somente transportados para utilizações semelhantes como, por exemplo, para bochechos pré-procedimento (Feres *et al.*, 2010).

A opção por realização de teste de efeito antimicrobiano no presente estudo, valendo-se de contagem de aeróbios totais na saliva baseia-se na suspeição de que o álcool sabidamente tem potencial antimicrobiano (Sissons, Wong e Cutress, 1996). Nesse sentido, os efeitos das soluções de clorexidina ou de óleos essenciais poderiam ser potencializados pelo álcool, mudando o efetivo mecanismo de ação.

O presente estudo analisou as quantidades de microrganismos totais na saliva antes e após a utilização dos colutórios. Este modelo *ex-vivo* permite verificar os efeitos antimicrobianos imediatos, que são de interesse inicial. Outras formas de análise podem

incluir análises de outros tipos bacterianos, variando tempos experimentais, incluindo resultados clínicos, inclusive avaliando desfechos inovadores como a presença de zona livre de placa (Maliska *et al.*, 2006). Todas essas formas de análise são complementares e dão suporte para a interpretação do potencial clínico.

É importante ressaltar que análises microbiológicas, em geral, apresentam extremas variações intra e interindividuais. Por essa razão, em muitos estudos é realizada a transformação dos dados como, por exemplo, uso da transformação logarítmica para permitir análise mais adequada. Neste estudo, optou-se para minimizar a variabilidade através da utilização do percentual de redução de bactérias. Mesmo assim, como demonstrado nos resultados, a variabilidade é ampla. Pode parecer estranho, mas nos resultados descritivos, valores negativos de percentual de redução foram encontrados. Estes foram a exceção, mas indicam que a contagem total de bactérias foi maior após a utilização do bochecho. Isso pode ter explicação na metodologia de coleta, que se valeu de saliva estimulada. Da mesma forma, algum fator no processamento da amostra poderia ser responsável pelo achado. O desenho randomizado e com cegamento permite que esses fatores sejam diluídos nos diferentes grupos, não afetando a validade dos resultados.

Os resultados obtidos em relação ao percentual de redução de bactérias totais apontam para medianas bastante elevadas próximas a 90% para ambas as substâncias, independentemente da presença de álcool. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas para ambas as substâncias em relação à presença ou não de álcool. A variabilidade dos dados pode responder por esse achado. Novas análises, incluindo transformação logarítmica e de poder do estudo poderão auxiliar a elucidar essas diferenças. Entretanto, é interessante observar para os dados do percentil 25, especialmente das soluções de clorexidina em que a presença do álcool está associada a um percentual bem maior de redução. Por outro lado, nos óleos essenciais, esta relação é menor e inversa. A interpretação desse achado deve ser perseguida em análises futuras. No plano pragmático, não foram observados efeitos significativos da presença de álcool nas formulações de clorexidina e de óleos essenciais.

Estudos têm sido realizados e a controvérsia sobre o efeito do álcool na eficácia de colutórios é presente. Existem estudos que não detectam diferenças de eficácia (Todkar *et al.*, 2012) enquanto outros observam que a presença do álcool potencializa os efeitos dos antimicrobianos (Marchetti *et al.*, 2011). No caso específico do estudo em tela, não foram observados benefícios da presença do álcool. Esses achados dão suporte à tendência

mercadológica de eliminação do álcool nos colutórios sem perda de efeitos. Ademais, permitem que se evite a presença de eventuais efeitos adversos. Ressalte-se que não existem evidências para suportar efeitos carcinogênicos do álcool de colutórios (Gandini *et al.*, 2012). Entretanto, a utilização por crianças e abstêmios poderia ser um gatilho para estimular o gosto por substâncias alcoólicas, o que pode gerar problemas de saúde futuros. Por essa razão que no presente estudo não foram incluídos indivíduos abstêmios.

Este estudo também se preocupou com a percepção gustativa dos indivíduos participantes em relação às substâncias testadas. Sabe-se que o sabor dos colutórios é um fator importante na sua utilização e faz parte dos critérios de escolha de pacientes (Cantarelli *et al.*, 2011). Assim, foi analisada a percepção gustativa por meio de EVA. Essa é uma forma validada de realizar estudos sobre satisfação (Miller e Ferris, 1993; Kimberlin e Winterstein, 2008). Outras formas de análise também estão disponíveis. Os indivíduos participantes fizeram suas avaliações logo após o primeiro bochecho. A análise se deu sem contato com as análises anteriores de percepção gustativa, para que não fossem permitidas as comparações.

Os resultados da VAS foram interessantes uma vez que a presença do álcool interferiu negativamente na percepção gustativa dos óleos essenciais e não interferiu na clorexidina. A interpretação dessa discrepância é um desafio. A literatura é consistente em relatar o gosto ruim da clorexidina como percebida por pacientes (Van Strydonck *et al.*, 2005). Esse gosto amargo da substância pode ser de tal magnitude que, independentemente da presença de álcool, não se consiga ter afetado o gosto da substância. Assim, o álcool pode não ter sido percebido, dentro do contexto amargo da clorexidina. No caso dos óleos essenciais, a diferença entre a percepção gustativa comparando colutórios com e sem álcool é bastante marcada, o que indica que óleos essenciais com álcool são negativamente avaliados pelos usuários.

Embora não seja objetivo do presente estudo, é interessante observar que a clorexidina na avaliação pela EVA assume valores intermediários entre os óleos essenciais sem álcool (mais bem avaliados) e óleos essenciais com álcool (os com pior avaliação média). Não se pode deixar de ressaltar que as concentrações de álcool das duas substâncias são consideravelmente diferentes, sendo a dos óleos essenciais padrão é quase o triplo da clorexidina. Na solução de clorexidina, essa concentração é de 7% e a concentração referida na literatura (não disponível no rótulo) da solução de óleos essenciais padrão é de 20%.

Esses resultados necessitam continuidade de investigação tanto no plano de estudos de efetividade, quanto de satisfação dos indivíduos, uma vez que os colutórios são parte da indústria de cosméticos, de venda livre, por demanda espontânea do consumidor. Assim, a percepção gustativa permanece como importante, pois vai fazer parte da adesão do consumidor a uma prescrição, especialmente se esta for de uso contínuo.

CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo, levando em consideração suas características metodológicas e limitações permitem concluir que o álcool não interfere na eficácia antimicrobiana de colutórios a base de clorexidina e óleos essenciais. A presença de álcool nos óleos essenciais é avaliada de forma mais negativa em termos de percepção gustativa.

REFERÊNCIAS

- Abouassi, T. et al. Does human saliva decrease the antimicrobial activity of chlorhexidine against oral bacteria? *BMC Res Notes*, v. 7, p. 711, 2014..
- Addy, M. Chlorhexidine compared with other locally delivered antimicrobials. A short review. *J Clin Periodontol*, v. 13, n. 10, p. 957-64, Nov 1986. I
- Addy, M.; Llewelyn, J. Use of chlorhexidine gluconate and povidone iodine mouthwashes in the treatment of acute ulcerative gingivitis. *J Clin Periodontol*, v. 5, n. 4, p. 272-7, Nov 1978.
- Addy, M.; Moran, J. M. Clinical indications for the use of chemical adjuncts to plaque control: chlorhexidine formulations. *Periodontol 2000*, v. 15, p. 52-4, Oct 1997.
- Ajay Rao, H. T. et al. Efficacy of garlic extract and chlorhexidine mouthwash in reduction of oral salivary microorganisms, an in vitro study. *Anc Sci Life*, v. 34, n. 2, p. 85-8, Oct-Dec
- Amaral Cda, S.; Vettore, M. V.; Leao, A. The relationship of alcohol dependence and alcohol consumption with periodontitis: a systematic review. *J Dent*, v. 37, n. 9, p. 643-51, Sep 2009.
- Bagnardi, V. et al. Alcohol consumption and site-specific cancer risk: a comprehensive dose-response meta-analysis. *Br J Cancer*, v. 112, n. 3, p. 580-93, Feb 3 2015.
- Botelho, M. A. et al. Comparative effect of an essential oil mouthrinse on plaque, gingivitis and salivary *Streptococcus mutans* levels: a double blind randomized study. *Phytother Res*, v. 23, n. 9, p. 1214-9, Sep 2009.
- Cantarelli, R. et al. Perfil de uso de colutórios utilizados pelos pacientes da faculdade de odontologia da UFRGS Brazil: *Perio News*. 5 2011.
- Carretero Pelaez, M. A. et al. Alcohol-containing mouthwashes and oral cancer. Critical analysis of literature. *Med Oral*, v. 9, n. 2, p. 120-3, 116-20, Mar-Apr 2004.
- Chapple, I. L. et al. Primary prevention of periodontitis: managing gingivitis. *J Clin Periodontol*, v. 42 Suppl 16, p. S71-6, Apr 2015.
- Cole, P.; Rodu, B.; Mathisen, A. Alcohol-containing mouthwash and oropharyngeal cancer: a review of the epidemiology. *J Am Dent Assoc*, v. 134, n. 8, p. 1079-87, Aug 2003.
- de Freitas, C. S. et al. Evaluation of the substantivity of chlorhexidine in association with sodium fluoride in vitro. *Pesqui Odontol Bras*, v. 17, n. 1, p. 78-81, 2003 Jan-Mar 2003.
- Eley, B. M. Antibacterial agents in the control of supragingival plaque--a review. *Br Dent J*, v. 186, n. 6, p. 286-96, Mar 1999.
- Ennibi, O. et al. Chlorhexidine alcohol base mouthrinse versus Chlorhexidine formaldehyde base mouthrinse efficacy on plaque control: double blind, randomized clinical trials. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, v. 18, n. 1, p. e135-9, Jan 2013.

- Erriu, M. et al. Oil Essential Mouthwashes Antibacterial Activity against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: A Comparison between Antibiofilm and Antiplanktonic Effects. *Int J Dent*, v. 2013, p. 164267, 2013.
- Feres, M. et al. The effectiveness of a preprocedural mouthrinse containing cetylpyridinium chloride in reducing bacteria in the dental office. *J Am Dent Assoc*, v. 141, n. 4, p. 415-22, Apr 2010.
- Gandini, S. et al. Mouthwash and oral cancer risk quantitative meta-analysis of epidemiologic studies. *Ann Agric Environ Med*, v. 19, n. 2, p. 173-80.
- Gjermo, P.; Baastad, K. L.; Rolla, G. The plaque-inhibiting capacity of 11 antibacterial compounds. *J Periodontal Res*, v. 5, n. 2, p. 102-9, 1970.
- Gunsolley, J. C. A meta-analysis of six-month studies of antiplaque and antigingivitis agents. *J Am Dent Assoc*, v. 137, n. 12, p. 1649-57, Dec 2006.
- Haas, A. N. et al. Pattern and rate of progression of periodontal attachment loss in an urban population of South Brazil: a 5-years population-based prospective study. *J Clin Periodontol*, v. 39, n. 1, p. 1-9, Jan 2012.
- Haas, A. N. et al. A population-based cohort study of oral health in South Brazil: The Porto Alegre Study. *Rev Bras Epidemiol*, v. 18, n. 2, p. 515-9, Apr-Jun 2015. ISSN 1415-790x.
- Kerr, A. R. et al. Comparison of two mouthrinses in relation to salivary flow and perceived dryness. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, v. 119, n. 1, p. 59-64, Jan 2015.
- Kimberlin, C. L.; Winterstein, A. G. Validity and reliability of measurement instruments used in research. *Am J Health Syst Pharm*, v. 65, n. 23, p. 2276-84, Dec 1 2008.
- Lemos, C. A., Jr.; Villoria, G. E. Reviewed evidence about the safety of the daily use of alcohol-based mouthrinses. *Braz Oral Res*, v. 22 Suppl 1, p. 24-31, 2008.
- Maliska, A. N. et al. Measuring early plaque formation clinically. *Oral Health Prev Dent*, v. 4, n. 4, p. 273-8, 2006.
- Marchetti, E. et al. Efficacy of essential oil mouthwash with and without alcohol: a 3-day plaque accumulation model. *Trials*, v. 12, p. 262, 2011.
- Miller, M. D.; Ferris, D. G. Measurement of subjective phenomena in primary care research: the Visual Analogue Scale. *Fam Pract Res J*, v. 13, n. 1, p. 15-24, Mar 1993.
- Oppermann, R. V. et al. Proposal for the teaching of the chemical control of supragingival biofilm. *Braz Oral Res*, v. 24 Suppl 1, p. 33-6, 2010.
- Ros-Llor, I.; Lopez-Jornet, P. Cytogenetic analysis of oral mucosa cells, induced by chlorhexidine, essential oils in ethanolic solution and triclosan mouthwashes. *Environ Res*, v. 132, p. 140-5, Jul 2014.

Rosing, C. K.; Susin, C. *Praticando Odontologia Baseada Em Evidências*. Brasil: Editora da ULBRA, 1999.

Scannapieco, F. A. et al. A randomized trial of chlorhexidine gluconate on oral bacterial pathogens in mechanically ventilated patients. *Crit Care*, v. 13, n. 4, p. R117, 2009.

Schiott, C. R. et al. The effect of chlorhexidine mouthrinses on the human oral flora. *J Periodontal Res*, v. 5, n. 2, p. 84-9, 1970.

Sennhenn-Kirchner, S. et al. Decontamination efficacy of antiseptic agents on in vivo grown biofilms on rough titanium surfaces. *Quintessence Int*, v. 40, n. 10, p. e80-8, Nov-Dec 2009.

Sissons, C. H.; Wong, L.; Cutress, T. W. Inhibition by ethanol of the growth of biofilm and dispersed microcosm dental plaques. *Arch Oral Biol*, v. 41, n. 1, p. 27-34, Jan 1996.

Stoeken, J. E.; Paraskevas, S.; van der Weijden, G. A. The long-term effect of a mouthrinse containing essential oils on dental plaque and gingivitis: a systematic review. *J Periodontol*, v. 78, n. 7, p. 1218-28, Jul 2007.

Susin, C. et al. Periodontal attachment loss in an urban population of Brazilian adults: effect of demographic, behavioral, and environmental risk indicators. *J Periodontol*, v. 75, n. 7, p. 1033-41, Jul 2004.

Todkar, R. et al. Efficacy of chlorhexidine mouthrinses with and without alcohol - a clinical study. *Oral Health Prev Dent*, v. 10, n. 3, p. 291-6, 2012.

Van Leeuwen, M. P.; Slot, D. E.; Van der Weijden, G. A. Essential oils compared to chlorhexidine with respect to plaque and parameters of gingival inflammation: a systematic review. *J Periodontol*, v. 82, n. 2, p. 174-94, Feb 2011.

Van Leeuwen, M. P. et al. The effect of an essential-oils mouthrinse as compared to a vehicle solution on plaque and gingival inflammation: a systematic review and meta-analysis. *Int J Dent Hyg*, v. 12, n. 3, p. 160-7, Aug 2014.

Van Strydonck, D. A. et al. Plaque inhibition of two commercially available chlorhexidine mouthrinses. *J Clin Periodontol*, v. 32, n. 3, p. 305-9, Mar 2005.

Vilela, M. C. et al. Oral care and nosocomial pneumonia: a systematic review. *Einstein (Sao Paulo)*, v. 13, n. 2, p. 290-6, Apr-Jun 2015.

Zimmer, S. et al. Clinical efficacy of flossing versus use of antimicrobial rinses. *J Periodontol*, v. 77, n. 8, p. 1380-5, Aug 2006.

ANEXO A

ASSOCIAÇÃO DOS
FUNCIONÁRIOS DO ESTADO
DO RIO GRANDE DO SUL-



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: SOLUÇÕES COLUTÓRIAS A BASE DE CLOREXIDINA E ÓLEOS ESSENCIAIS EM FORMULAÇÕES COM E SEM ÁLCOOL. UMA ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E DE PREFERÊNCIA GUSTATIVA

Pesquisador: CASSIANO KUCHENBECKER ROSING

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 40190114.5.0000.5304

Instituição Proponente:

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.020.949

Data da Relatoria: 26/03/2015

Apresentação do Projeto:

A proposta deste projeto é desenvolver um experimento clínico de eficácia cruzado duplo cego, no qual será avaliada a preferência gustativa e contagem microbiana após o uso de bochechos a base de clorexidina com e sem álcool e óleos essenciais com e sem álcool. Quarenta e oito voluntários serão incluídos na pesquisa e, semanalmente serão submetidos a diferentes soluções colutórias teste (com e sem álcool), além de solução controle total. Os desfechos serão contagem total de aeróbios na saliva e percepção gustativa por meio de Escala Visual Analógica.

Objetivo da Pesquisa:

- Verificar se a presença de álcool na fórmula dos enxaguantes bucais a base de clorexidina e óleos essenciais tem influência sobre a quantidade de microrganismos salivares e percepção gustativa.
- Comparar a eficácia antibacteriana para microrganismos salivares de colutórios a base de clorexidina com e sem álcool.
- Comparar a eficácia antibacteriana para microrganismos salivares de colutórios a base de óleos essenciais com e sem álcool.
- Comparar a percepção gustativa de colutórios a base de clorexidina com e sem álcool.

Endereço: Av. Ipiranga, 1801 - 11º andar - Sala 03

Bairro: Azenha

CEP: 90.160-093

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3217-8840

Fax: (51)3217-8840

E-mail: cephed@hed.com.br

**ASSOCIAÇÃO DOS
FUNCIONÁRIOS DO ESTADO
DO RIO GRANDE DO SUL-**



Continuação do Parecer: 1.020.949

- Comparar a percepção gustativa de colutórios a base de óleos essenciais com e sem álcool.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os autores indicam os seguintes benefícios: "os benefícios para os participantes no presente estudo serão os seguintes: diagnóstico clínico odontológico e encaminhamento para tratamento na Faculdade de Odontologia da UFRGS se o exame clínico apontar necessidade de tratamento odontológico." Ressalta-se que estes não são benefícios do estudo, mas obrigação do investigador de oferecer acesso ao diagnóstico e tratamento para o participante da pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Incluir no TCLE telefone do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Ernesto Dornelles.

SITUAÇÃO: PENDÊNCIA ATENDIDA

Recomendações:

Vide abaixo.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As seguintes questões devem ser esclarecidas:

1) Quanto ao cronograma apresentado no projeto o que seriam os valores 1 a 17? Estes representam meses ao longo do ano? Para quando está previsto o início do estudo?

RESPOSTA DO PESQUISADOR: O cronograma do projeto foi alterado para clarificar essa dúvida. Assim, os valores de 1 a 17 representam meses de desenvolvimento do projeto. O projeto somente iniciar-se-á após a aprovação pelo Comitê de Ética. Assim, o projeto terá duração de 17 meses após aprovação ética.

SITUAÇÃO: PENDÊNCIA ATENDIDA

2) Análise estatística: O estudo apresenta como delineamento o duplo cego cruzado. Considerando que cada indivíduo será avaliado 5 vezes, a análise deve considerar medidas repetidas ao longo do

Endereço: Av. Ipiranga, 1801 - 11º andar - Sala 03
Bairro: Azenha **CEP:** 90.160-093
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3217-8840 **Fax:** (51)3217-8840 **E-mail:** cephed@hed.com.br

**ASSOCIAÇÃO DOS
FUNCIONÁRIOS DO ESTADO
DO RIO GRANDE DO SUL-**



Continuação do Parecer: 1.020.949

tempo, não sendo possível, neste caso, utilizar testes como ANOVA de uma via ou Kruskal Wallis. Um teste mais adequado deve ser utilizado.

RESPOSTA DO PESQUISADOR: Agradecemos a sugestão e entendemos que estávamos equivocados. Assim, no projeto, foi modificada a análise estatística, que agora se encontra da seguinte forma: "O presente estudo tem dois desfechos primários: contagem bacteriana e percepção através da Escala Visual Analógica (EVA). A contagem bacteriana e os valores da EVA serão avaliados através de médias e desvios padrão e os colutórios experimentais serão comparados através do teste ANOVA de medidas repetidas, caso a distribuição dos dados seja simétrica. Do contrário, a comparação será realizada através de Friedman. Será considerado o valor $p < 0,05$, como apresentando diferença estatisticamente significativa."

SITUAÇÃO: PENDÊNCIA ATENDIDA

3) Incluir no TCLE telefone do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Ernesto Dornelles.

RESPOSTA DO PESQUISADOR: Informamos que o telefone do Comitê de Ética em Pesquisa foi agora incluído no TCLE.

SITUAÇÃO: PENDÊNCIA ATENDIDA

4) Rever benefícios aos participantes.

RESPOSTA DO PESQUISADOR:

O presente estudo não apresenta benefícios diretos aos participantes. Entretanto, a contribuição científica do mesmo revela benefícios indiretos, incluindo um dos pilares da ciência baseada em evidências: a preferência do paciente. Além disso, a avaliação do efeito antimicrobiano das soluções com e sem álcool contribuirá para o desenvolvimento da possibilidade de utilizar colutórios sem álcool, ou compreender, de forma mais adequada, o real benefício da diluição de colutórios em soluções alcoólicas. O uso de enxaguatórios bucais na população e fatores como indicação do dentista, sabor e propaganda estão fortemente ligados à escolha destes produtos (Canterelli et al., 2011). Os bochechos sem álcool, em sua formulação, ainda necessitam de maiores estudos acerca de sua eficácia para que

Endereço: Av. Ipiranga, 1801 - 11º andar - Sala 03
Bairro: Azenha **CEP:** 90.160-093
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3217-8840 **Fax:** (51)3217-8840 **E-mail:** cephed@hed.com.br

**ASSOCIAÇÃO DOS
FUNCIONÁRIOS DO ESTADO
DO RIO GRANDE DO SUL-**



Continuação do Parecer: 1.020.949

sua indicação seja precisa, por parte dos profissionais e sua escolha por parte dos consumidores não recaia em fatores meramente mercadológicos que atendam majoritariamente a interesse de grandes empresas. Como parte da obrigação ética, os pacientes receberão diagnóstico clínico odontológico e encaminhamento para tratamento na Faculdade de Odontologia da UFRGS se o exame clínico apontar necessidade de tratamento odontológico.

SITUAÇÃO: PENDÊNCIA ATENDIDA

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

PORTO ALEGRE, 13 de Abril de 2015

**Assinado por:
PAULO DORNELLES PICON
(Coordenador)**

Endereço: Av. Ipiranga, 1801 - 11º andar - Sala 03
Bairro: Azenha **CEP:** 90.160-093
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3217-8840 **Fax:** (51)3217-8840 **E-mail:** cephed@hed.com.br

ANEXO B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Caro participante,

Estamos realizando um estudo para avaliar se a presença de álcool nos enxaguatórios bucais influencia no gosto para escolha dos mesmos. Também uma análise do potencial antimicrobiano será realizada. Este será um dos primeiros estudos sobre esse assunto e tem a possibilidade de contribuir para o entendimento das repercussões do álcool no processo de escolha destas substâncias. O estudo faz parte dos trabalhos de conclusão de curso de alunos de Graduação em Odontologia da UFRGS.

A pesquisa consistirá do fornecimento de 2 tipos de bochechos em duas formulações diferentes, com e sem álcool, comumente utilizados em odontologia e outra solução que é sem componente ativo. Esta intervenção será monitorada por estudantes de pós-graduação em odontologia e sempre haverá um professor responsável pelo acompanhamento do caso. Você precisará comparecer a cinco consultas para completar o estudo, uma por semana onde você testará os líquidos para bochecho. Ao final de cada consulta, você preencherá uma ficha para informar o que achou do gosto de cada bochecho.

Cada participante fará uso de todas as substâncias e para que isso não influencie na avaliação dos resultados do tratamento, nem os participantes, nem os estudantes/professores saberão que substância está sendo fornecida até o final do estudo. Todas as substâncias que serão bochechadas por você são facilmente encontradas nos supermercados e nas farmácias, portanto não estamos testando substâncias novas nos líquidos que você irá bochechar.

Os benefícios para os participantes no presente estudo serão os seguintes: diagnóstico clínico odontológico e encaminhamento para tratamento na Faculdade de Odontologia da UFRGS, caso o exame clínico aponte necessidade de tratamento odontológico. Além disso, a participação do voluntário também irá contribuir no avanço do conhecimento sobre o controle de algumas doenças bucais.

Os possíveis desconfortos associados à participação neste estudo são aqueles decorrentes da realização de bochechos com substâncias contendo ou não álcool na sua

composição. Estes incluem gosto desagradável, deglutição inadvertida da solução, sensação de queimação na boca. Todas as medidas de biossegurança necessárias tais como uso de materiais descartáveis e instrumentais esterilizados, serão adotadas. Adicionalmente toda e qualquer ocorrência durante o tratamento será avaliada e prontamente atendida pela equipe de pesquisadores.

Fica ainda assegurado o direito ao sigilo de todas as informações coletadas, não sendo permitido acesso por outra pessoa que não o próprio participante ou responsável. Você não terá nenhum custo com esta pesquisa, e os líquidos para os bochechos serão fornecidos pelos pesquisadores. Você será ressarcido do valor da passagem de transporte público de Porto Alegre que usará para comparecer às 5 consultas da pesquisa. Assim, serão fornecidas duas passagens de ônibus a você em cada consulta do estudo. Se o exame da sua boca mostrar a necessidade de algum tratamento dentário, este tratamento terá o custo que normalmente é cobrado pela Faculdade de Odontologia.

Fica, ainda, assegurada a liberdade dos participantes de recusarem-se a participar ou retirarem-se do estudo a qualquer momento que desejarem, sem que isso traga prejuízos no tratamento dentário.

Toda e qualquer dúvida no decorrer do estudo poderá ser esclarecida pelos envolvidos nesta pesquisa através do telefone (51) 33085318. O pesquisador Cassiano Rösing (pesquisador responsável) e sua equipe estarão sempre à disposição para esclarecimentos.

Eu, _____ (participante), declaro que fui informado dos objetivos e procedimentos que serão realizados nesta pesquisa, bem como sei dos meus direitos e dos deveres dos pesquisadores. Declaro, ainda, que recebi uma cópia deste Termo.

Porto Alegre, ____ de _____ de 20__.

Pesquisador:

Participante:

Contato – Comitê de Ética em Pesquisa – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Fone: (51) 3308-3738

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 - Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Cento-Porto Alegre/RS - CEP: 90040-060

Contato – Comitê de Ética em Pesquisa – Hospital Ernesto Dornelles

Fone: (51) 3217.8840

Endereço: Av. Ipiranga, 1801 - 11º andar - Sala 03.