

Igor Pena Andrade¹
Rafaela Fiorotti Fardin¹
Karla Barcelos Corrêa Xavier²
Ana Paula Ferreira Nunes³

**Minimal inhibitory
concentration of mouthwash
on oral microorganisms**

Concentração inibitória mínima de antissépticos bucais em micro- organismos da cavidade oral

ABSTRACT | *Introduction: The use of mouthwash is increasingly common and recommended by dentists, being very important to complement the methods of oral hygiene. With so many commercial brands and active ingredients is necessary microbiological analysis of its effectiveness. Objective: To determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of 4 rinses the basis of chlorhexidine (CHX) cetilperidine chloride (CPC), triclosan (TR) and essential oils (EO) by microdilution technique plates with 96 wells on the bacteria Streptococcus mutans (ATCC 25175), Enterococcus faecalis (ATCC 29212), Escherichia coli (ATCC 25922), Staphylococcus aureus (MSSA 25423), Candida albicans and Pseudomonas aeruginosa (ATCC 15442). Results: For S. mutans the MIC was the lowest of the TR (0.0075%), followed by the CPC (0.0125%), CHX (0.03%) and OE (0.032% thymol, eucalyptol 0.046%); for S. aureus, E. faecalis, E. coli and C. albicans, MIC was the lowest TR (0.0075%), followed by OE (0.016% thymol and eucalyptol 0.023%), CPC (0.0125%) and CHX (0.03%); for P. aeruginosa MIC was the lowest TR (0.0075%), followed by OE (0.016% thymol and eucalyptol 0.023%), CHX (0.03%) and CPC (0.0333%). Conclusion: All oral rinse tested were able to inhibit the growth of different bacterial samples gram-positive, gram-negative bacteria and Candida in vitro, in vivo studies are needed to test its effectiveness in controlling the oral biofilm.*

Keywords | Mouthwash; In vitro microbial sensitivity tests; Antibacterial activity.

RESUMO | *Introdução: A utilização de enxaguatórios bucais é cada vez mais comum e indicada por cirurgiões dentistas, sendo de grande valia para a complementação dos métodos de higiene oral. Diante de tantas marcas comerciais e de princípios ativos, faz-se necessária a análise microbiológica da eficácia desses enxaguatórios. Objetivo: O objetivo do trabalho é determinar a concentração inibitória mínima (CIM) de quatro enxaguatórios à base de clorexidina (CHX), cloreto de cetilperidínio (CPC), triclosan (TR) e óleos essenciais (OE), por meio da técnica de microdiluição em placas com 96 poços, em frente às bactérias Streptococcus mutans (ATCC 25175), Enterococcus faecalis (ATCC 29212), Escherichia coli (ATCC 25922), Staphylococcus aureus (MSSA 25423), Candida albicans e Pseudomonas aeruginosa (ATCC 15442). Resultados: Para o S. mutans, a menor CIM foi a do TR (0,0075%), seguida pelo CPC (0,0125%), CHX (0,03%) e pelo OE (timol 0,032%, eucaliptol 0,046%); para o S. aureus, E. faecalis, E. coli e C. albicans, a menor CIM foi TR (0,0075%), seguida pelo OE (timol 0,016% e eucaliptol 0,023%), CPC (0,0125%) e CHX (0,03%); para a P. aeruginosa, a menor CIM foi TR (0,0075%), seguida pelo OE (timol 0,016% e eucaliptol 0,023%), CHX (0,03%) e CPC (0,0333%). Conclusão: Todos os enxaguatórios orais testados foram capazes de inibir o crescimento de diferentes amostras bacterianas gram-positivas, gram-negativas e Candida in vitro, necessitando de estudos in vivo que testem a sua eficácia no controle do biofilme oral.*

Palavras-chave | Antissépticos bucais; Bochechos; Testes de sensibilidade microbiana, in vitro.

¹ Cirurgião-dentista graduado pela UFES, Vitória/ ES, Brasil.

² Professora adjunta do Departamento de Clínica Odontológica, UFES, Vitória/ ES, Brasil.

³ Professora adjunta do Departamento de Patologia, UFES, Vitória/ ES, Brasil.

INTRODUÇÃO |

A cavidade oral é colonizada por inúmeras bactérias que vivem em equilíbrio. São encontradas no biofilme dentário e na mucosa. Para a prevenção de patologias orais e o controle da placa bacteriana, a higiene oral, realizada pela remoção mecânica de placa, por meio de escova e fio dental, ainda é o método mais eficaz. Porém, deve ser evidenciada a dificuldade em se conseguir com que os pacientes se motivem a manter a higiene oral adequada, além de, em alguns casos, ocorrer dificuldade na higienização, como no uso de aparelhos ortodônticos e nos pós-operatórios¹⁹. Garcia-Godoy *et al.*⁵ e Svatun *et al.*¹⁸ observaram que, com a remoção total da placa por profilaxia profissional e orientação, após três meses, o índice de placa atingiu 60 a 80%.

Um desequilíbrio na microbiota oral também pode causar infecções orais e até mesmo sistêmicas devido à bacteremia transitória gerada durante os procedimentos odontológicos mais invasivos¹. Em frente às limitações dos métodos mecânicos de higiene e à necessidade de agentes antimicrobianos para a prevenção e tratamento de infecções orais, surgiram no mercado os antissépticos orais, também conhecidos como colutórios ou enxaguatórios orais.

Os enxaguatórios bucais representam o meio mais simples para veiculação de substâncias antissépticas. São constituídos por uma mistura de componente ativo, água, álcool, surfactantes, umectantes e flavorizantes^{12,19}. No mercado, há uma infinidade de produtos com diferentes componentes ativos, como a clorexidina (CHX), cloreto de cetilperidínio (CPC), triclosan (TR) e óleos essenciais (OE).

Objetivo

O objetivo do trabalho foi analisar *in vitro* a Concentração Inibitória Mínima (CIM) de quatro enxaguatórios orais do mercado brasileiro: clorexidina, óleos essenciais, triclosan e cloreto de cetilperidínio sobre bactérias gram-positivas, gram-negativas e fungos. O teste realizado foi o de microdiluições em placas com 96 poços, segundo o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2010)⁴.

REVISÃO DE LITERATURA |

Microbiota Oral

A microbiota da cavidade oral é colonizada por cerca de 400 a 500 diferentes tipos de micro-organismos, distribuídos no epitélio bucal, dorso da língua, superfície

dental e epitélio do sulco gengival. Entre os micro-organismos, podem ser encontrados aeróbios, anaeróbios, facultativos e microaerofílicos. Os mais comuns são o *S. mutans*, *C. albicans*, *S. aureus*, *P. gingivalis*, entre outros, que são potentes patógenos orais, quando o equilíbrio desse ecossistema é alterado⁹.

O *Streptococcus mutans*, bactéria gram-positiva, é largamente relacionado como agente etiológico da cárie e gengivite. É colonizador primário do biofilme oral. Juntamente com o *Staphylococcus aureus* é frequentemente encontrado em bacteremias e endocardite infecciosa¹.

O *Enterococcus faecalis*, bactéria gram-positiva, é associado a infecções endodônticas em Odontologia, demonstrando alta capacidade de penetrar nos túbulos dentinários¹⁴, e a *Pseudomonas aeruginosa*, micro-organismo oportunista, é relacionada com diversos processos patológicos decorrentes de cirurgias e queimaduras, que, assim como a *Escherichia coli*, são representantes gram-negativos¹⁶.

Os fungos do gênero *Candida albicans* estão presentes entre 25 e 50% de pacientes saudáveis, e a candidose oral prevalente, em pacientes imunocomprometidos e usuários de prótese total⁸.

Enxaguatórios Bucais

A clorexidina é uma bisguanidina dicatiônica, com amplo espectro bacteriano, ativa contra bactérias gram-positivas, gram-negativas, fungos e leveduras. Seu efeito ocorre pelo aumento da permeabilidade e lise da parede celular bacteriana. É “padrão ouro” no combate bacteriano, efetiva no controle antiplaca e antigengivite, apresentando substantividade de até 12 horas. Porém, seu uso por mais de 14 dias leva a quadros de manchamento dental (película adquirida), descamação reversível da mucosa, alteração do paladar e aumento dos depósitos calcificados supragengivais^{7,12,19,21}.

O cloreto de cetilperidínio (composto ativo do Cepacol®, Plax® Sem Álcool e do Oral B®) é um composto monocatiônico, tensoativo do grupo dos quaternários de amônia mais efetivo contra gram-positivas, promovendo aumento da permeabilidade da parede celular bacteriana e seu rompimento, diminuindo a capacidade da bactéria de aderência à superfície dental. Porém, apesar de mecanismo de ação semelhante à clorexidina, apresenta menor eficácia clínica devido à baixa substantividade, sendo empregado duas vezes ao dia em bochecho de 30s^{12,16}. Como efeitos adversos, podem ser citados: manchamento dentário e

sensação de ardência, que podem ser explicados por sua veiculação em meio alcoólico de 14 a 18%¹⁹.

O triclosan (representado pelo Plax[®]) é um fenol sintético, aniônico de baixa toxicidade, apresenta amplo espectro contra gram-positivas, gram-negativas, *Mycobacterium* e principalmente contra bactérias anaeróbias, esporos e fungos. Sua ação ocorre pela lise da membrana citoplasmática do micro-organismo. O triclosan é encontrado associado ao copolímero de gantrez 0,2% e citrato de zinco para aumentar sua substantividade e potencializar sua ação, respectivamente^{12,16,19}.

Os óleos essenciais (presente no Listerine[®]) contêm timol e eucaliptol, que são antimicrobianos, além de mentol, que é anestésico natural, e o salicilato de metila, que possui ação limpante². Esses agentes lesam a parede celular bacteriana, inibem os sistemas enzimáticos, diminuem os lipopolissacarídeos e o conteúdo protéico, apresentam baixa substantividade e, devido à veiculação associada a elevados níveis alcoólicos (cerca de 22 a 27%, de acordo com o fabricante), apresentam efeitos colaterais de sensação de queimação, injúria ao tecido bucal e mancha nos dentes¹². Atualmente, tem sido acrescido cloreto de zinco em sua formulação para interferir na formação e crescimento de cristais de fosfato de cálcio e na mineralização da placa bacteriana¹⁹.

A efetividade dos enxaguatórios orais disponíveis no mercado brasileiro, em frente às bactérias *S. mutans*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis* e *S. aureus*, foi avaliada por Moreira *et al.*¹², por meio do teste de difusão em ágar. Exibiram atividade contra *S. mutans* os enxaguatórios com peróxido de hidrogênio (Peroxil[®]), CHX a 0,12% e a 0,2% (Periogard[®] e Paradontax[®]), CPC (Cepacol[®] e Oral B[®]) e TR (Plax[®]). A maioria dos antissépticos foi eficaz para *S. aureus*, com exceção dos enxaguatórios com flúor + xilitol (Fluormint[®]) e OE (Listerine[®]). Para *E. faecalis*, foram ativos CHX 0,12% (Periogard[®] e Paradontax[®]), extrato de malva, fluoreto e xilitol (Malvatricin[®]), peróxido de hidrogênio (Peroxil[®]), CPC (Cepacol[®] e Oral B[®]) e TR (Plax[®]). Para *P. aeruginosa*, foram eficazes os enxaguatórios com TR, CHX e peróxido de hidrogênio. Concluindo, foram ativos sobre as bactérias da saliva os enxaguatórios com compostos ativos à base de CPC, TR, CHX e peróxido de hidrogênio.

Semenoff *et al.*¹⁶ compararam a efetividade antimicrobiana *in vitro* dos enxaguatórios bucais à base de CHX 0,12% (Periogard[®]), CPC (Cepacol[®]) e TR (Plax[®]) nos micro-organismos *S. aureus* e *P. aeruginosa* pelo método de difusão em ágar. Em relação a *P. aeruginosa*, CHX foi a substância mais efetiva seguida pelo CPC. O TR e água destilada não

tiveram efeito inibitório. Para *S. aureus*, todas as substâncias apresentaram efetividade antimicrobiana, em ordem decrescente: TR > CHX > CPC.

Maekawa *et al.*⁸ realizaram estudo para avaliar a eficácia de enxaguatórios à base de clorexidina com e sem álcool sobre *C. albicans*, por meio do teste em microdiluições para determinação da Máxima Diluição Inibitória (MID). Como resultado, foi observado que o grupo de CHX 0,12% com fluoreto de sódio 0,05% não apresentou característica fungicida, apenas fungistática, com MID entre 0,78 a 0,39%. No grupo da CHX 0,06%, com fluoreto de sódio 0,05% e acetato de zinco 0,34% a MID ficou entre 0,78 e 0,19% sem efeito fungicida. O grupo CHX 0,12% com álcool a MID ficou entre 0,39 e 0,19% com ação fungicida em 50% da amostra. Os autores concluíram que os produtos à base de CHX 0,12% são eficazes no controle da *C. albicans* e que os produtos livres de álcool devem ser usados com cautela, apenas nos pacientes em que uso do álcool seja contraindicado, pois o álcool potencializa e estabiliza o componente ativo.

Albuquerque Jr. *et al.*¹ realizaram estudo *in vivo* avaliando o efeito do bochecho único de enxaguatório à base de CHX 0,12% sobre *S. mutans* da saliva. No estudo, 60 pacientes realizaram bochecho por 30s com 15ml de CHX 0,12% (Periogard[®]), e a coleta da saliva foi realizada antes e logo após bochecho para análise pela contagem de Unidade Formadora de Colônia (UFC). Após o bochecho, houve redução de cerca de 99,4% do nível bacteriano testado. O mesmo autor realizou teste *in vitro* para análise da MID da CHX e CPC em frente ao *S. aureus* e *S. mutans* e obteve como resultado a MID de 0,05% do CPC e 0,0125% para CHX. Concluíram que a utilização de bochechos de CHX 0,12%, antes de procedimentos invasivos, diminui os níveis bacterianos e torna a intervenção mais segura, além de ser eficaz mesmo quando apresentado na diluição de 0,0125%.

Nascimento *et al.*¹³ determinaram a MID de enxaguatórios à base de CHX (Noplak[®] e Periogard[®]) e biguanida de polihexametileno (PHMB- Sanifill Premium[®]), sobre 28 grupos de *S. aureus* por meio de teste de microdiluições. PHMB obteve MID de 0,025% nas 28 cepas. Os produtos à base de CHX obtiveram MID em 0,003125%. Concluíram que produtos à base de CHX são mais eficazes contra *S. aureus* do que os produtos à base de PHMB, assim como Watanabe *et al.*²⁰, que realizaram estudo para determinação da MID de enxaguatórios à base de CPC sobre de *S. aureus*, por meio de teste de microdiluições. O grupo de CPC (Cepacol[®]) apresentou MID de 0,00625% para todas as cepas. Assim, o CPC é eficaz contra *S. aureus* e, quando

associado a outras substâncias no enxaguatório (malva ou própolis), ele torna-se mais efetivo.

McDonnell e Russel¹¹ e McBain *et al.*¹⁰ verificaram que TR e CHX apresentaram alto potencial antimicrobiano em frente a bactérias orais, e o valor da CIM para o TR foi menor que o obtido para CHX.

Pires, Rossa Junior, Pizzolitto¹⁵ avaliaram *in vitro* a eficácia antimicrobiana de um enxaguatório bucal contendo TR, em comparação com controles positivos (CHX 0,12%) e negativos em frente a *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Actinomyces viscosus*, *Bacillus subtilis* e *S. mutans* da saliva. O teste utilizado foi o da determinação da CIM, que obteve como resultado que a solução teste inibiu o crescimento dos micro-organismos com CIM de 0,05%, enquanto a CIM da CHX 0,12% contra as mesmas bactérias foi de 0,0125%. Dessa forma, apesar de o enxaguatório bucal testado apresentar atividade antimicrobiana *in vitro* superior à do placebo, esta foi inferior à da CHX.

Giuliana *et al.*⁶ investigaram a atividade antifúngica de enxaguatórios bucais contendo CPC, CHX, hexetina, sanguinária e TR e verificaram que os produtos com CPC foram os mais efetivos, seguidos da CHX e TR.

METODOLOGIA

Para o estudo, foram utilizadas seis culturas de micro-organismos: *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (MSSA 25423), *Candida albicans* e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442).

Os enxaguatórios bucais foram: CHX 0,12% (Periogard[®] sem álcool), OE- timol 0,064% e eucaliptol 0,092% (Listerine[®]), TR 0,03% (Plax[®] Freshmint), CPC 0,05% (Plax[®] sem álcool).

As amostras foram semeadas pela técnica de esgotamento em ágar mitis salivarius (*S. mutans*) e ágar sangue (demais amostras) e incubadas a 36°C por 24 horas. O grupo *mutans* foi incubado a 36° por 48 horas. Para padronização do inóculo, foram coletadas de três a cinco colônias que foram suspensas em 3ml de salina fisiológica. A turvação da suspensão foi, então, comparada visualmente com o padrão 0,5 da escala de MacFarland, que equivale a 10⁸ UFC/poço, contendo 200µL de volume final. Para o teste de microdiluição em placas de 96 poços, da amostra de 10⁸ UFC/ml, foi pipetada 0,1ml e colocada em 0,9ml de salina fisiológica, realizando a diluição do inóculo, equivalente a aproximadamente 10⁵ UFC/ml, conforme CLSI 2010⁴.

Para cada solução testada, foram realizadas seis diluições seriadas em Caldo Triptona de Soja (TSB), para crescimento bacteriano, previamente preparado e estéril da seguinte forma, 4:1 (4ml de solução para 1ml de caldo TSB), 3:1 (3ml de solução para 1ml de caldo TSB), 2:1 (2ml de solução para 1ml de caldo TSB), 1:1 (2ml de solução para 2ml de caldo TSB), 1:2 (1ml de solução para 2ml de caldo TSB) e 1:3 (1ml de solução para 3ml de caldo TSB), resultando nas concentrações da Tabela 1. Além do controle positivo (3ml de TSB com o inóculo) e o controle negativo (1ml de TSB e 2ml de solução).

Em seguida, foram acrescentados a cada poço da placa 10 µL do inóculo e 190 µL da solução diluída. O experimento foi realizado em duplicata, com controle de crescimento positivo e negativo. As placas foram incubadas a 36°C por 24 horas e lidas utilizando a ThermoPlate[®] para Teste Elisa com densidade óptica de leitura de 630nm.

A concentração inibitória mínima foi definida como a menor concentração que inibiu o crescimento dos inóculos, evidenciado pela ausência de alteração de densidade óptica comparada com os controles de crescimento.

Tabela 1 – Concentrações dos enxaguatórios de acordo com as diluições

Enxaguatório	Dil. 4:1	Dil.3:1	Dil. 2:1	Dil. 1:1	Dil. 1:2	Dil. 1:3
CHX 0,12%	0,096%	0,09%	0,08%	0,06%	0,04%	0,03%
Timol	0,051%	0,048%	0,042%	0,032%	0,021%	0,016%
Eucaliptol	0,073%	0,069%	0,061%	0,046%	0,030%	0,023%
TR 0,03%	0,024%	0,0225%	0,02%	0,015%	0,01%	0,0075%
CPC 0,05%	0,04%	0,0375%	0,0333%	0,025%	0,0166%	0,0125%

RESULTADOS |

Os resultados da concentração inibitória mínima que apresentaram eficácia, pelo método utilizado, em frente aos micro-organismos testados, são listados na Tabela 2. Todos os micro-organismos testados foram afetados pelas substâncias utilizadas, em diferentes concentrações, de acordo com as diluições realizadas.

DISCUSSÃO |

A metodologia empregada neste trabalho segue as recomendações do teste de eficácia antimicrobiana do CLSI 2010, por meio da determinação da CIM. É um método quantitativo de avaliação dos enxaguatórios orais em frente a diferentes amostras bacterianas associadas a patologias orais³. Outras metodologias podem ser empregadas com o mesmo objetivo, como a difusão em ágar (método qualitativo) e o teste de tempo de redução decimal, que avalia o tempo para redução de 90% da população bacteriana⁴. Na literatura, porém, poucos são os relatos de trabalhos com metodologia similar.

No estudo de Maekawa *et al.*⁸, em que foram avaliadas diferentes formulações de CHX, utilizando metodologia similar à empregada no presente trabalho, os autores obtiveram como resultado MID da CHX 0,12% entre 0,39 e 0,19% em frente a *C. albicans*, não compatível com a CIM encontrada neste estudo que foi $\leq 0,03\%$.

Com a mesma metodologia, Pires, Rossa Junior e Pizzolitto¹⁵ obtiveram, como resultado, que o TR inibiu o crescimento bacteriano da *E. coli*, *P. aeruginosa*, e *S. mutans* na CIM de 0,05%, enquanto a CIM da CHX 0,12% contra as mesmas bactérias foi de 0,0125%, o que contraria os resultados obtidos com a presente pesquisa, que foram CIM do TR $\leq 0,0075\%$ e da CHX $\leq 0,03\%$. McDonnell e Russel¹¹ e McBain *et al.*¹⁰ verificaram que, em frente as bactérias orais, o TR apresenta valor de CIM menor que

obtido para CHX, estando de acordo com os resultados desta pesquisa.

Albuquerque Jr. *et al.*¹, em seu estudo, encontraram como resultados MID, em relação ao *S. aureus* e ao *S. mutans* de 0,05% do CPC e 0,0125% para a CHX 0,12%, contrariando o resultado encontrado no presente trabalho, em que a CIM da CHX, para ambas bactérias, foi de $\leq 0,03\%$ e para o CPC $\leq 0,0125\%$.

Outros estudos empregam metodologia diferente, testando a eficácia dos enxaguatórios orais por meio da difusão em ágar. O estudo de Moreira *et al.*¹² relata que foram ativos sobre as bactérias da saliva os enxaguatórios com compostos ativos à base de CPC, TR, CHX e peróxido de hidrogênio, contrariando o presente trabalho em que os OEs também foram eficazes. Além disso, Semenoff *et al.*¹⁶ relataram que, para *P. aeruginosa*, a CHX foi a substância mais efetiva seguida pelo CPC, e o TR e a água destilada não tiveram efeito inibitório, contrariando o resultado encontrado neste estudo, em que o TR também foi eficaz. Para *S. aureus*, os resultados estão de acordo com o encontrado nesta pesquisa, pois o TR, CHX e CPC foram eficazes. Na pesquisa de Bugno *et al.*³, por meio da análise do tempo de redução decimal, os autores relatam que os produtos à base de TR e CPC com óleos essenciais foram eficazes contra *S. mutans* e *E. faecalis*, enquanto o produto que continha CHX foi eficaz somente contra *C. albicans*. Tais resultados contrariam o encontrado no presente trabalho, pois todos os enxaguatórios testados foram eficazes no controle dos micro-organismos citados.

No experimento, foram avaliadas bactérias planctônicas (bactérias em sua forma livre). Alguns exemplares, como *S. mutans*, *E. faecalis* e *C. albicans*, são encontradas formando biofilmes na cavidade oral. Para que haja uma maior relação entre os resultados encontrados no estudo e a eficácia *in vivo*, deveria ser avaliada a ação dos enxaguatórios em frente a esses micro-organismos na forma de biofilme. As vantagens obtidas pelas bactérias em se organizarem

Tabela 2 – CIM dos enxaguatórios em frente às cepas estudadas

Cepas	CIM (%)			
	CHX	OE	TR	CPC
<i>S. mutans</i>	$\leq 0,03\%$	timol 0,032%, e eucaliptol 0,046%	$\leq 0,0075\%$	$\leq 0,0125\%$
<i>S. aureus</i>	$\leq 0,03\%$	\leq timol 0,016% e eucaliptol 0,023%	$\leq 0,0075\%$	$\leq 0,0125\%$
<i>E. faecalis</i>	$\leq 0,03\%$	\leq timol 0,016% e eucaliptol 0,023%	$\leq 0,0075\%$	$\leq 0,0125\%$
<i>E. coli</i>	$\leq 0,03\%$	\leq timol 0,016% e eucaliptol 0,023%	$\leq 0,0075\%$	$\leq 0,0125\%$
<i>C. albicans</i>	$\leq 0,03\%$	\leq timol 0,016% e eucaliptol 0,023%	$\leq 0,0075\%$	$\leq 0,0125\%$
<i>P. aeruginosa</i>	$\leq 0,03\%$	\leq timol 0,016% e eucaliptol 0,023%	$\leq 0,0075\%$	0,0333%

em biofilmes é devido a uma maior proteção do sistema imune do hospedeiro, maior proteção contra agentes antimicrobianos, maior concentração de nutrientes perto de uma superfície e facilidade na troca de material genético¹⁷.

Além disso, evidências recentes sugerem que os fenótipos bacterianos podem ser modificados quando os organismos mudam de um estado planctônico para um estado sésil, como nos biofilmes. Essas mudanças podem resultar em uma susceptibilidade alterada para agentes antimicrobianos²². Apesar de eventuais diferenças, os testes *in vitro*, utilizando culturas em suspensão, são de extrema importância como método preliminar para avaliar a atividade antimicrobiana de enxaguatórios bucais³.

CONCLUSÃO |

- Através da metodologia empregada, conclui-se que todos os enxaguatórios orais testados, mesmo em menores concentrações que as encontradas no mercado, foram capazes de inibir o crescimento de diferentes amostras bacterianas gram-positivas, gram-negativas e *Candida in vitro*.
- O TR apresentou CIM $\leq 0,0075\%$ para todas as bactérias estudadas, assim como a CHX, que apresentou CIM $\leq 0,03\%$. O CPC apresentou CIM de $0,033\%$ para a *P.aeruginosa* e $\leq 0,0125\%$ para *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* e *C. Albicans*. No caso dos OE, a CIM para o *S.mutans* foi timol $0,032\%$ e eucaliptol $0,046\%$ e, para *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. Coli*, *C. albicans* e *P. aeruginosa*, foi de timol $0,016\%$ e eucaliptol $0,023\%$.
- Para uma melhor avaliação da eficácia dos enxaguatórios, deveriam ser realizados testes *in vitro* e *in vivo* avaliando a atuação no biofilme oral.

REFERÊNCIAS |

1 - Albuquerque Jr R, Head TW, Mian H, Rodrigo A, Müller K, Sanches K, Ito IY. Reduction of salivary *S aureus* and *mutans* group streptococci by a preprocedural chlorhexidine rinse and maximal inhibitory dilutions of chlorhexidine and cetylpyridinium. *Quintessence Int.* 2004;35(8):635-40.

2 - Allaker RP, Douglas CW. Novel anti-microbial therapies for dental plaque-related diseases. *Int J Antimicrob Agents.* 2009 Jan;33(1):8-13.

3 - Bugno A, Nicoletti MA, Almodóvar AAB, Pereira TC, Auricchio MT. Enxaguatórios bucais: avaliação da eficácia

antimicrobiana de produtos comercialmente disponíveis. *Rev Inst Adolfo Lutz,* 2006, 65(1):40-5.

4 - Clinical Laboratory Standards Institute. *Methods for Dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically;* 9th Edition; 2010.

5 - Garcia-Godoy, F. et al. Effect of triclosan/copolymer/fluoride dentrifice on plaque formation and gengivitis. *Am J Dent,* 1990 (3):515-26.

6 - Giuliana G, Pizzo G, Milici ME, Musotto GC, Giangreco R. *In vitro* antifungal properties of mouthrinses containing antimicrobial agents. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral radiol Endod* 1997; 68(8): 729-33.

7 - Gunsolley JC. A meta-analysis of six-month studies of antiplaque and antigingivitis agents. *J Am Dent Assoc* 2006;137:1649-57.

8 - Maekawa LE, Brighenti FL, Lamping R, Oliveira LD, Marcacci S, Koga-Ito CY. Atividade antimicrobiana de enxaguatórios bucais sem álcool à base de clorexidina sobre *Candida albicans*. *Rev Odontol UNESP,*2010; 39(1): 15-9.

9 - Marinho BVS, Araújo ACS. Uso dos enxaguatórios bucais sobre a gengivite e biofilme dental. *International Journal of Dentistry,*2007,6(4): 124-131.

10 - McBain AJ, Bartolo RG, Catrenich CE, Charbonneau D, Ledder RG, Gilbert P. Effects of triclosan-containing rinse on the dynamics and antimicrobial susceptibility of *in vitro* plaque ecosystems. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 3531-8.

11 - McDonnell G, Russel D. Antiseptics and disinfectants. activity, action and resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12:147-79.

12 - Moreira ACA, Pereira MHQ, Porto MR, Rocha LAP, Nascimento BC, Andrade PM. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de antissépticos bucais. *R. Ci Méd Biol,* maio/ago. 2009,8(2):153-61.

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

14 - Paradella TC, Koga-Ito CY, Jorge AOC. *Enterococcus faecalis*: considerações clínicas e microbiológicas. *Revista de Odontologia da UNESP* 2007; 36(2): 163-6.

15 - Pires JR, Rossa Junior C, Pizzolitto AC. *In vitro* antimicrobial efficiency of a mouthwash containing

triclosan/gantrez and sodium bicarbonate. *Braz Oral Res* 2007;21(4):342-7.

16 - Semenoff TADV, Semenoff-Segundo A, Biasoli ER. Efetividade antimicrobiana *in vitro* de enxaguatórios bucais frente aos microorganismos *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Odonto Ciênc* 2008; 23(4):351-4.

17 - Shemesh M, Avshalom T, Aharoni R, Steinberg D. Genetic adaptation of *Streptococcus mutans* during biofilm formation on different types of surfaces. *BMC Microbiology* 2010; 10:51.

18 - Svatun, N. et al. The influence of a dentrifice containing a zinc salt and a nonionic antimicrobial agent on the maintenance of gengival health. *J Clin Periodontol*, 1987,14:457-61.

19 - Torres CRG, Kubo CH, Anido AA, Rodrigues JR. Agentes antimicrobianos e seu potencial uso na odontologia. *Pós-Grad Rev Fac Odontol* 2000; 3(2):43-52.

20 - Watanabe E, Tanomaru JMG, Nascimento AP, Matoba-Junior F, Tanomaru-Filho M, Ito IY. Determination of the maximum inhibitory dilution of cetylpyridinium chloride-based mouthwashes against *Staphylococcus aureus*: an *in vitro* study. *J Appl Oral Sci* 2008;16(4):275-9.

21 - Zanatta FB, Rösing CK. Clorexidina: mecanismo de ação e evidências atuais de sua eficácia no contexto do biofilme supragengival. *Scientific-A* 2007;1(2):35-43.

22 - Zanatta, FB, Antoniazzi, RP e Rösing, CK. The effect of 0.12% chlorhexidine gluconate rinsing on previously plaque-free and plaque-covered surfaces: a randomized, controlled clinical trial. *J Periodontol* 2007; 78:2127-134.

Correspondência para / Reprint request to:

Igor Pena Andrade

Rua Francisco Eugenio Mussiolo, 170, apto. 102,

Jardim da Penha - Vitória - ES

CEP: 29060-290

e-mail: pena.igor@gmail.com