

Maria Carolina Sales Sousa¹
Luiza Fonseca²
Carla Figueiredo Brandão³
Paulo José Lima Juiz⁴

Microbiological evaluation of antiseptics fluoridated: study in vitro

Avaliação microbiológica de antissépticos fluoretados: estudo in vitro

ABSTRACT | Objective: The in vitro study evaluated the effectiveness of some antiseptic fluoride, to inhibit growth of microbes in saliva. Methods: The antiseptics were: Plax* Colgate-Palmolive, Oral B* of Brazil's Gillette*, Cepacol* Fluoride Aventis Pharma Ltda, Fluordent* Johnson and Johnson, sodium fluoride (0.5%), sodium fluoride (1.0%) and sodium fluoride (2.0%) prepared in the laboratory that served as control. The inocula were obtained from the culture from saliva. The four antiseptics and rinses were placed separately in test tubes (13x100mm.), autoclaved, using appropriate tips and pipettes with dosages of 25ml, 50ml, and 100ml, and then added to these 1.0ml of inoculum diluted to 10⁻⁴. Tubes containing the experiments were placed in anaerobic jars (candle method) for production of CO₂. The readings were taken at 24 and 48 hours. Results: The results revealed that Plax* is presented as the most effective in reducing the microbiota of saliva, followed by Oral B* and Cepacol*, and that both sodium fluoride (0.5%, 1.0% and 2.0%) as the Fluordent* did not presented effective results. Conclusion: The results showed that fluoride in combination with other agents to provide greater substantivity in its composition has better antimicrobial activity. **Keywords** | Anti-bacterial; Antimicrobial activity; Mouthwashes.

RESUMO | Objetivos: O estudo avaliou in vitro a eficácia de alguns antissépticos fluoretados, na inibição do crescimento da microbiota da saliva. Métodos: Os antissépticos avaliados foram: Plax® da Colgate-Palmolive, Oral B® da Gillette do Brasil®, Cepacol Flúor® da Aventis Pharma Ltda., Fluordent® da Johnson e Johnson, e as soluções fluoreto de sódio (0,5%), fluoreto de sódio (1,0%) e fluoreto de sódio (2,0%) preparados em laboratório e serviram como controle. Os inóculos foram obtidos a partir da cultura proveniente de saliva. Os quatro antissépticos e as soluções fluoretadas eram colocadas, separadamente, em tubos de ensaio (13x100mm) autoclavados, utilizando-se pontas adaptadas e pipetas automáticas com dosagens de 25µL, 50µL e 100µL. A seguir, acrescentou-se 1,0mL do inóculo diluído a 10⁻⁴. Os tubos contendo os experimentos eram colocados em jarras de anaerobiose (método de vela) para produção de CO₂. As leituras foram realizadas nos períodos de 24 e 48 horas. Resultados: Os resultados revelaram que o Plax® se apresentou como o mais eficiente na redução da microbiota da saliva, seguido pelo Oral B® e Cepacol®; e que tanto os fluoretos de sódio (0,5%, 1,0% e 2,0%) como o Fluordent® não apresentaram resultados de eficiência. Conclusão: Conclui-se que o fluoreto associado a outros agentes que apresentem maior substantividade em sua composição apresenta melhor atividade antimicrobiana.

Palavras-chave | Antissépticos; Atividade antimicrobiana; Colutórios.

¹Cirurgiã-dentista- Salvador, Bahia

²Professor adjunto no Curso de Odontologia da FBDC, Bahia

³ Professor adjunto no Curso de Odontologia da FBDC, Bahia

⁴ Professor da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Bahia

INTRODUÇÃO |

Medidas de caráter preventivo são fundamentais para a saúde bucal. Nas últimas décadas, a Odontologia Preventiva tem como principal fundamento manter a cavidade bucal saudável, prevenindo o desenvolvimento de doenças⁷. A escovação é o método mais comumente utilizado para a higiene bucal, reconhecendo-se o controle da placa/biofilme supragengival como um dos principais fatores na prevenção de cáries e doenças periodontais⁹.

A maioria dos agentes quimioprofiláticos é formulada para serem utilizados como suplemento dos procedimentos profiláticos orais mecânicos com o objetivo de prevenir ou limitar o acúmulo de placa e o seu metabolismo¹². Entretanto, as substâncias ativas podem também causar efeitos adversos⁴.

A quantidade retida de um quimioprofilático na cavidade oral depende da capacidade de sua ligação às superfícies, bem como do índice do fluxo salivar e gengival, dosagem, concentração, tempo de contato e frequência de aplicação¹⁵.

Ito et al.⁵ verificaram, por meio de estudo duplo cego, a influência de bochechos com cloreto de cetilpiridínio em diferentes concentrações sobre a formação da placa dental e índice gengival e, concomitantemente, a contagem de unidade formadora de colônias do número de *S. salivarius* e *S. mutans*. Os autores observaram que a solução de cloreto de cetilpiridínio a 0,05% inibiu estatisticamente a formação da placa dental, acompanhada da redução quantitativa do número de *S. mutans*, o que não aconteceu com *S. salivarius*.

Monfrin e Ribeiro⁷ avaliaram in vitro a ação de antissépticos sobre a microbiota da saliva. Selecionaram 50 amostras de saliva e, após o cultivo dos microrganismos das amostras, procederam à inoculação de dez diferentes antissépticos (Kolynos®, Oral B®, Cepacol®, Periogard®, Flogoral®, Malvatricim®, Fluodent®, Wash®, Plax®, Listerine®) em três dosagens (10µL, 20µL e 25µL). O primeiro estudo, com base no tempo de 24 horas e na dosagem de 10µL, mostrou que os antissépticos Flogoral® e Listerine® apresentaram resultados iguais e pouco eficientes em relação ao Periogard®, que se mostrou eficiente em oito amostras. O segundo estudo, baseado no tempo de 24 horas e dosagem de 20µL, indicou que os antissépticos obtiveram resultados independentes, destacando-se o Periogard®, que foi eficiente em 24 amostras. No terceiro estudo, considerando o tempo de 24 horas e a dosagem de 25µL, apenas o Fluodent® se comportou de maneira dis-

tinta, quando comparado com o Flogoral® e o Listerine®. O quarto estudo compreendeu o tempo de 48 horas e a dosagem de 10µL e mostrou que o Periogard® foi o único eficiente. No quinto estudo, com base no tempo de 48 horas e dosagem de 20µL, apenas os antissépticos Oral B® e Periogard® se distinguiram dos demais. O sexto e último estudo baseou-se no tempo de 48 horas e na dosagem de 25µL e teve o Periogard® como destaque, pois foi eficiente em 28 amostras.

O triclosan encontrado no agente Plax® é um agente não iônico com propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas. Possui amplo espectro antimicrobiano com atividade contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos. A substantividade do triclosan, demonstrada in vivo, e a sua eficácia antiplaca são limitadas quando usadas sem associação, por isso os fabricantes adicionam o copolímero ácido maléico, éter metílico polivinil (PVM/MA), comercialmente conhecido como Gantrez¹⁵.

Rodrigues, Zawadzki e Calvete, em 1999¹³, realizaram um trabalho para avaliar a eficácia do colutório Plax® no controle químico da placa bacteriana, utilizando o digluconato de clorexidina a 0,12%, como controle positivo, e um placebo, como controle negativo. Observaram que o Plax® teve uma redução significativa de 15,0% na formação de placa, quando utilizado como controle químico, seguido do digluconato de clorexidina com 35,5% e do placebo com 6,7%.

Um agente antimicrobiano ideal deveria possuir ação bactericida rápida. Altas concentrações de fluoretos (>1000 ppm) mostram propriedades bactericidas, porém em baixas concentrações. O fluoreto é mais eficaz como agente preventivo na redução da cárie dental. Seu mecanismo cariostático é exercido segundo os seguintes princípios: interferência nos processos enzimáticos das bactérias; ação bactericida direta; interferência na aderência dos microrganismos; aumento na remineralização do esmalte dentário; estimulação da formação dos grandes cristais de apatita; diminuição da solubilidade do esmalte dentário².

O flúor é o mais eletronegativo dos elementos, portanto dotado de uma intensa reação química. O flúor, em seu metabolismo bacteriano, pode alterar a função da barreira da membrana extracelular e intracelular, inibindo aquelas enzimas que necessitam de magnésio, principalmente a enolase, e deprimindo os produtos finais da glicose.

A aplicação tópica, diária, sob a forma gel, bochechos ou dentifrícios, resulta em altos níveis de íons fluoreto nos biofilmes dentais. Os programas com bochechos com fluo-

reto são usualmente realizados com fluoreto de sódio contendo 0,1 ou 0,2 %¹¹.

Sabe-se que os estreptococos e os lactobacilos apresentam um importante papel no início e progressão da cárie. Dessa forma, Yoshihara et al.¹⁷ estudaram a ação do bochecho fluoretado sobre os estreptococos e os lactobacilos salivares, concluindo que o uso do bochechos com fluoretos reduz, significativamente, o nível de *Streptococcus mutans* na saliva.

Os colutórios representam o veículo mais simples para os agentes quimioprofiláticos e, em geral, apresentam uma mistura do princípio ativo em água e álcool, com a adição de um surfactante, um umectante e um sabor¹⁵.

O objetivo deste artigo foi avaliar, in vitro, enxaguatórios bucais, fluoretados e não fluoretados em associação com outros agentes nas dosagens de 25µL, 50µL e 100µL e nos tempos de 24 e 48 horas.

MATERIAL E MÉTODOS |

Foram testados quatro antissépticos associados ao fluoreto de sódio, usados como colutório bucal, encontrados no comércio e, para o controle, foram preparados no laboratório o fluoreto de sódio p.a em água destilada nas concentrações de 0,5%, 1,0% e 2,0%:

- a) Fluudent® (fluoreto de sódio a 0,05% - 225ppm, água desmineralizada, sorbitol, álcool etílico, glicerina);
- b) Oral-B® (Fluoreto de sódio a 0,05% - 225ppm, água desmineralizada, glicerina, cloreto de cetilpiridínio monohidrato);
- c) Plax® (fluoreto de sódio-227ppm, Triclosan a 0,03%, Gantrez (0,20%) da Colgate);
- d) Cepacol Flúor® (fluoreto de sódio- 226,2ppm, cloreto de cetilpiridínio, álcool etílico);
- e) Fluoreto de sódio a 2,0% (1000ppm), preparado no Laboratório de Microbiologia da FBDC;
- f) Fluoreto de sódio a 1,0% (500ppm), preparado no Laboratório de Microbiologia da FBDC;
- g) Fluoreto de sódio a 0,05% (250ppm), preparado no Laboratório de Microbiologia da FBDC.

Preparo do inóculo microbiano

Os inóculos foram obtidos a partir da cultura proveniente de saliva coletada de pacientes para estoque e uso no tra-

balho de rotina no Laboratório de Microbiologia, ativados e mantidos em 10,0mL de caldo de cultura BHI, com o objetivo de preservar o crescimento dos microrganismos.

Para o preparo do inóculo, 24 horas antes do procedimento, a cultura com microrganismos da saliva foi ativada em tubos com 5,0mL de caldo BHI (em triplicata) e incubada a 37°C por 24 horas, observando-se o crescimento por turvação do meio. Os tubos foram devidamente identificados. Após crescimento dos microrganismos, foi anotada a turvação do meio de cultura acompanhada de sedimentação ou película para posterior comparação dos resultados. A seguir foi retirado 1,0mL do inóculo e adicionado ao tubo A (10⁻¹) que continha 9,0mL do caldo BHI, previamente preparado e autoclavado e, após, foram iniciadas as diluições de 10⁻¹ até 10⁻⁴, com a finalidade atingir a escala padrão 0,5 de McFarland com a proporção aproximada de 1,5x10⁸ de células por mL. Para conhecimento dos morfotipos, foi usado o método de Gram.

Preparo dos antissépticos e soluções fluoretadas

Previamente, os quatro antissépticos e as três soluções fluoretadas (controle) foram colocados, separadamente, em tubos de ensaios (13X100mm), autoclavados, utilizando-se de pontas adaptadas em pipetas automáticas com dosagens de 25µL, 50µL e 100µL, totalizando 27 tubos para cada amostra.

Após esse procedimento, foi retirada 1,0mL do tubo com o inóculo diluído 10⁻⁴ e acrescentado aos tubos que continham os antissépticos e solução fluoretada nas concentrações de 25 µL, 50µL e 100µL. A seguir, os tubos contendo os experimentos foram colocados em jarras de anaerobiose (método da vela) para produção CO₂, e incubados a 37°C por um tempo de 24 e 48 horas.

Os tubos com as diluições (10⁴) e um tubo com 10,0mL de caldo BHI (controle negativo) também foram incubados e observado o crescimento por turvação.

As leituras foram realizadas por dois examinadores, no período de 24 e 48 horas, e os resultados foram registrados para avaliação.

RESULTADOS |

Foi realizada leitura observando-se turvação nos tubos com as amostras (teste/controlado) com presença de sedimentação, película na superfície ou ambos. Essas observações da presença de sedimentos e película nas amostras

do teste/controle foram comparadas com as anotações prévias feitas do que foi encontrado no inóculo (saliva) usado como indicador. Para a análise dos resultados, foi utilizada a mesma classificação proposta por Monfrin e Ribeiro⁷:

- a) Eficiente: ausência de crescimento bacteriano.
- b) Quase eficiente (turvação do meio de cultura): crescimento reduzido de microrganismos.
- c) Pouco eficiente (turvação do meio de cultura acompanhada de sedimentação ou película de crescimento bacteriano): significa crescimento moderado de microrganismos quando comparado com B.
- d) Nada eficiente (turvação do meio de cultura acompanhada de sedimentação e película de crescimento bacteriano): significa abundante crescimento quando comparado com C.

Resultados de amostras de acordo com a classificação (A, B, C, D) nas primeiras 24 horas e 48 horas

1) Para dosagem de 25µL:

- a) Com resultado eficiente, o Plax® apresentou-se com 51,8% nas primeiras 24 horas, seguido pelo Oral B® (22,2%), Cepacol® (18,5%). Nas 48 horas na mesma ordem, o Plax® apresentou 48,1% seguido pelo Oral B® (14,8%) e Cepacol® (11,1%);
- b) Como quase eficiente (B) nas primeiras 24 horas, o fluoreto de sódio 2,0% (14,8%) seguido do fluoreto de sódio 1,0% (11,1%), fluoreto de sódio 0,5% (7,4%), Oral B (7,4%) e Fluordent® (3,7%). Nas 48 horas, o fluoreto de sódio 1,0% (11,1%), fluoreto de sódio 2,0% (11,1%) e Fluordent® (7,4%).
- c) Como pouco eficiente nas 24 horas, o Fluordent® apresentou-se com 70,3%, seguido do Plax® em 18,5%. A solução do fluoreto de sódio 0,5% (59,2%), fluoreto de sódio 1,0% e 2,0% com 55,5%, Oral B® com 25,9% e Cepacol® com 33,3%. Nas 48 horas, o Plax® se manteve em 18,5%. Por sua vez, o Fluordent®, fluoreto de sódio a 2,0% e fluoreto de sódio 0,5% com 62,9%, seguido do fluoreto de sódio 1,0%, que manteve o valor em 55,5%, Oral B® com 37,0% e Cepacol® com 22,2%.
- d) Apenas o Oral B® não apresentou resultado nada eficiente nas primeiras 24 horas. O Fluordent® e o Plax® com 25,9%, seguidos do fluoreto de sódio 1,0% e 2,0% com 29,6%, Cepacol® com 33,3% e fluoreto de sódio com 40,7%. Nas 48 horas, o fluoreto de sódio 1,0% e 2,0% se mantiveram em 29,6% das amostras.

2) Para dosagem de 50µL

- a) Plax® foi eficiente em 59,2% das amostras, seguido do Oral B® (25,9%) e do Cepacol® (18,5%). O resultado, nas 48 horas, foi mantido pelo Cepacol® (18,5%), igual valor para o Oral B® (18,5%) e com maior eficiência o Plax® (48,1%). a p
 - b) O resultado do quase eficiente nas primeiras 24 horas foi em ordem para as soluções de fluoreto de sódio 0,5% (51,8%), fluoreto de sódio 2,0% (18,5%), fluoreto de sódio 1,0% (3,7%), Fluordent (7,4%), Cepacol® (3,6%) e Oral B® (3,7%). Nas 48 horas, o fluoreto de sódio 0,5% apresentou-se com 40,7% seguido do fluoreto de sódio 1,0% e 2,0% com 7,4% de suas amostras.
 - c) Para pouco eficiente, o Fluordent® e fluoreto de sódio 0,5% e 1,0% apresentaram igual valor de 62,9%, Plax® com 22,2%, Oral B® (25,9%), Cepacol® (33,3%), fluoreto de sódio 2,0% com 51,8%. Nas 48 horas, o Cepacol® com o valor de 14,8%, seguido do Plax® (18,5%) e Oral B® 33,3%. O Fluordent® manteve 62,9% seguido do fluoreto de sódio 2,0% (62,9%) e fluoreto de sódio 0,5% e 1,0% com 59,2% das amostras.
 - d) Em relação ao nada eficiente, o fluoreto de sódio 0,5% apresentou-se com 40,7%, o fluoreto de sódio 1,0% e 2,0% com igual valor de 29,6%, Cepacol® com 25,9%, Fluordent® 22,2%, Plax® 14,8%. Nas 48 horas, as soluções de fluoreto de sódio 0,5%, 1,0% e 2,0% mantiveram-se com 29,6%, o Cepacol® com 51,8%, Plax® 22,2% e Fluordent® 33,3% das amostras.
- 3) Para a dosagem de 100 µL
- a) Como muito eficiente, em ordem, foi o Oral B® (29,6%), Plax® (59,2%) e Cepacol® 18,5%. Nas 48 horas, os resultados permaneceram com iguais valores para o Oral B, Cepacol® e o Plax® com 48,1%.
 - b) Quanto ao quase eficiente, nas 24 horas, a solução de fluoreto de sódio 2,0% com 22,2%, Cepacol® 11,1%, Fluordent® 7,4%, Oral B® e fluoreto de sódio a 1,0% com 3,7%. Nas 48 horas, o Fluordent® com 3,7% e o fluoreto de sódio 2,0% e 1,0% com igual valor de 3,7% das amostras.
 - c) Em relação ao pouco eficiente, em ordem, o Fluordent® (66,6%), Oral B® (22,2%), Plax® (25,9%), Cepacol® (29,6%), fluoreto de sódio 0,5% (66,6%), 1,0% (59,2%) e 2,0% (55,5%). Nas 48 horas, o Fluordent® (62,9%), Oral B® (33,3%), Plax® (25,9%) e Cepacol® (18,5%), fluoreto de sódio 0,5% (62,9%), 1,0% (62,9%) e 2,0% (70,3%).

d) Como nada eficiente, o Fluordent® (22,2%), Plax (3,7%), Cepacol (18,5%), fluoreto de sódio 0,5% e 1,0% (37,0%), 2,0% (22,2%). Nas 48 horas, o Fluordent® (25,9%), Plax® (18,5%), Cepacol® (40,7%), fluoreto de sódio 0,5% e 1,0% (33,3%), 2,0% (25,9%).

DISCUSSÃO |

A literatura tem nos beneficiado com pesquisas, que mostram aos cirurgiões-dentistas a importância de se conhecer os benefícios dos agentes quimioprolifáticos na prevenção e controle da cárie, limitando o acúmulo da placa bacteriana e atividade da microbiota oral. Por outro lado, encontram-se também opiniões que se opõem ao seu uso rotineiro, por períodos prolongados, revelando observações quanto à concentração inibitória máxima e mínima, bem como ao tempo de contato e frequência de aplicação, para que, com segurança, se possam orientar e advertir os pacientes quanto aos efeitos adversos que esses agentes podem causar em sua cavidade oral^{14,12,15}.

As pesquisas têm mais se concentrado na eficiência dos enxagatatórios fluoretados, associando-os aos tecidos dentais e dando pouca atenção aos efeitos sobre as bactérias na saliva¹⁷. Neste estudo, foi observado que o antisséptico Plax® mostrou ser o mais eficiente (A) agente antimicrobiano, quando comparado com os demais pesquisados, nas dosagens de 25µL, 50µL e 100µL e nos tempos de 24 e 48 horas. Esses dados são diferentes do que foi observado por Monfrin e Ribeiro⁷ com as dosagens de 10µL, 20µL e 25µL, quando encontraram pouca redução de microrganismos na saliva, o que nos faz considerar que o aumento nas concentrações, provavelmente, influenciou na atividade do agente em frente aos microrganismos.

Além disso, o trilosan/gantrez, um dos componentes presentes no Plax®, associado ao fluoreto de sódio, é um composto bacteriano de amplo espectro, não iônico, com baixa toxicidade e que aumenta a permeabilidade da parede bacteriana^{3,8,16}. Monfrin e Ribeiro⁷ relatam que o Plax® está mais destinado à deposição de flúor do que à redução de microrganismos.

Os antissépticos Cepacol® e Oral B®, associados ao fluoreto de sódio, apresentaram uma efetividade muito inferior ao Plax® em parte da amostra. Monfrin e Ribeiro⁷ observaram que o Cepacol® e o Oral B® resultaram em um nível menor de atividade antimicrobiana que os outros enxagatatórios usados em seu trabalho (Malvatricin® e Periogard®) e, assim, baseados na literatura, acrescentaram a necessidade do uso de antisséptico à base de cloreto

de cetilpiridínio várias vezes ao dia para que se tenha um resultado mais eficaz. Os componentes presentes nesses enxagatatórios têm um poder de diminuição de microrganismos significativo, o que foi observado por Ito et al.⁵, Meier et al.⁶ e Pinheiro¹⁰. Ainda consideram que a diluição utilizada normalmente em bochechos de 1:2 seja eficaz contra as bactérias da cavidade oral.

Por outro lado, considerando que o Cepacol® contém, em sua composição, o álcool etílico, cabe aqui citar a advertência feita por Poggi et al.¹², de que o seu consumo deve ser feito com segurança e que os pacientes devem ser avisados sobre as implicações de seu uso.

O Fluordent®, que possui em sua composição o fluoreto de sódio, sem associação com outros agentes antimicrobianos, mostrou atividade pouco eficiente (C), aproximando-se dos resultados observados com fluoreto de sódio, p.a (0,5%, 1,0% e 2,0%) preparado em laboratório. Esses resultados também foram apresentados por Monfrin e Ribeiro⁷, quando observaram pouca atividade antimicrobiana do Fluordent® com as dosagens de 10 µL, 20µL e 25 µL, e concluíram relatando que o emprego desse antisséptico está mais destinado à deposição de flúor do que à redução de microrganismos. Assim como o Cepacol®, o Fluordent® apresenta, em sua composição, a presença de álcool etílico, cabendo-lhe considerações quanto aos prováveis efeitos deletérios.

Diante dos dados analisados, verificamos que novas investigações devem ser feitas por meio de estudos in vivo e in vitro, a respeito da atividade antimicrobiana de enxagatatórios encontrados no comércio e usados como bochechos, a fim de se prevenir e controlar a cárie e a doença periodontal. E, ainda, que esses enxagatatórios devem ser indicados para pacientes com segurança, de acordo com as suas necessidades.

Sobretudo os antissépticos usados em bochechos orais têm sido utilizados para a descontaminação de escovas dentais, que podem funcionar como reservatório de microrganismos e via de transmissibilidade^{1,11,14,18}.

CONCLUSÕES |

O fluoreto de sódio (225ppm), associado ao triclosan e ao copolímero Gantrez (Plax®) demonstrou ser mais eficiente (A) em todas as dosagens (25µL, 50µL e 100µL) e nos tempos de 24 e 48 horas.

O fluoreto de sódio, associado ao cloreto de cetilpiridínio (Cepacol® - 226ppm e Oral B® - 225ppm), apresentou

eficiência nas dosagens de 25µL, 50µL e 100µL e nos tempos de 24 e 48 horas, porém em menor porcentagem do que a apresentada pelo Plax®.

O fluoreto de sódio preparado no laboratório nas concentrações de 0,5%, 1,0% e 2,0%, comparado com o fluoreto de sódio a 0,05%, associado ao álcool e à glicerina (Fluorident®), não mostrou eficiência nas dosagens de 25µL, 50µL e 100µL e nos tempos de 24 e 48 horas.

REFERÊNCIAS |

- 1.Caudry SD, Klitorinos A, Chan ECS. Contaminated toothbrushes and their disinfection. *J Can Dent Assoc* 1995; 61(6):511-6.
- 2.Caufield PW, Navia JM. Agentes antimicrobianos na profilaxia das cáries. In: Menaker L. Cáries dentárias bases biológicas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1984. p. 340-367.
- 3.Dantas EM, Seabra EG, Garcia AO. Estudo entre o bochecho com solução de clorexidina a 0,12% e a escovação com gel de clorexidina a 1%, utilizados com agente antiplaca bacteriana. *Rev Periodontia* 2003; 13(8):21-5.
- 4.Gagari E, Kabani SA. Adverse effects of mouthwash use. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1995; 80(4):432-8.
- 5.Ito IY et al. Efeitos do cloreto de cetilpiridínio na inibição da placa dental e nas condições clínicas da gengiva humana. *Odont Mod* 1980; 7(2):3-15.
- 6.Meier S et al. Investigation of the efficacy of CPC for use in toothbrush decontamination. *J Dent Hyg* 1996; 70(4):161-5.
- 7.Monfrin RCP, Ribeiro MC. Avaliação in vitro de anti-sépticos bucais sobre a microbiota da saliva. *Rev Assoc Paul Cir Dent* 2000; 54(5):400-7.
- 8.Moran J et al. Zinc citrate/triglyceride toothpaste inhibits plaque formation. *Dent Abstr* 2001; 46(4):190-1.
- 9.Panzeri H et al. Avaliação da ação do triclosan em várias associações comuns em dentifrícios. *Rev ABO Nac* 2001; 9(1):18-23.
- 10.Pinheiro CE. Efeito da associação do cloreto de cetilpiridínio: fluoreto de sódio na fermentação e na síntese de polissacarídeos extracelulares insolúveis da placa dentária in vitro. *Rev Bras Odontol* 1991; 48(1):18-20.
- 11.Pinto EDR, Paiva EMM, Pimenta FC. Viabilidade de microorganismos anaeróbios da cavidade bucal em escovas dentárias. *Rev Periodontia* 1997; 6(1):8-12.
- 12.Poggi P, Baena RRY, Rizzo S, Rota MT. Mouthrinses with alcohol: cytotoxic effect on human gingival fibroblasts in vitro. *J Periodontol* 2003; 74(5):623-9.
- 13.Rodrigues LG, Zawadzki PT, Calvete E. O efeito do plax na formação da placa bacteriana. *Rev Periodontia* 1999; 8(1):39-44.
- 14.Silva FIP, Alves RA. A eficácia de três enxaguatórios bucais sobre a placa bacteriana: estudo comparativo. *Rev ABO Nac* 2000; 8(5):307-11.
- 15.Thylstrup A, Fejerskov O. *Cariologia clínica*. São Paulo: Santos; 1995.
- 16.Toledo S et al. Estudo clínico-laboratorial sobre o efeito antimicrobiano do triclosan associado ao polidimetilsiloxano. *Rev Periodontia* 1997; 6(2).
- 17.Yoshihara A et al. Antibacterial effect of fluoride mouthrinse studied. *Dent Abstr* 2001; 46(6):260-1.
- 18.Zanela NLM et al. The influence of mouthrinses with antimicrobial solutions on the inhibition of dental plaque and on the levels of mutans streptococci in children. *Pesqui Odontol Bras* 2002; 16(2):101-5.
- 19.Zimmer S. Caries-preventive effects of fluoride products when used in conjunction with fluoride dentifrice. *Caries Res* 2001; 3 (suppl1):18-21.