



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS CAMPINA GRANDE
CENTRO CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE MESTRADO EM ODONTOLOGIA**

DANÚBIA ROBERTA DE MEDEIROS NÓBREGA

**AVALIAÇÃO CLÍNICA DA EFETIVIDADE DE UM
ENXAGUATÓRIO À BASE DA ROMÃ (*Punica granatum* Linn.)
SOBRE O CONTROLE DO BIOFILME DENTAL E
INFLAMAÇÃO GENGIVAL EM ESCOLARES**

CAMPINA GRANDE – PB
2012

DANÚBIA ROBERTA DE MEDEIROS NÓBREGA

**AVALIAÇÃO CLÍNICA DA EFETIVIDADE DE UM ENXAGUATÓRIO À BASE DA
ROMÃ (*Punica granatum* Linn.) SOBRE O CONTROLE DE BIOFILME DENTAL E
INFLAMAÇÃO GENGIVAL EM ESCOLARES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento às exigências para a obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Jozinete Vieira Pereira

CAMPINA GRANDE – PB
2012

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

N337a Nóbrega, Danúbia Roberta de Medeiros.
Avaliação clínica da efetividade de um enxaguatório à base da romã (*Punica granatum Linn.*) sobre o controle de biofilme dental e inflamação gengival em escolares [manuscrito] / Danúbia Roberta de Medeiros Nóbrega. – 2012.
81 f. : il. color.

Digitado
Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Estadual da Paraíba, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, 2012.

“Orientação: Profa. Dra. Jozinete Vieira Pereira, Departamento de Odontologia”.

1. Saúde bucal. 2. Higiene bucal. 3. Fitoterapia. I.
Título.

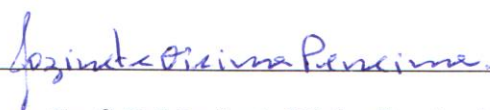
21. ed. CDD 616.6

DANÚBIA ROBERTA DE MEDEIROS NÓBREGA

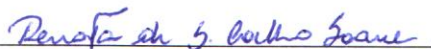
**AVALIAÇÃO CLÍNICA DA EFETIVIDADE DE UM ENXAGUATÓRIO À BASE DA
ROMÃ (*Punica granatum* Linn.) SOBRE O CONTROLE DE BIOFILME DENTAL E
INFLAMAÇÃO GENGIVAL EM ESCOLARES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento às exigências para a obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Aprovada em 25/07/2012.



Profª Drª Jozinete Vieira Pereira / UEPB
Orientadora



Profª Drª Renata de Souza Coelho Soares
1ª Examinadora/UFPG



Profª Drª Pollianna Muniz Alves
2ª Examinadora/ UEPB

DEDICATÓRIA

A ti SENHOR, que me encoraja, me guia e me fortalece pelos caminhos da vida; aos meus pais, Pedro e Carmen Silvia, pelo amor, dedicação e entusiasmo que me impediam de fraquejar nos momentos de incerteza. Dedico com amor.

AGRADECIMENTOS

✓ A DEUS, por tudo que tenho e sou, por estar sempre ao meu lado, principalmente nos momentos mais difíceis, mostrando que é preciso acreditar sempre e jamais desistir;

✓ Aos meus pais, Pedro Nóbrega e Carmen Silvia de Medeiros Nóbrega, exemplos de perseverança e otimismo, e que abdicaram de muitos sonhos para que eu realizasse os meus. Muito obrigada meus amados pais;

✓ Aos meus irmãos, Pedro Nóbrega Júnior e Álvaro Antunes Nóbrega, por me alegrarem nos momentos de desânimo, durante essa caminhada, passando tranquilidade para que eu pudesse conquistar essa vitória. Amo vocês.

✓ A minha orientadora, Profa. Dra. Jozinete Vieira Pereira, pela amizade, orientação, incentivo e paciência, em todos os momentos, no decorrer deste curso de pós-graduação;

✓ A Profa. Dra. Renata de Souza Coelho Soares por todos os ensinamentos e conselhos durante esta caminhada, e pela pessoa iluminada que é, tornando mais claros os caminhos do conhecimento;

✓ A Profa. Dra. Pollianna Muniz Alves por todos os ensinamentos e pela simplicidade de pessoa que é, sempre muito atenciosa em todos os momentos que busquei sua colaboração;

✓ A Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), pelo investimento em pesquisa e cursos de Pós-graduação, oferecendo a oportunidade de qualificação aos profissionais que tinham que se deslocar para regiões distantes de suas residências em tempos passados;

✓ Ao Programa de Pós graduação em Odontologia da UEPB, pela oportunidade de mais uma conquista em minha vida, um sonho que se torna realidade;

✓ Ao coordenador do mestrado Prof. Dr. Gustavo Pina Godoy, pelo exemplo de amor e dedicação ao trabalho e pelos ensinamentos durante essa caminhada;

✓ Aos professores do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba por todos os ensinamentos e conselhos durante o curso;

✓ As Profa. Dra. Daliana Queiroga de Castro Gomes pela amizade, ensinamentos e orientações durante esse período;

✓ A Profa. Dra. Robéria Lúcia de Queiroz Figueiredo pelos ensinamentos durante o estágio docência;

✓ A Profa. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros por todos os ensinamentos e pelo acolhimento no LABDEM (Laboratório de Ensaio de Medicamentos) para realização da parte laboratorial da pesquisa;

- ✓ A Profa. Dra. Maria do Socorro Vieira, por todos os ensinamentos e pela sua valiosa contribuição na análise dos resultados;
- ✓ A farmacêutica Célia Maria Buzzo pela elaboração dos enxaguatórios utilizados na pesquisa;
- ✓ Aos pais e responsáveis pelas crianças participantes desse estudo que confiaram em nosso trabalho e autorizaram a participação de seus filhos no estudo;
- ✓ As crianças que mesmo ainda tão jovens, tiveram paciência e compreensão durante os exames e sempre colaboraram para realização dos bochechos;
- ✓ A mestranda em Farmácia Ravelly Lucena Santos pela amizade, pelos ensinamentos e contribuição para a realização da parte laboratorial desse estudo;
- ✓ A Deysiane Oliveira Brandão, mestranda em Farmácia e Thiago Pereira Chaves, doutorando em Etnobiologia e Conservação da Natureza, pela amizade, por todos os ensinamentos, auxílio na preparação e descontaminação dos materiais, assim como pelos momentos de descontração no período em que estive no LABDEM. Em nome deles agradeço a todos os demais membros desta grande família que tão bem me recebeu, me acolheu e me mostrou o melhor caminho que deveria seguir para alcançar meu objetivo;
- ✓ A Fernanda Rahíssa de Souza e Silva, pela amizade e por sua dedicação e colaboração na coleta de dados. Sem sua ajuda, tudo teria sido mais difícil;
- ✓ A Tomás Lúcio Marques Almeida, pela contribuição na administração dos bochechos para as crianças;
- ✓ A diretora da Escola padre Antonino Libânia Maria Neves Santos e a diretora da Escola Maria Minervina Maria das Neves Trajano Queiroz que tão bem nos acolheram e colaboraram para a realização da pesquisa, em nome das quais agradeço a todos os Professores e funcionários;
- ✓ Aos colegas e amigos de turma pela amizade e acolhimento no decorrer desses dois anos de curso, especialmente a Amaro Lafayette Nobre Formiga Filho, Francisco Jadson Lima, Klênia Félix, Vanda Sanderana Macêdo Carneiro e Vera Lúcia Sales Barbosa com os quais tive a oportunidade de conviver um pouco mais, dividir momentos de incerteza, dúvidas e alegrias;
- ✓ A todos os meus amigos e familiares que estão sempre ao meu lado, torcendo pelo meu sucesso;
- ✓ A todos aqueles, que embora não citados participaram direta ou indiretamente no decorrer de mais essa conquista em minha vida.

**“Seja sobre nós a graça do Senhor, nosso Deus.
Confirma sobre nós a obra das nossas mãos,
Sim, confirma a obra das nossas mãos.”**

(Salmo 90:17)

RESUMO

Numerosos estudos tem demonstrado a efetividade de enxaguatórios bucais contendo agentes ativos antimicrobianos para prevenir e controlar o biofilme supragengival e a gengivite, especialmente quando utilizados como auxiliares de regimes de higiene bucal. Pesquisas *in vitro* e clínicas com produtos de origem vegetal tem apresentado resultados promissores para o controle desse biofilme. Dentre esses, a *Punica granatum* Linn. mostra atividade antimicrobiana e antiaderente sobre microrganismos formadores do biofilme dental. O objetivo deste estudo foi avaliar a efetividade clínica de um enxaguatório à base de *Punica granatum* Linn. sobre o biofilme dental e inflamação gengival em escolares. Foi realizado um estudo longitudinal prospectivo, do tipo ensaio clínico duplo cego, utilizando o digluconato de clorexidina como substância controle positivo, em duas escolas públicas no município de Campina Grande-PB, Brasil. A amostra foi composta por 35 escolares na faixa etária de nove a 12 anos que foram divididos em dois grupos. No grupo A, os escolares utilizaram um enxaguatório de clorexidina a 0,12% duas vezes ao dia durante 14 dias e no grupo B os pesquisados utilizaram um enxaguatório de romã a 6,25%, seguindo o mesmo protocolo utilizado pelo grupo A. Foram avaliados os Índices de Placa (IP) e Índice de Sangramento à Sondagem (ISS) nos dias 0, 7 e 14, assim como foi mensurada a contagem de *Streptococcus* orais da saliva coletada nos dias 0 e 14. Os dados foram avaliados através do software SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) para Windows®, versão 17.0, e analisados por meio de estatística descritiva e inferencial uni e bivariada, utilizando-se o teste t de *Student* para analisar as diferenças entre os grupos com um nível de significância de 5% ($p < 0,05$). A análise estatística mostrou que a romã reduziu as médias do IP e da contagem de *Streptococcus* orais, embora a redução destes parâmetros tenham sido significativos no grupo que utilizou a clorexidina. Observou-se uma redução da média do ISS nos dois grupos, sem diferença estatisticamente significativa entre eles. Concluiu-se que o enxaguatório de romã apresentou efetividade para o controle do biofilme dental e inflamação gengival, sugerindo que esse possa ser utilizado com eficácia e segurança como produto fitoterápico para higiene bucal.

PLAVRAS-CHAVE: Placa Dental; Fitoterapia; Plantas Medicinais; *Punica granatum*

ABSTRACT

Numerous studies researches have demonstrated the effectiveness of mouthrinses containing antimicrobial active ingredients in preventing and controlling both supragingival biofilm and gingivitis, specially when used adjunctively to mechanical oral hygiene regimens. *In vitro* and clinical research on products of plant origin have shown promising results for the control of biofilm. Among these, the *Punica granatum* Linn shows antimicrobial and antiadherent activity against dental biofilm microorganisms. The aim of this study was to evaluate the clinical effectiveness of a mouthwash of *Punica granatum* Linn. against biofilm and gingival inflammation in school children. A clinical prospective longitudinal, double-blind trial was carried, using chlorhexidine digluconate as control group in two public schools in the city of Campina Grande-PB, Brazil. The sample consisted of 35 children with 9-12 years-old who were divided into the following two groups. The group A, used a mouthwash with chlorhexidine 0.12% twice daily for 14 days and group B used a mouthwash pomegranate to 6.25%, following the same protocol used by the group A. The Plaque Index (IP) and Index Bleeding on Probing (ISS) were assessed at days 0, 7 and 14, as well as was measured counts Streptococcus oral saliva collected at days 0 and 14. The data were analyzed with SPSS, version 17.0 using descriptive and inferential uni and bivariate statistics, and through analysis of the t *Student* test to assess differences between groups, using a significance level of 5% ($p < 0.05$). Statistical analysis showed that pomegranate reduced the mean count of IP and oral Streptococcus, although the reduction of these parameters have been significant in the control group. It was showed a reduction in the mean Gingival Bleeding Index (ISS) in both groups, with no statistically significant difference between them. It was concluded that the mouthwash pomegranate were effective in controlling biofilm and gingival inflammation, suggesting that it can be used effectively and safely as a phytoterapic product for oral hygiene.

KEYWORDS: Dental Plaque; Phytotherapy; Plants Medicinal; *Punica granatum*

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

FOTOGRAFIA 1-	Enxaguatório de Clorexidina (A) e Romã (B), Farmácia Manipulação Dilecta, João Pessoa – PB, Brasil.....	41
FOTOGRAFIA 2-	Evidenciação do biofilme dental para aplicação do Índice de Higiene Oral Simplificado (IHO-S).....	44
FOTOGRAFIA 3-	Aplicação do Índice de Placa (IP).....	45
FOTOGRAFIA 4-	Aplicação do Índice de Sangramento à Sondagem (ISS).....	47
FOTOGRAFIA 5a-	Contagem de <i>Streptococcus</i> orais antes da ação dos enxaguatórios (coleta 1, diluição 1).....	49
FOTOGRAFIA 5b-	Contagem de <i>Streptococcus</i> orais após a ação dos enxaguatórios (coleta 2, diluição 1).....	49

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1-	Fórmula do Enxaguatório de Clorexidina.....	40
QUADRO 2-	Fórmula do Enxaguatório de Romã.....	40

LISTA DE TABELAS

TABELA 1-	Escala para interpretação do teste estatístico Kappa.....	43
TABELA 2-	Distribuição absoluta e percentual dos escolares segundo os dados de caracterização sócio-econômica, Campina Grande –PB, 2012.....	50
TABELA 3-	Distribuição absoluta e percentual dos escolares segundo os dados relacionados com a higiene bucal, Campina Grande –PB, 2012.....	51
TABELA 4-	Distribuição absoluta e percentual dos escolares segundo o tempo do último tratamento odontológico e hábitos bucais, Campina Grande –PB, 2012.....	52
TABELA 5-	Correlação dos índices bucais com os grupos avaliados, Campina Grande –PB, 2012.....	53
TABELA 6-	Correlação da redução dos índices bucais com os grupos avaliados, Campina Grande –PB, 2012.....	54
TABELA 7-	Distribuição da contagem de <i>Streptococcus</i> por coleta segundo o grupo, Campina Grande –PB, 2012.....	55
TABELA 8-	Avaliação dos índices bucais em função do gênero dos participantes, Campina Grande –PB, 2012.....	56
TABELA 9-	Avaliação dos índices bucais em função do perfil sócio-econômico, Campina Grande –PB, 2012.....	57
TABELA 10-	Avaliação dos índices bucais em função do grau de escolaridade dos pais, Campina Grande –PB, 2012.....	57
TABELA 11-	Correlação entre os índices bucais com a idade e o número de escovações, Campina Grande –PB, 2012.....	58

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1-	Distribuição dos escolares segundo o grupo.....	52
GRÁFICO 2-	Avaliação do Índice de Placa (IP) nos grupos examinados.....	53
GRÁFICO 3-	Avaliação do Índice de Sangramento (ISS) nos grupos examinados.....	54
GRÁFICO 4-	Avaliação do Índice de Placa em relação ao gênero dos participantes..	56
GRÁFICO 5-	Avaliação do Índice de Placa em relação ao nível de escolaridade dos pais.....	58

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1-	Fluxograma do desenho do estudo.....	39
FIGURA 2-	Sonda preconizada pela OMS para exame clínico.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CPC – Cloreto de Cetilpiridínio

DL₅₀ – Dose Letal

IGAs – Imunoglobulina A

IHO-S – Índice de Higiene Oral Simplificado

IP – Índice de Placa

ISS – Índice de Sangramento a Sondagem

OMS - Organização Mundial da Saúde

SUS - Sistema Único de Saúde

UFC - Unidade Formadora de Colônia

ML – mililitro

WHO – World Health Organization

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	20
2.1	CONSIDERAÇÕES SOBRE O BIOFILME DENTAL.....	20
2.2	MÉTODOS PARA CONTROLE DO BIOFILME DENTAL.....	21
2.3	AGENTES QUÍMICOS PARA AUXILIAR NO CONTROLE DO BIOFILME DENTAL.....	23
2.4	FITOTERAPIA EM SAÚDE BUCAL.....	28
2.5	<i>Punica granatum</i> Linn. (ROMÃ) E SUA UTILIZAÇÃO EM ODONTOLOGIA.....	31
3	OBJETIVOS.....	36
3.1	OBJETIVO GERAL.....	36
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	36
4	METODOLOGIA.....	37
4.1	DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	37
4.2	LOCAL DO ESTUDO.....	37
4.3	UNIVERSO E AMOSTRA.....	37
4.3.1	Seleção da Amostra.....	37
4.3.1.1	Critérios de Inclusão.....	38
4.3.1.2	Critérios de Exclusão.....	38
4.3.2	Divisão da Amostra.....	38
4.4	EXPERIMENTO.....	39
4.4.1	Composição dos Enxaguatórios.....	39
4.4.1.1	Preparação do Enxaguatório de Clorexidina.....	39
4.4.1.2	Preparação do Enxaguatório de Romã.....	40
4.4.2	Tratamento.....	41
4.5	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	42
4.6	MATERIAIS.....	42
4.7	COLETA DE DADOS.....	43
4.7.1	Instrumentos de Pesquisa.....	43

4.7.1.1	Entrevista.....	43
4.7.1.2	Índice de Higiene Oral Simplificado (IHO-S).....	44
4.7.1.3	Índice de Placa (IP).....	44
4.7.1.4	Índice de Sangramento à Sondagem (ISS).....	46
4.7.1.5	Quantificação Microbiológica de <i>Streptococcus</i> Orais.....	47
4.7.1.5.1	Técnica de Coleta.....	47
4.7.1.5.2	Técnica de Cultivo.....	47
4.7.1.5.3	Técnica de Contagem.....	48
4.8	ANÁLISE DOS DADOS.....	49
5	RESULTADOS.....	50
6	DISCUSSÃO.....	59
7	CONCLUSÃO.....	64
	REFERÊNCIAS.....	65

APÊNDICES

ANEXOS

1 INTRODUÇÃO

Diversos estudos realizados ao longo dos anos conseguiram identificar e compreender os sucessivos eventos que ocorrem durante a formação do biofilme dental, como também a associação que existe entre a composição e organização desse biofilme e a saúde dos tecidos bucais (BOWEN; KOO, 2011). Essa comunidade microbiana se adere firmemente as superfícies duras e não renováveis encontradas na cavidade bucal como dentes, restaurações, aparelhos protéticos e implantes (DUARTE; LOTUFO; RODRIGUES, 2010). Seu acúmulo sobre a superfície dos dentes e tecidos gengivais pode acarretar no desenvolvimento de duas doenças bucais de origem infecciosa que afetam os humanos, que são a cárie dentária e a doença periodontal (SIGNORETO et al., 2010).

O controle mecânico do biofilme dental é considerado pelos cirurgiões dentistas o método mais eficaz para a higiene bucal (HAFFAJEE; YASKELL; SOCRANSKY, 2008; LOTUFO et al., 2009; GUNSOLLEY, 2010). Todavia, a manutenção das superfícies dentárias livres do biofilme não é uma tarefa fácil e, pode não estar sendo desenvolvida de forma efetiva pela maioria da população. Assim, tem ocorrido um crescente interesse por agentes químicos que complementem a remoção mecânica do biofilme na cavidade bucal (CORTELLI; THÉNOUX, 2007; HAFFAJEE; YASKELL; SOCRANSKY, 2008; OPPERMANN et al., 2010).

Alguns agentes químicos tem sido avaliados e estão disponíveis no mercado odontológico para serem utilizados como agentes coadjuvantes antiplaca na prática clínica odontológica. Dentre esses, tem-se os surfactantes, óleos essenciais e antimicrobianos como bisbiguanidas, compostos fenólicos, sais de amônio quaternário, fluoretos e derivados do iodo que foram formulados para auxiliar o controle potencial do biofilme dental (FURIGA et al., 2008; MARSH, 2010). Porém, alguns desses produtos apresentam algumas restrições quanto ao seu uso ou possuem um tempo de ação limitado (LOTUFO et al., 2009) o que justifica a necessidade de se investigar novos agentes que possam ser utilizados para auxiliar a prevenção da cárie dental e da inflamação gengival.

Vários produtos de origem vegetal são utilizados na medicina popular como agentes antissépticos. Na Odontologia, algumas plantas medicinais, devido às suas propriedades terapêuticas, são muito utilizadas para controle de afecções bucais, desde tempos muito antigos (GROPPO et al., 2008; FRANCISCO, 2010). Estudos *in vitro* tem comprovado o potencial antimicrobiano e antiaderente de algumas dessas plantas sobre microrganismos do

biofilme dental (ALVES et al., 2008; ARAÚJO et al., 2009), e pesquisas *in vivo* com Própolis (DRUMOND et al., 2006; PEREIRA et al., 2011), Pitanga (*Eugenia uniflora*) (JOVITO et al., 2009), Alecrim Pimenta (*Lippia sidoides*) (RODRIGUES et al., 2009), Tanchagem (*Plantago major*) (DANTAS, 2010), Calêndula (*Calendula officinales*) (VINAGRE et al., 2011) tem sido desenvolvidas para avaliar sua efetividade sobre o controle do biofilme e da inflamação gengival.

Dentre essas plantas, um arbusto popularmente conhecido por romanzeira (*Punica granatum* Linn.), nativo da região mediterrânea e cultivado em áreas de clima quente tem sido muito estudado. Na medicina tradicional, a romã tem sido utilizada para o tratamento de algumas doenças como úlceras, febre, diarreia e outras infecções microbianas (KAUR et al., 2006; AL-ZOREKY, 2009; ENDO et al., 2010).

Por ser rica em compostos fenólicos como taninos e antocianinas (CASOROTO; LARA, 2010), flavonoides (AL-ZOREKY, 2009), entre outros constituintes que possuem propriedades antioxidantes, seu potencial anticarcinogênico, antiinflamatório e antimicrobiano tem sido relacionado a esses agentes ativos presentes em diferentes partes da planta (KAUR et al., 2006). Os resultados de estudos *in vitro* e em humanos sugerem que a casca dos frutos apresenta atividade antibacteriana sobre microrganismos presentes na microbiota da cavidade bucal (PEREIRA et al., 2005; VASCONCELOS et al., 2006; BHADBHADE et al., 2011).

A luz desses conhecimentos, e considerando a necessidade de se prevenir a cárie dentária e a gengivite em crianças através da remoção satisfatória do biofilme dental, esse estudo objetiva avaliar a efetividade clínica de um enxaguatório do extrato da casca do fruto de *Punica granatum* L. (romã) sobre os índices de saúde bucal (Índice de Placa e Índice de sangramento à Sondagem) e análise microbiológica da saliva em escolares.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE BIOFILME DENTAL

A cavidade bucal é habitada por um complexo ecossistema composto por centenas de espécies microbianas, sendo as bactérias as mais comuns e numerosas, encontradas principalmente sobre superfícies não descamativas como os dentes, convivendo de forma harmônica com o hospedeiro (SIGNORETO et al., 2010; MARSH, 2010). Um componente fundamental desse ecossistema é o biofilme dental que constituem comunidades de microrganismos bacterianos bem organizadas aderidas a superfície dos dentes, embebido por uma matriz de polímeros de origem salivar e bacteriana (MARSH, 1992).

A formação do biofilme dental ocorre naturalmente e de forma ordenada, sendo a superfície dos dentes inicialmente envolvida por uma camada de glicoproteínas de origem salivar, denominada película adquirida composta por constituintes como: lisozimas, Imunoglobulinas A de secreção (IgA_S), mucinas e proteínas ricas em prolinas que são absorvidas rapidamente pelo esmalte dentário limpo, e influenciam o desenvolvimento do biofilme dental (TREIN et al., 2006; AL-AHMAD et al., 2009; WOLFF; LARSON, 2009; LANG; MOMBELLI; ATTSTÖM, 2010; BOWEN; KOO, 2011).

As bactérias que iniciam a colonização da película são cocos Gram-positivos como os *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus mutans* e bastonetes Gram-positivos como *Actinomyces spp.* que crescem, modificam o ambiente e apresentam receptores em sua superfície os quais permitem a co-agregação de microrganismos mais exigentes que não conseguem se ligar diretamente a película e se multiplicar na presença de oxigênio (MARSH, 1992; MARSH, 2010). Os *Lactobacilos casei* não possuem a capacidade de se aderir diretamente a superfície do dente e dependem de interações com outros microrganismos, como os *Streptococcus mutans*, para colonizarem o biofilme dental, estando associados a progressão das lesões cariosas (ALVES et al., 2010; WEN et al., 2010).

A cárie dentária é a doença de origem infecciosa mais comum em humanos, sendo a causa predominante de perda dos dentes em crianças e adolescentes (AGARWAL; NAGESH, 2011). Esta doença está associada a ingestão frequente de carboidratos fermentáveis, como a sacarose as quais servem como substrato para a síntese de polissacarídeos extracelulares e intracelulares, proporcionando aos microrganismos do biofilme um tempo de exposição

prolongado a um pH baixo, e assim selecionando espécies bacterianas acidogênicas e acidúricas como os *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus spp.* (PAES LEME et al., 2006; MARSH, 2010). O metabolismo da sacarose resulta na síntese de polissacarídeos intracelulares e extracelulares os quais são importantes para a nutrição da comunidade microbiana e consolidam a adesão dos microrganismos sobre a superfície dos dentes. O seu metabolismo libera ácidos, iniciando um processo conhecido como desmineralização (MENEZES; CORDEIRO; VIANA, 2006; FURIGA et al., 2008).

A gengivite é uma resposta inflamatória do tecido gengival em consequência do acúmulo de biofilme bacteriano sobre a gengiva marginal, e resultante de uma higiene deficiente. Assim essa inflamação ocorre pela proliferação não específica de microrganismos normalmente encontrados no sulco gengival que formam um biofilme patogênico sobre a margem gengival com potencial para iniciar a gengivite, sendo muito comum em crianças e adolescentes jovens (OH; WANG, 2002; MARSH; MARTIN, 2005; MORAN et al., 2008). Quando não tratada, a inflamação crônica do tecido gengival pode progredir para a periodontite, resultando na destruição dos tecidos de suporte do dente e, geralmente associada a alguns microrganismos Gram-negativos como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e alguns pigmentados como *Prevotella intermedia* (MARSH, 1992; JAYAPRAKASH; VEERESHA; HIREMATH, 2007; BHADBHADE et al., 2011).

2.2 MÉTODOS PARA CONTROLE DO BIOFILME DENTAL

A remoção mecânica do biofilme dental, através do uso correto de escovas é considerada o principal recurso para uma boa higiene bucal (CORTELLI; THÉNOUX, 2007). Entretanto, a falta de motivação e destreza manual de muitos indivíduos para realizar movimentos efetivos de limpeza de todas as superfícies dos dentes, o uso de aparelhos ortodônticos, a presença de dentes mal posicionados, entre outros fatores, podem dificultar o controle mecânico do biofilme dental (CORTELLI; THÉNOUX, 2007; YÉVENES et al., 2009; BHADBHADE et al., 2011).

A higiene bucal é considerada um procedimento simples de ser executado por adolescentes. Entretanto, eles não se comprometem tão facilmente a executá-los regularmente (VALENTE, 1998) e, por isso, esse período é considerado de risco para doenças bucais como a cárie e a gengivite (DAVOGLIO et al., 2009). Assim, programas de motivação e educação em relação à higiene bucal, com métodos simples e eficientes para remoção do biofilme dental e prevenção das doenças associadas ao seu acúmulo são fundamentais para se tentar

modificar o comportamento desses indivíduos e conscientizá-los a exercer um efetivo controle do biofilme dental (TOASSI; PETRI, 2002).

Estudo realizado por Silveira; Oliveira; Padilha (2002) avaliou a eficácia de um programa de saúde bucal na redução da placa visível e sangramento gengival em escolares com idade entre quatro e 13 anos, em uma unidade de saúde, no município do Rio de Janeiro no ano de 1999. Os pesquisadores avaliaram os índices no início e ao final de um ciclo de atendimento composto por atividades promocionais de saúde com escovação supervisionada semanal, orientação de dieta em abordagem individual e coletiva, na presença de pais e/ou responsáveis. Os autores observaram que o programa educativo adotado mostrou-se eficaz na redução do biofilme. Porém, embora tenha ocorrido uma redução do sangramento gengival, a presença de superfícies sangrantes, após o protocolo de atividades proposto, indica que uma melhor abordagem para motivar os escolares a realizar uma higiene bucal rotineira deve ser estudada.

Toassi; Petry (2002) avaliaram duas estratégias motivacionais em relação ao controle do biofilme dental e sangramento gengival em escolares, em um município do Rio de Janeiro. As crianças foram alocadas aleatoriamente em dois grupos. As do grupo A participaram de um programa de motivação em sessão única e as do grupo B participaram de um programa de motivação em quatro sessões, sendo avaliados os índices de placa visível e sangramento gengival antes e após as intervenções motivacionais. Os pesquisadores observaram que ocorreu uma redução dos índices avaliados, sendo que no grupo B foi mais significativa, pelo reforço continuado nas orientações sobre prevenção e promoção em saúde bucal oferecido durante todo o período de avaliação.

Para Antonio et al. (2005) os programas preventivos coletivos para o controle do biofilme apresentam resultados frustrantes a longo prazo pela dificuldade de se modificar o comportamento dos indivíduos em relação a higiene bucal, influenciados por valores, práticas e atitudes transmitidas cotidianamente por outros indivíduos. Assim, segundo os autores é necessário reorganizar os programas de educação em saúde para que eles possam conscientizar os sujeitos da necessidade de se adquirir hábitos que possam contribuir para a boa saúde da cavidade bucal.

Segundo Ernst et al. (2005) uma frequência de duas escovações diárias, em indivíduos bem instruídos, é considerado um nível mínimo de higiene bucal satisfatória. Além disso, apenas a escova dental pode não ser suficiente para realizar uma efetiva higiene bucal e pode ser suplementada por outros métodos mecânicos, como o fio dental, escovas interdentais para limpeza de áreas inter-proximais. Porém, observa-se que uma pequena parcela da

população faz uso do fio dental regularmente e realiza uma higiene interdental efetiva (CIANCIO, 2003). Assim, o uso de soluções para auxiliar a prática convencional poderia ter um papel decisivo no controle do biofilme. Por isso, diversos estudos tem sido realizados para avaliar o potencial de agentes químicos, especialmente na forma de bochechos, como auxiliares na remoção e/ou desorganização dessa microbiota (ERNEST et al., 2005; HAFFAJEE; YASKELL SOCRANSKY, 2008; LOTUFO et al., 2009; YÉVENES et al., 2009; OPPERMANN et al., 2010; BHADBHADE et al., 2011).

Esses agentes químicos tem sido adicionados em enxaguatórios e dentifrícios para auxiliar os métodos mecânicos a reduzir a existência, impedir a formação de um novo biofilme e inibir de forma seletiva o crescimento de bactérias específicas diretamente relacionadas com a cárie e doença dos tecidos periodontais (MARSH, 1992; GROppo et al., 2008, FILOGÔNIO et al., 2011).

2.3 AGENTES QUÍMICOS PARA AUXILIAR NO CONTROLE DO BIOFILME DENTAL

O uso de soluções para a higiene bucal é uma prática muito antiga dos humanos, sendo os primeiros relatos atribuídos a população Chinesa. No entanto, apenas no século passado, enxaguatórios bucais foram especificamente formulados e comercialmente disponibilizados para o controle do biofilme supragengival e da gengivite (MORAN, 2008).

A efetividade dos bochechos disponíveis comercialmente é variável e depende da composição de seus ingredientes ativos e outras substâncias adicionadas na solução. Suas características são avaliadas pela observação de alguns critérios, como: possuir atividade antimicrobiana sobre diversas bactérias presentes no biofilme, boa substantividade, ser agradável ao paladar, ter um possível efeito anti-inflamatório, promover a sensação de hálito fresco (ELEY, 1999).

De acordo com essas propriedades as soluções bochecho tem sido classificadas em três grupos: agentes com largo espectro antimicrobiano e efetividade antiplaca, boa substantividade e que previnem o desenvolvimento da gengivite. Nesse grupo estão incluídos a clorexidina, o clorato de sódio acidificado, saliflúor e o delmopinol; os bochechos que inibem a formação do biofilme e podem ser utilizados como auxiliares da higiene mecânica como o cloreto de cetilpiridínio, o triclosan e os óleos essenciais; e, os bochechos que apresentam moderado ou baixo efeito inibitório sobre a formação do biofilme como a hexetidina, agentes oxigenantes, iodo polvidine, e agentes naturais contidos na sanguinarine (ELEY, 1999; MORAN, 2008).

Os compostos de amônio quaternário representam uma classe de agentes bactericidas de largo espectro utilizados com antissépticos e conservantes (SANDT et al., 2007). Compostos de amônio quaternário são amplamente utilizados em bochechos, mas tem atividade moderada sobre o biofilme dental (ELEY, 1999). O Cloreto de Cetilpiridínio (CPC) é uma substância monocatiônica que inativa enzimas associada a membrana celular da bactéria, diminuindo o seu metabolismo e capacidade de se aderir a superfície dentária ou interfere na permeabilidade da membrana, favorecendo a sua lise (SEMENOFF; SEMENOFF SEGUNDO; BIASOLI, 2008; THOMAS, 2011). Geralmente o CPC tem sido utilizado na concentração de 0,05%, apresentando um período de ação de aproximadamente 3 a 5 horas, sendo rapidamente absorvido pelos tecidos bucais (ADDY; MORAN, 2010; MARSH, 2010).

Segundo Herrera et al. (2005), devido aos limitados benefícios do CPC, estudos envolvendo a associação dessa substância a outros agentes químicos tem sido propostos e realizados. Os pesquisadores avaliaram em estudo *in vivo* do tipo crossover, em humanos saudáveis, a ação do CPC a 0,05% associado ao hidrocloreto de benzidamina a 0,15%. Inicialmente os sujeitos selecionados recebiam uma profilaxia para remoção de biofilme, cálculo ou manchas sobre os dentes e, durante os protocolos de tratamento, com duração de 4 dias, foram instruídos a não realizar qualquer medida de higiene bucal, sendo realizados 3 bochechos diários, após o café, almoço e janta. Através da análise dos índices de placa, sangramento gengival e avaliação microbiana de bactérias do fluido gengival, os autores observaram que as substâncias associadas inibiram a formação do biofilme dental com maior efetividade que o CPC isolado.

O Cloridrato de Delmopinol é um agente que possui habilidade para inibir ou interferir na formação do biofilme dental (ADDY; MORAN; NEWCOMBE, 2007). Estudos sugerem que esse agente pode interferir no processo de formação da matriz de polissacarídeos do biofilme, reduzindo assim a aderência dos microrganismos (ELEY, 1999).

Estudo *in vivo* de Zee; Rundegren; Attstrom (1997) avaliou a efetividade de bochechos de delmopinol, nas concentrações de 0,1 e 0,2%, sobre o controle do biofilme e da inflamação gengival, durante cinco dias sem nenhum procedimento de higiene bucal, em indivíduos saudáveis e que receberam profilaxia dental e orientações de higiene bucal, nas três semanas anteriores ao período de avaliação. Os resultados sugeriram que os bochechos reduzem a formação do biofilme dental e a gengivite.

O Triclosan (triclora-2-hidroxidifenílico) é um agente antimicrobiano não iônico pertencente ao grupo dos fenóis que apresenta um largo espectro antimicrobiano e baixa

toxicidade (ELEY, 1999; AQUINO et al., 2004; PIRES; ROSSA JÚNIOR; PIZZOLITTO, 2007). Essa substância é utilizada em produtos para higiene corporal como sabonetes, cremes e desodorantes e foi incorporado pioneiramente em uma formulação para higiene bucal na Europa em 1985 (JONES et al., 2000; TANOMARU et al., 2008). Esse agente químico tem sido incorporado em cremes dentais e bochechos em diferentes concentrações, resultando em moderada, mas eficaz atividade sobre o biofilme dental e a gengivite (PIRES; ROSSA JÚNIOR; PIZZOLITTO, 2007, ADDY; MORAN, 2010). Estudo de Villalpando et al. (2010) mostrou que essa substância, presente em formulações de dentifrícios e enxaguatórios, apresentou efetividade no controle do biofilme dental e da gengivite. Sua atividade antiinflamatória está associada a capacidade que possui de inibir a síntese de prostaglandinas originadas do metabolismo do ácido araquidônico (JONES et al., 2000; VILLALPANDO et al., 2010).

A atividade antimicrobiana do Triclosan está associada a sua capacidade de se difundir dentro da parede celular da bactéria e atuar sobre a membrana citoplasmática bacteriana (JONES et al., 2000; AQUINO et al., 2004). Porém, devido a sua rápida liberação, o Triclosan apresenta baixa substantividade (AQUINO et al., 2004). Jenkins; Addy; Newcombe (1991) mostraram que o triclosan reduziu a contagem de colônias bacterianas por aproximadamente três horas. Assim, o triclosan tem sido associado a outras substâncias como o citrato de zinco, em produtos para a higiene bucal, para aumentar sua eficácia antimicrobiana (TANOMARU et al., 2008).

Os produtos contendo Óleos Essenciais conhecidos comercialmente como Listerine® são compostos por uma combinação de: timol (0,064%), mentol (0,042%), eucaliptol (0,092%), e salicilato de metila (0,060%), além de álcool com concentrações que variam entre 21,6% e 26,9%. O Listerine® foi desenvolvido em 1879 e sua fórmula era utilizada inicialmente como antisséptico cirúrgico (LOTUFO et al., 2009; FINE, 2010).

A atividade bactericida não-específica dos enxaguatórios contendo óleos essenciais tem sido mostrada em estudos *in vitro* e em estudos clínicos sobre bactérias Gram positivas e Gram negativas, assim como sobre leveduras (FINE et al., 2005). A ação antimicrobiana sobre bactérias está associada a capacidade desses agentes de romper a membrana celular bacteriana ou inibir a atividade de enzimas, culminando na morte celular dos microrganismos (LOTUFO et al., 2009). Seu efeito bactericida é atribuído a sua habilidade de se difundir rapidamente, dentro de aproximadamente 30 segundos, pela estrutura do biofilme dental (OUHAYOUM, 2003).

Fine et al. (2000) avaliaram a efetividade de óleos essenciais contidos no Listerine® sobre os níveis de *Streptococcus* orais e *Streptococcus mutans* na saliva e biofilme dental. Os autores constataram que ocorreu uma redução de 50,8% dos níveis de *Streptococcus* e de 39,2% de *Streptococcus mutans* na saliva. Os pesquisadores também avaliaram a atividade antimicrobiana *in vitro* desse agente químico sobre cepas de *Streptococcus* e observaram que as mais sensíveis à ação desses óleos foram as espécies *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*.

Estudo *in vivo* em humanos avaliou a efetividade antimicrobiana de um enxaguatório contendo óleos essenciais e 0,09% cloreto de zinco, em um ensaio clínico duplo-cego do tipo crossover. Os pesquisadores colheram amostras de biofilme supragengival e do dorso da língua antes de iniciar o protocolo de tratamento, 12 horas após o primeiro bochecho e ao final de duas semanas após 12 horas de bochecho diário não supervisionado. Os pesquisadores observaram que houve uma significativa redução da contagem bacteriana dos biofilmes analisados, sendo que o percentual médio de redução do biofilme supragengival variou de 56,3 a 95,3% (FINE et al., 2005).

Diversos agentes antissépticos do grupo das bisbiguanidas possuem atividade antiplaca, como a clorexidina e o alexidine (ELEY, 1999). A clorexidina é encontrada nas formas de sais de digluconato, acetato e hidrocloreto e possui forte natureza dicatiônica (ADDY; MORAN, 2010). O digluconato de clorexidina é molécula simétrica que possui dois anéis 4 cloro-fenil e dois grupos etano pentânicos, ligados por uma cadeia central do hexametileno. Essa droga antimicrobiana sintética é amplamente utilizada como um anti-séptico de largo espectro na medicina clínica e veterinária desde 1953. Seu uso tópico é considerado seguro, já que é fracamente absorvida pelo trato gastro-intestinal e apresenta baixa toxicidade (DL50 oral é igual a 1800mg/kg) (ELEY, 1999; STOEKEN et al., 2007; SILVA et al., 2011).

A clorexidina está disponível na Europa há mais de quatro décadas e foi utilizada na Odontologia inicialmente para desinfecção pré-cirúrgica e endodôntica (STOEKEN et al., 2007). Essa substância tem sido usada com sucesso na clínica odontológica (ELEY, 1999) em diferentes veículos como: enxaguatório, géis, sprays, gomas de mascar, dentifrícios e vernizes (AUTIO-GOLD, 2008; OLTRAMARI-NAVARRO et al., 2009), sendo mais comumente utilizadas nas concentrações de 0,12% e 0,20% em bochechos (YÉVENES et al., 2009).

Estudo de Stoeken et al. (2007) avaliou a efetividade da inibição da formação de biofilme dental utilizando a clorexidina spray a 0,12% em relação a clorexidina spray a 0,2% e clorexidina solução a 0,2% , durante três dias, em sujeitos que tinha recebido uma profilaxia para completa remoção do biofilme, confirmada com a utilização de evidenciador de placa.

Os autores observaram que o bochecho de clorexidina a 0,2% foi mais efetivo na inibição da formação do biofilme que o spray.

A clorexidina parece ser o agente químico mais eficaz e, considerado padrão-ouro, para auxiliar no controle dos microrganismos do biofilme dental. Este agente químico tem a capacidade de se adsorver de forma reversível à mucosa bucal, película dental, proteínas salivares e hidroxiapatita e, apresenta boa substantividade, pois é liberada lentamente na cavidade bucal (OUHAYAOUM, 2003; NELSON-FILHO; SILVA, 2005; YÉVENES et al., 2009; MARSH, 2010; AGARWAL; NAGESH, 2011). Esse agente antimicrobiano apresenta amplo espectro de atividade sobre bactérias Gram negativas, Gram positivas e leveduras e seu mecanismo de ação está associado a concentração utilizada. Em altas concentrações, a clorexidina tem ação bactericida, causando dano letal a membrana bacteriana. Já em concentrações sub-letais, esse agente pode interferir sobre o metabolismo das bactérias inibindo: o transporte de açúcares e produção de ácidos por *streptococcus* cariogênicos; várias funções da membrana dos *streptococcus* como a inibição de enzimas responsáveis pela manutenção de um pH intracelular apropriado, caracterizando o seu efeito antimicrobiano seletivo sobre os *Streptococcus mutans* (MARSH, 2010).

Apesar da efetiva ação da clorexidina sobre o controle do biofilme, a recolonização e resistência microbiana tem sido relacionada ao uso prolongado desse agente microbiano. Estudos clínicos mostram que o efeito colateral mais associado a clorexidina é a pigmentação dos dentes. Outros efeitos indesejados como: interferência gustativa, e mais raramente descamação dolorosa e ulceração da mucosa gengival também foram observados (NELSON-FILHO; SILVA, 2005; AUTIO-GOLD, 2008).

Ernst et al. (2005) avaliaram a efetividade clínica e os efeitos colaterais de um bochecho de clorexidina a 0,1% em relação a um bochecho de hexetidina a 0,1%, durante quatro semanas. Os pesquisadores observaram que os índices de placa e sangramento reduziram nos dois grupos. Porém, constataram que o índice de manchamento dos dentes foi superior nos sujeitos incluídos no grupo que utilizaram o bochecho de clorexidina.

A hexetidina é um agente químico antisséptico bucal de largo espectro utilizado há muitos anos. Apresenta atividade antimicrobiana sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, assim como tem efeito fungicida, e seus compostos possuem alta afinidade por proteínas da mucosa bucal e biofilme da superfície dos dentes (ERNST et al., 2005).

Estudo de Sharma et al. (2003) avaliou a efetividade do bochecho de hexetidina na inibição da formação da placa supragengival e redução da gengivite. Os pesquisadores confirmaram a efetividade do bochecho no controle do biofilme e da inflamação gengival,

assim como sua menor tendência para manchar os dentes em relação ao bochecho de clorexidina. Esse achado também foi observado em estudo de Ernst et al (2005), porém, esse agente químico apresenta baixa substantividade (ELEY, 1999) e apresentam baixa a moderada atividade sobre o acúmulo de biofilme (MORAN, 2008).

2.4 FITOTERAPIA EM SAÚDE BUCAL

Desde tempos antigos, os produtos de origem natural, notavelmente as plantas medicinais são utilizadas como importante fonte de agentes terapêuticos para tratamento e cura de enfermidades, na medicina popular tradicional de culturas ocidentais e orientais (CALIXTO, 2005; PINHEIRO; ANDRADE, 2008; GROppo et al., 2008). Os países da América Latina possuem grande parte da biodiversidade existente no mundo, sendo que de 20 a 22% de todas as plantas estão localizadas em terras brasileiras. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) 65 a 80% da população de países em desenvolvimento que tem dificuldade para acessar as terapêuticas medicamentosas da medicina moderna, fazem uso de plantas como recurso terapêutico para os cuidados primários da saúde (CALIXTO, 2005). Segundo a OMS, as plantas medicinais são aquelas que quando aplicadas, sob determinada forma, e utilizadas por uma via de absorção são capazes de provocar um efeito farmacológico (SARTI; CARVALHO, 2004).

No Brasil, muitas pessoas possuem o hábito de cultivar plantas medicinais no quintal de suas residências ou adquiri-las, em mercados e feiras livres, e utilizá-las como remédios segundo os costumes e tradições locais (MACIEL; PINTO; VEIGA JÚNIOR, 2002). Porém, os medicamentos fitoterápicos receberam normatização da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) apenas a partir de 1995. Em 24 de fevereiro de 2000, foi aprovada a Resolução nº 17 que dispõe sobre a regulamentação e registro de medicamentos Fitoterápicos em nosso país (BRASIL, 2000). Em 3 de maio de 2006 foi emitida pelo Ministério da Saúde a Portaria 971 que aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares, estimulando a implantação e implementação das ações e serviços relativos a essas práticas, entre elas a Fitoterapia, no Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 2006). E em 22 de junho de 2006 foi aprovado o Decreto nº 5.813 com o objetivo de garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos.

O uso desses agentes terapêuticos evoluiu ao longo dos séculos e, já se observa a utilização de algumas plantas fundamentada em critérios científicos (LIMA JÚNIOR et al., 2005). Inclusive, no Brasil, em 2011, foi elaborado e disponibilizado à sociedade científica

brasileira o primeiro Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira. Esse formulário contém formulações elaboradas e dispensadas com grau de segurança, embasadas em literatura científica disponibilizada internacionalmente, fornecendo assim maiores conhecimentos a população sobre a biodiversidade brasileira (BRASIL, 2011).

Os produtos de origem natural tem-se mostrado um substituto viável para as substâncias químicas sintéticas. O interesse por esses produtos fitoterápicos tem crescido muito em todo o mundo (CASAROTO; LARA, 2010), como consequência dos efeitos adversos cada vez mais frequentes dos medicamentos obtidos por síntese, assim como a grande variedade de plantas medicinais com atividade antimicrobiana, antiinflamatória, ansiolítica ou sedativa, demonstradas em estudos clínicos (PINHEIRO; ANDRADE, 2008).

Na Odontologia, os fitoterápicos tem sido utilizados como agentes antiinflamatórios, antibióticos, analgésicos, sedativos, e também como irrigantes endodônticos (GROPPO et al., 2008). No entanto, poucas plantas medicinais têm sido cientificamente estudadas para determinar a qualidade, segurança e eficácia dos compostos. Assim, estudos farmacológicos são essenciais para comprovar a atividade curativa de produtos de origem vegetal, para que possam ser utilizadas de forma segura para o tratamento de diversas doenças que acometem os seres humanos (CALIXTO, 2005; SANTOS et al., 2011).

Muitos produtos com ingredientes de origem vegetal estão sendo testados por exercer influência inibitória sobre o crescimento de microrganismos do biofilme dental (LIMA JÚNIOR et al., 2005). Pesquisas *in vitro* tem comprovado o potencial antimicrobiano e antiaderente de algumas plantas medicinais sobre várias espécies de microrganismos do biofilme dental (PEREIRA et al., 2006; VASCONCELOS et al., 2006; VINAGRE et al., 2011). Dentre essas, estudos utilizando extratos de *Rosmarinus officinalis* Linn., (alecrim), *Anacardium occidentale* Linn. (cajuzeiro), *Schinus terebinthifolius* (Aroeira), *Solidago microglossa* (Arnica) mostram que essas plantas apresentam atividade antimicrobiana sobre bactérias presentes no biofilme dental (ALVES et al., 2008; ARAÚJO et al., 2009; FREIRES et al., 2010).

Segundo Silva et al. (2011) o extrato etanólico do *Croton sonderianus* (marmeleiro), apresenta atividade antimicrobiana *in vitro* sobre as espécies de *S. salivarius*, *S. mutans*, *S. mitis*, *S. sanguis* e *S. sobrinus*, sugerindo a possibilidade de se empregar esse extrato como meio alternativo no controle desses patógenos na prática clínica odontológica.

Estudo *in vitro* de Pieri et al. (2012) mostrou que o óleo de copaíba (*Copaifera officinalis*) apresenta atividade bacteriostática sobre *Streptococcus mutans* em baixas concentrações e pode ser uma opção fitoterápica a ser utilizada sobre essa bactéria cariogênica

e, assim atuar na prevenção da cárie dentária. Estudo *in vitro* de Lee et al. (2011) avaliou e mostrou que o extrato de *Aralia continentalis* oferece propriedade anticariogênica, pois apresenta atividade inibitória sobre o crescimento de *Streptococcus mutans*, como também inibe a produção de ácidos e síntese de glucanos insolúveis.

Pereira et al. (2005) enfatizam que apesar de estudos *in vitro* mostrarem o potencial antimicrobiano de produtos de origem vegetal sobre várias espécies de microrganismos da microbiota bucal, esses produtos foram pouco estudados em pesquisas *in vivo*. Dentre essas, pesquisas clínicas em humanos utilizando própolis (ALMEIDA et al., 2006), *Eugenia uniflora* L. (pitanga) (JOVITO et al., 2009), *Calendula officinalis* (VINAGRE et al., 2011), *Ocimum sanctum* (tulsi) (AGARWAL; NAGESH, 2011), sugerem que esses produtos podem ser utilizados como agentes terapêuticos auxiliares para controle do biofilme dental e melhora da condição periodontal.

Estudo *in vitro* de Botelho et al. (2007) avaliou a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* sobre cepas de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius* e *Candida albicans*. Os pesquisadores constataram que os compostos fenólicos do óleo exibiram atividade antimicrobiana e antifúngica. Rodrigues et al. (2009) avaliaram a efetividade antiplaca e antigengivite de um gel contendo *Lippia sidoides* em humanos. Os autores observaram que o fitoterápico foi efetivo para o controle da gengivite, corroborando os resultados do estudo laboratorial de Botelho et al. (2007).

Almeida et al.(2006) avaliaram a efetividade clínica de uma solução anti-séptica a base de própolis em crianças cárie ativas. Os pesquisadores observaram que a solução de própolis a 6,25% reduziu significativamente os níveis de *Streptococcus mutans* na saliva após 15 dias de uso consecutivo do bochecho e teve ação sobre a condição gengival e acúmulo de biofilme, demonstrando comportamento semelhante ao da clorexidina a 0,12%. Pereira et al. (2011) avaliaram a ação de um bochecho de própolis verde brasileira a 5% sem álcool sobre o controle do biofilme e da gengivite em sujeitos saudáveis, durante 90 dias. Observou-se que houve uma redução significativa de 24% e 40% dos índices de placa e gengival, respectivamente, sugerindo que esse agente pode ser utilizado para a prevenção e tratamento das doenças periodontais.

2.5 *Punica granatum* Linn.(ROMÃ) E SUA UTILIZAÇÃO EM ODONTOLOGIA

A medicina tradicional tem se destacado como fonte de compostos alternativos para o uso na terapêutica de diversas doenças (PIERI et al., 2010). A *Punica granatum* L. é uma planta medicinal originária do Oriente Médio e cultivada em áreas de clima quente como a região do Mediterrâneo, a China, Índia e a América (Al-ZOREKY, 2009; ENDO et al., 2010). Esse arbusto pertence a família das Punicáceas e várias partes como: frutos, casca do caule, flores, folhas e raízes são muito utilizados como remédios na medicina tradicional, em diversas partes do mundo, e apresentam interessantes propriedades farmacológicas (KAUR et al., 2006; LANSKY; NEWMAN, 2007; Al-ZOREKY, 2009).

Relatos mostram que o consumo dos frutos frescos e do suco ocorre desde tempos muito antigos e o interesse de pesquisadores em relação à ação da romã sobre a prevenção e tratamento de doenças tem aumentado nos últimos anos (VIUDA-MARTOS; FERNÁNDEZ-LÓPEZ; PÉREZ-ÁLVAREZ, 2010). Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que os frutos apresentam ação antioxidante, antidiabética, antiinflamatória, anticarcinogênica, antiviral e potencial atividade antimicrobiana (ENDO et al., 2010; VIUDA-MARTOS; FERNÁNDEZ-LÓPEZ; PÉREZ-ÁLVAREZ, 2010).

As atividades antitumoral e antiangiogênica foram avaliadas por Oliveira et al. (2010). Os pesquisadores constataram em estudo *in vitro* que os extratos etanólicos da folha e do fruto produziram efeito citotóxico sobre células de K-562 e de células do Tumor Ascítico de Ehrlich (TAE). Os pesquisadores também inocularam células do TAE, por via intraperitoneal, em camundongos e administraram os extratos diluídos em solução salina a 5%, por via oral, durante 10 dias. Foi observado que 50 mg dos extratos da folha e do fruto aumentaram a sobrevivência dos camundongos em 44,5% e 64,5%, respectivamente em relação ao grupo controle, e, que também ocorreu uma significativa redução da vascularização da parede abdominal no grupo experimental, sugerindo que a *Punica granatum* apresenta potencial atividade antitumoral.

A casca dos frutos é rica em compostos bioativos potencialmente saudáveis como os compostos fenólicos e nutrientes minerais, principalmente potássio, nitrogênio, cálcio, fósforo, magnésio, sódio, boro, ferro, zinco, cobre e manganês (MIRDEHGHAN; RAHEMI, 2007). Os compostos fenólicos representam a classe predominante de fitoquímicos da romã, sendo os taninos hidrolisáveis os principais constituintes (FISCHER; CARLE; KAMMERER, 2011).

Os taninos representam um grupo de substâncias fenólicas poliméricas de alto peso molecular, solúveis em água, e capazes de curtir o couro ou precipitar gelatinas, uma propriedade conhecida como adstringência (COWAN, 1999; VASCONCELOS et al., 2003; CASAROTO; LARA, 2010). Esses fitocompostos são divididos em dois grupos quimicamente e biologicamente distintos: os taninos condensáveis ou proantocianinas e os taninos hidrolisáveis (SCALBERT, 1991; VIUDA-MARTOS; FERNÁNDEZ-LÓPEZ; PÉREZ-ÁLVAREZ, 2010). Os taninos hidrolisáveis são ésteres de ácidos fenólicos, como o ácido gálico, e, o poliol que geralmente é a glicose. O ácido gálico dá origem aos galotaninos (SCALBERT, 1991). A oxidação desses ácidos gálicos origina os elagitaninos como punicalinas, pedunculaginas e punicalaginas que são os principais fitoconstituintes da casca do fruto da romanzeira. (SEERAM et al., 2005).

A ação antimicrobiana dos elagitaninos tem sido associada a capacidade que possuem de formar com as proteínas solúveis complexos de alto peso molecular. Assim, o seu modo de ação pode estar relacionado com a sua capacidade de inativar enzimas, proteínas de transporte presentes no envelope e adesinas microbianas que são os receptores presentes na superfície celular dos microrganismos (COWAN, 1999; MACHADO et al., 2003).

O pericarpo do fruto é muito utilizado para tratamento de diarreia na medicina tradicional tailandesa. A ação antimicrobiana de extratos etanólico, aquoso e clorofórmico dessa parte da planta foi avaliada, em estudo *in vitro*, sobre cepas de *Escherichia coli* enterohemorrágica que é um agente etiológico associado àquela enfermidade. Os pesquisadores observaram que o extrato etanólico foi o mais efetivo sobre as cepas avaliadas, sendo que a concentração inibitória mínima foi de 0,05 mg/ml sobre *E. coli* OH157:H7 e a concentração bactericida mínima de 0,19mg/ml, confirmando a potencial atividade bactericida da romã (PIYAWAN et al., 2005).

Machado et al. (2003) avaliaram o potencial antimicrobiano do extrato etanólico do pericarpo da romã sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, em estudo *in vitro*, utilizando-se o método de difusão em disco. Os pesquisadores observaram que a *Punica granatum* inibiu efetivamente o crescimento desse microrganismo e pode ser uma potencial alternativa para o tratamento de infecções associadas a essa cepa bacteriana.

Estudo de Al-Zoreky (2009) avaliou a ação antimicrobiana *in vitro* sobre alguns microrganismos como *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Escherichia coli* (ATCC 10536) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), entre outros. O extrato metanólico a 80% foi o mais efetivo sobre todas as cepas avaliadas, inibindo

potencialmente o crescimento de *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Yersinia enterocolitica*.

O seu uso tópico é considerado seguro, pois estudo de Vidal (2003) mostrou que o extrato hidroalcoólico de seus frutos apresenta baixa toxicidade, sendo sua dose letal (DL₅₀) determinada em 731mg/kg de ratos quando administrados por via intraperitoneal.

Estudo *in vivo*, em humanos, de Menezes; Cordeiro; Viana (2006) mostrou que o extrato hidroalcoólico dos frutos da romã foi efetivo sobre o controle de microrganismos presentes em amostras do biofilme dental obtidas das faces vestibulares dos primeiros molares permanentes, incisivos centrais e laterais de ambos os arcos. Essas amostras foram colhidas em pacientes portadores de aparelho ortodôntico após 24 horas sem higiene bucal e imediatamente após o bochecho com 15ml das soluções avaliadas, durante 60 segundos,. Foi observada uma redução de 83,5% do número de unidades formadoras de colônias por mililitro, entre a segunda e a primeira coleta, em sujeitos que utilizaram o bochecho da romã. Esse percentual de redução foi superior ao da clorexidina a 0,12% que foi de 79%.

Estudos *in vitro* e *in vivo* utilizando extratos dos frutos de romã tem demonstrado que os mesmos apresentam atividade antimicrobiana sobre linhagens do biofilme dental como: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus casei*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalise* *Prevotella intermédia*. Os pesquisadores observaram que o uso de um creme dental ou de um bochecho a base de romã são efetivos para auxiliar o controle do biofilme dental e da inflamação gengival (PEREIRA et al., 2005; PEREIRA et al., 2006; BHADBHADE et al., 2011).

Pereira et al. (2006) avaliaram a atividade antiaderente *in vitro* do extrato de *Punica granatum* e clorexidina a 0,12% sobre cepas de *S. mitis* (ATCC 9811), *S. mutans* (ATCC 25175), *S. sanguis* (ATCC 10557), *S. sobrinus* (ATCC 27609) e *L. casei* (ATCC 7469). Os pesquisadores determinaram a menor concentração de aderência desses microrganismos ao vidro na presença de 5% sacarose. Foi observada uma efetiva ação inibitória de aderência do extrato da romã sobre as linhagens avaliadas, sendo que as Concentrações Inibitórias de Aderência (CIMA) foram 1:512 para para *S. mitis*, 1:256 para *S. mutans*, 1:128 para *S. sanguis*, 1:256 para *S. sobrinus* e 1:1.024 para *L. casei*. A atividade de inibição da síntese de glucanos da planta medicinal superior que a da clorexidina no estudo comparativo entre os dois agentes.

Pesquisa de DiSilvestro; DiSilvestro; DiSilvestro (2009) avaliou os efeitos do extrato do fruto da romã sobre indicadores salivares relevantes para a saúde bucal, incluindo o risco

de gengivite, em sujeitos sistematicamente saudáveis com diagnóstico de gengivite leve. Os autores observaram uma redução do número de proteínas totais salivares (que podem estar correlacionadas com a formação do biofilme), das atividades da aspartato-aminotransferase (um indicador de injúria celular) e da atividade α - glicosidase-salivar (enzima que metaboliza a sacarose), e um aumento da atividade da enzima antioxidante ceruloplasmina. Esses resultados demonstram que essas alterações são reflexos da ação biológica do extrato para a gengivite, sugerindo que essa planta medicinal pode ser utilizada em produtos para higiene bucal.

Segundo Lee et al. (2010) os frutos que são ricos em compostos fenólicos e são muito utilizados como analgésicos na cultura chinesa. Os autores avaliaram a atividade antiinflamatória dos taninos hidrolisáveis isolados, através de um estudo *in vitro* com cultura de células e *in vivo* com ratos. Os pesquisadores observaram no estudo *in vitro* que os taninos hidrolisáveis inibiram a síntese do óxido nítrico e prostaglandinas os quais são mediadores do processo inflamatório. Eles também constataram no estudo *in vivo* que a *Punica granatum* reduziu o edema na pata dos ratos, induzido pela carragenina, mais efetivamente que a indometacina.

Para Bhadbhade et al. (2011) a atividade anti-inflamatória dos frutos da romã também podem estar relacionados a presença dos flavonóides. Segundo Silva et al. (2002) esse fitoconstituinte possui a capacidade de agir sobre as duas vias de metabolização do ácido araquidônico inibindo, assim, a síntese de mediadores do processo inflamatório que estão relacionados a evolução e exarcebação da inflamação.

Estudo clínico de Vasconcelos et al. (2003) mostrou que um gel preparado a partir da casca dos frutos frescos foi efetivo para o tratamento da candidose bucal associada a estomatite protética. A ação dos taninos sobre leveduras pode ser explicada pela sua propriedade adstringente e outros mecanismos ainda pouco esclarecidos (VASCONCELOS et al., 2003; CASAROTO; LARA, 2010). Endo et al. (2010) avaliaram a concentração inibitória mínima de extratos casca da romã sobre cepas de *Candida albicans* e *Candida parapsilosis*. Os pesquisadores observaram que os extratos foram efetivos e que a punicalagina isolada mostrou forte atividade sobre as cepas avaliadas.

Vasconcelos et al. (2006) avaliaram em estudo *in vitro* a concentração mínima de aderência de um gel contendo 0,5ml de *Punica granatum* e do miconazol sobre linhagens de *S mutans* (ATCC 25175), *S sanguis* (ATCC 10557), *S mitis* (ATCC 9811), isolados clínicos de *S mutans* isoladas de pacientes e cepas de *C albicans*. Os pesquisadores determinaram a menor concentração de aderência desses microrganismos ao vidro na presença de 5%

sacarose, sendo que as CIMA foram 1:16 para *S. mutans*, para isolados clínicos de *S. mutans* e para *S. sanguis*, 1:128 para *S. mitis* e 1:64 para *C. albicans*. Foi observada uma efetiva atividade inibitória de aderência do gel da romã e do miconazol sobre as linhagens avaliadas. Segundo os autores, esses resultados indicaram que o gel testado apresentava ação efetiva sobre o biofilme já formado considerado o principal agente etiológico da cárie dentária e estomatite protética.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar clinicamente a efetividade de um enxaguatório, à base de *Punica granatum* L. (romã) sobre o controle do biofilme dental e inflamação gengival em escolares com faixa etária de nove a 12 anos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Traçar o perfil sócio-econômico e demográfico da amostra;
- Correlacionar os índices (IP e ISS) de saúde bucal com o perfil sócio-econômico e demográfico;
- Avaliar a efetividade do enxaguatório de romã sobre o controle do biofilme dental e sangramento gengival;
- Comparar se houve redução dos Índices de Placa e Sangramento Gengival em relação ao grupo controle que utilizou a clorexidina;
- Quantificar e correlacionar os níveis microbiológicos salivares de *Streptococcus* orais antes e ao final do estudo nos grupos que utilizaram os enxaguatórios.

4 METODOLOGIA

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo longitudinal, prospectivo do tipo ensaio clínico randomizado, duplo cego, utilizando o gluconato de Clorexidina a 0,12%. Utilizou-se a técnica de observação direta intensiva, por meio de exame clínico apropriado realizado por um único examinador e anotador, previamente calibrados para que não houvesse divergências quanto a interpretação dos aspectos clínicos, sendo os dados registrados em fichas clínicas específicas.

4.2 LOCAL DO ESTUDO

O Estudo foi realizado na Escola Municipal Padre Antonino, e na Escola Maria Minervina no período de março a maio de 2012. As escolas foram escolhidas por método não probabilístico e autorizaram o desenvolvimento da pesquisa (Anexos I e II).

4.3 UNIVERSO E AMOSTRA

O Universo foi composto por todos os escolares que estudam nas referidas escolas, sendo, que a Escola Padre Antonino apresentava um universo de 250 escolares com 87 na faixa etária de nove a 12 anos e na Maria Minervina, um universo de 159 escolares com 32 na mesma faixa etária. A amostra foi intencional e constituída por 35 escolares que apresentavam faixa etária entre nove e 12 anos.

4.3.1 Seleção da amostra

Inicialmente, os pesquisadores reuniram-se com a direção da escola, professores, e pais dos alunos para apresentar e explicar os propósitos do estudo, assim como reforçar a importância dos métodos de higiene mecânica para a manutenção da saúde dos tecidos bucais. Posteriormente, após o consentimento dos pais ou responsáveis, mediante assinatura do termo

de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A), a pesquisadora avaliou a condição de higiene bucal das crianças, utilizando o Índice de Higiene Oral Simplificado (IHO-S) proposto por Greene e Vermilion (1964) para selecionar os escolares que participaram do estudo. Após a seleção dos escolares, no dia zero foram colhidas amostras de saliva, sem estimulação, em recipiente estéril, para análise microbiológica e contagem de *Streptococcus* orais no laboratório. Após a coleta da saliva, as crianças eram incluídas nos grupos de estudo, através do sorteio aleatório de envelopes que continham os códigos A ou B e eram realizados pelos próprios participantes.

4.3.1.1 Critérios de Inclusão

Foram incluídos na amostra os escolares que obedeceram aos seguintes critérios:

- Escolares na faixa etária de nove a 12 anos, sistemicamente saudáveis;
- Presença de no mínimo 20 elementos dentários;
- Escolares que apresentem o IHO-S igual ou maior que 1,6.

4.3.1.2 Critérios de Exclusão

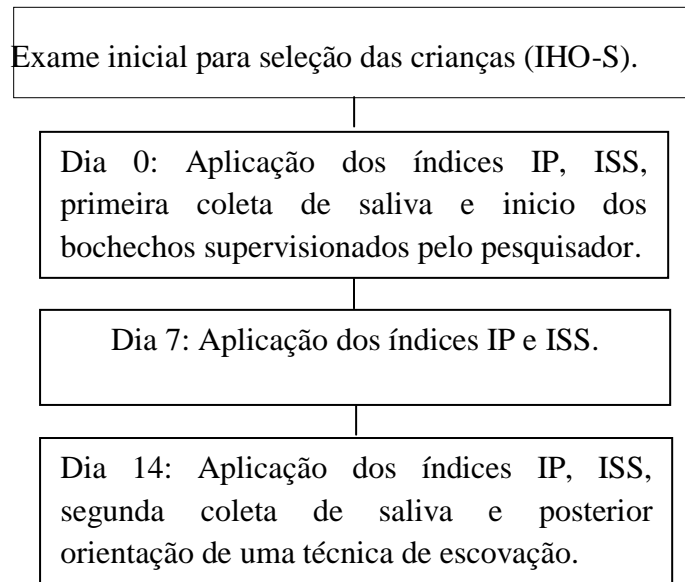
- Escolares que fossem respirador bucal;
- Que estivessem fazendo uso de aparelhos ortodônticos;
- Que estivessem fazendo uso de enxaguatórios com anti-sépticos bucais;
- Que estivesse fazendo uso de antimicrobianos (PIRES; ROSSA JUNIOR; PIZZOLITTO, 2007)
- Escolares cujos responsáveis não concordassem com a sua participação, após ter lido e assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

4.3.2 Divisão da Amostra

Grupo A (controle positivo): composto por escolares que realizaram a escovação e o bochecho de clorexidina a 0,12%.

Grupo B (experimental): composto por escolares que realizaram a escovação e o bochecho de romã a 6,25%.

Figura 1: Fluxograma do desenho do estudo



4.4 EXPERIMENTO

Os enxaguatórios utilizados neste estudo foram produzidos pela Farmácia de Manipulação Dilecta (João Pessoa/PB, Brasil) (Anexo III) e acondicionados em frasco do tipo âmbar. Era distribuído um frasco por semana, contendo 90 ml das soluções, para os escolares realizarem os bochechos em casa à noite, bem como nos finais de semana. Os pesquisadores e escolares não tinham conhecimento dos agentes ativos contidos nos enxaguatórios, sendo os frascos codificados com as letras A e B.

4.4.1 Composição dos Enxaguatórios

4.4.1.1 Preparação do Enxaguatório de Clorexidina

O processo de elaboração do enxaguatório de gluconato de clorexidina passou pela seguinte técnica de preparo: pesagem dos componentes; solubilização do Nipagin e aspartame na glicerina; incorporação do gluconato de clorexidina + álcool 96% + flavor para clorexidina e corante castanho e posterior homogeneização; envasão em frasco gotejador.

Quadro 1: Fórmula do enxaguatório de Clorexidina.

ENXAGUATÓRIO DE CLOREXIDINA (GRUPO A)	
Álcool 96 -	2%
Aspartame	0,1%
Glicerina	10%
Nipagin	0,18%
Clorexidina	0,12%
Flavor para Clorexidine	QS
Corante Castanho	QS
Água destilada (QSP)	100%
PH	5-6

4.4.1.2 Preparação do Enxaguatório de Romã

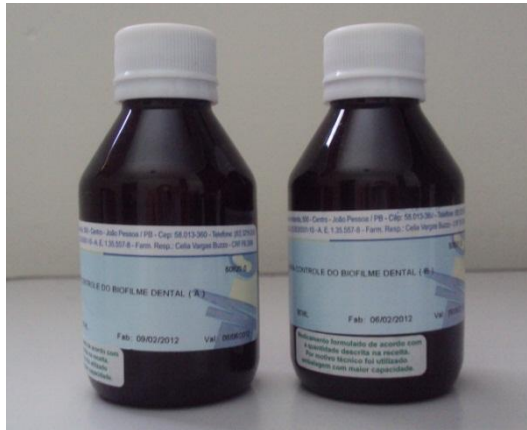
O extrato hidroalcoólico da *Punica granatum* Linn. (romã) utilizado nesta pesquisa foi adquirido da Empresa Brasileira Flores e Ervas (ANEXO IV).

O processo de elaboração do enxaguatório de romã passou pela seguinte técnica de preparo: pesagem dos componentes; solubilização do Nipagin e aspartame na glicerina; incorporação do extrato hidroalcoólico de romã + álcool 96% + flavor para clorexidine e posterior homogeneização; envase em frasco goteador.

A concentração de 6,25% do extrato de *Punica grantum* L. utilizada no enxaguatório da romã foi determinada a partir da Concentração Inibitória Mínima (CIM) obtida em estudos de Pereira et al. (2005) para *Streptococcus sobrinus*, considerada a espécie mais cariogênica do gênero *Streptococcus*, devido a sua alta acidogenicidade e adesividade (BUSSCHER; DOORNBUSCH; VAN DER MEI, 1992).

Quadro 2: Fórmula do enxaguatório de Romã.

ENXAGUATÓRIO DE ROMÃ (GRUPO B)	
Álcool 96 -	2%
Aspartame	0,1%
Glicerina	10%
Nipagin	0,18%
Extrato Hidroalcoólico de Romã	6,25%
Flavor para Clorexidine	QS
Corante Castanho	QS
Água destilada (QSP)	100%
PH	6



Fotografia 1: Enxaguatório Clorexidina (A) e Romã (B), Farmácia Manipulação Dilecta, João Pessoa – PB, Brasil

FONTE: Do próprio autor

4.4.2 Tratamento

No grupo A, os escolares utilizaram um enxaguatório de gluconato de clorexidina a 0,12% em dois bochechos diários. Um bochecho era realizado na escola, sob a supervisão da pesquisadora, após o lanche, aproximadamente meia hora após a escovação, com 10 ml da solução, por um minuto. O segundo bochecho era realizado à noite, 30 minutos após a escovação noturna, sob a supervisão de seus responsáveis previamente orientados, durante duas semanas de estudo (14 dias).

No grupo B, os participantes utilizaram o enxaguatório à base de romã a 6,25% e seguiram o mesmo protocolo adotado para o grupo A.

Todos os escolares que tiveram sua higiene bucal avaliada receberam uma escova dental (Condor®, São Bento do Sul/SC, Brasil), sendo que os escolares excluídos receberam orientações para a realização de uma técnica de higiene bucal efetiva. Os escolares que foram selecionados receberam duas escovas de dente - uma para realizar a escovação em casa e outra, na escola – (Condor®, São Bento do Sul/SC, Brasil) e um creme dental (Colgate Máxima Proteção Anticáries®, São Bernardo do Campo/SP, Brasil). Eles foram orientados a realizar a escovação dentária habitual após as refeições. Todos os bochechos realizados na escola foram supervisionados pela pesquisadora, exceto os bochechos noturnos e nos finais de semana que foram realizados em casa, sendo esses supervisionados pelos pais ou responsáveis.

A aplicação dos índices IP e ISS e coleta da saliva foram realizados, de acordo com o cronograma:

- Dia 0 - antes da primeira escovação dentária e utilização do bochecho foram aplicados os índices IP e ISS e coletada a primeira amostra de saliva.
- Dia 7 - após sete dias de escovação e utilização dos bochechos, foram aplicados novamente os índices citados.
- Dia 14 – após 14 dias de utilização das soluções, aproximadamente 12 horas após o último bochecho, foram aplicados os índices IP e ISS e realizada a segunda coleta de saliva.

No último dia, após a mensuração dos índices, os escolares foram orientados quanto à realização de uma higiene bucal correta, utilizando a técnica de Fones (1934), de fácil execução para crianças. Todos receberam orientações sobre o uso correto do fio dental e quantidade de dentifrício a ser aplicado na escova.

4.5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O projeto foi encaminhado ao Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Estadual da Paraíba e aprovado sob protocolo CAAE 0676.0.133.000-11 (Anexo V). Os responsáveis pelos escolares assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido autorizando a sua participação (Apêndice A), seguindo a Resolução nº 196/96 do Ministério da Saúde que regulamenta pesquisas com seres humanos (BRASIL, 1996).

4.6 MATERIAIS

Foram utilizados os seguintes materiais para realização dos exames físicos intra e extrabuciais: máscaras, luvas, gorro, óculos de proteção, gaze, bandeja clínica, espelho clínico, sonda Who (621). Todos os instrumentais foram empacotados em gral cirúrgico e estéreis em autoclave, seguindo os padrões exigidos para a biossegurança.

Previamente a execução do estudo proposto foi realizado um estudo piloto (n= quatro escolares) para treinar os pesquisadores (examinador e anotador) em relação a aplicação dos índices por um especialista considerado o padrão ouro, obtendo-se um valor de Kappa para o

Índice de Placa de SILNESS; LÖE (1964) igual a 0,79, considerado confiável. A interpretação foi realizada segundo escala de Bulman e Osborn (1989), conforme a tabela 1.

Tabela 1 - Escala para interpretação do teste estatístico Kappa.

VALOR K	CONFIABILIDADE
0	Baixíssima
0,01 a 0,40	Baixa
0,41 a 0,60	Moderada
0,61 a 0,80	Substancial
Superior a 0,81	Boa

Fonte: BULMAN; OSBORN, 1989.

4.7 COLETA DE DADOS

O exame clínico (anamnese e exame físico intra oral) foi realizado em uma sala de aula disponibilizada pelas direções das escolas, sob luz natural e artificial (lanterna mãos livres, luz do tipo led-Rayovac, China). Os escolares e os pesquisadores (examinador e anotador) permaneciam sentados em cadeiras escolares, durante todos os exames e estes sempre foram realizados em período anterior ao recreio para evitar alterações nos resultados dos índices.

4.7.1 Instrumentos de pesquisa

Os instrumentos utilizados na presente pesquisa foram a entrevista e, em seguida, a realização do exame clínico, para registro do IHO-S, IP e ISS e coleta de saliva para contagem de *Streptococcus* orais.

4.7.1.1 Entrevista

Todos os indivíduos participantes desta pesquisa responderam previamente ao exame clínico, um formulário contendo dados de identificação e perfil sócio-econômico (Apêndice B). Para análise do Perfil sócio econômico foi utilizado o Critério de Classificação Econômica Brasil, proposto pela Associação Brasileira de Empresas e Pesquisa, 2012.

4.7.1.2 Índice de Higiene Oral Simplificado (IHO-S) (GREENE; VERMILLION, 1964)

Para avaliação da higiene oral foi utilizado evidenciador de placa Replak (Dentispaly, Petrópolis/RJ, Brasil) para visualizar o biofilme sobre as superfícies dentárias. Foram examinadas seis superfícies dentárias que representaram toda a boca: vestibular dos primeiros molares superiores direito e esquerdo, lingual dos primeiros molares inferiores direito e esquerdo e, superfície vestibular do incisivo central superior direito e inferior esquerdo. Os Scores utilizados para cada superfície selecionada foram: 0- ausência de biofilme bacteriano; 1- presença de biofilme no terço cervical; 2- presença de biofilme até a metade da face dental; 3- biofilme passando da metade da face dental analisada. Os valores foram somados e divididos pelo número de superfícies avaliadas, estabelecendo-se assim, um código final (Apêndice C). A média entre 0 e 1,5 foi considerada boa higiene bucal, entre 1,6 e 2,5, higiene bucal regular e maior que 2,6, péssima higiene bucal (RAMOS et al., 2006).



Fotografia 2: Evidenciação do biofilme dental para aplicação do Índice de Higiene Oral Simplificado. Campina Grande – PB, 2012.

4.7.1.3 Índice de Placa (IP) (SILNESS; LÖE, 1964)

Este índice de placa foi escolhido por ser considerado um método simples e confiável para avaliar tanto procedimentos mecânicos isoladamente ou associados a agentes químicos para o controle do biofilme. Seus valores consideram apenas as diferenças quanto à espessura do depósito na área gengival de cada face do dente.

De acordo com Silness; Løe (1964) para se obter o índice de placa, pode-se avaliar todos os dentes ou examinar seis dentes representativos: 16, 12, 24, 36, 32, 44. Foram examinadas as faces distal, vestibular, mesial e lingual/palatina, sempre na região cervical,

onde normalmente ocorre um maior acúmulo de biofilme. Dentes em erupção ou destruídos pela cárie foram excluídos e não foram contabilizados no cálculo do índice, sendo examinados apenas os dentes que já se encontravam em oclusão.

Pela aplicação desse índice de placa, os scores que avaliam a quantidade de placa obedecem os seguintes critérios:

0 – nenhum biofilme na área gengival;

1 – Uma fina película de biofilme aderida à gengiva marginal livre e adjacente à área do dente. O biofilme pode ser reconhecido mediante a sondagem da superfície cervical do dente;

2 – acúmulo moderado dentro do sulco gengival, na margem gengival e/ou adjacente à superfície do dente. Pode ser vista a olho nu;

3 – abundância de biofilme dentro do sulco gengival e/ou na margem gengival adjacente à superfície do dente.

A cada uma das quatro faces avaliadas do dente foi atribuído um dos quatro scores citados acima indicando o índice de placa para cada face. Os valores obtidos das quatro áreas foram somados e divididos por quatro, encontrando-se o Índice de Placa para cada dente. Finalmente foram somados os Índices de Placa dos dentes avaliados e divididos pelo número de dentes examinados, obtendo-se assim o Índice de Placa Individual de cada paciente (Apêndice D).

$$\frac{\sum \text{scores de cada face}}{4} = \text{IP (cada dente)}$$

$$\frac{\sum \text{IP (cada dente)}}{\text{N}^\circ \text{ total de dentes avaliados}} = \text{IP (individual de cada participante)}$$



Fotografia 3: Aplicação do Índice de Placa. Campina Grande – PB, 2012.

Fonte: Do próprio autor

4.7.1.4 Índice Sangramento à Sondagem –ISS (Ainamo; Bay, 1975)

Para a aplicação do índice de sangramento foi utilizada sonda periodontal com esfera na ponta (WHO 621) preconizada pela OMS (Figura 1), bem como um espelho bucal para o afastamento das estruturas adjacentes (língua, lábios, bochechas).

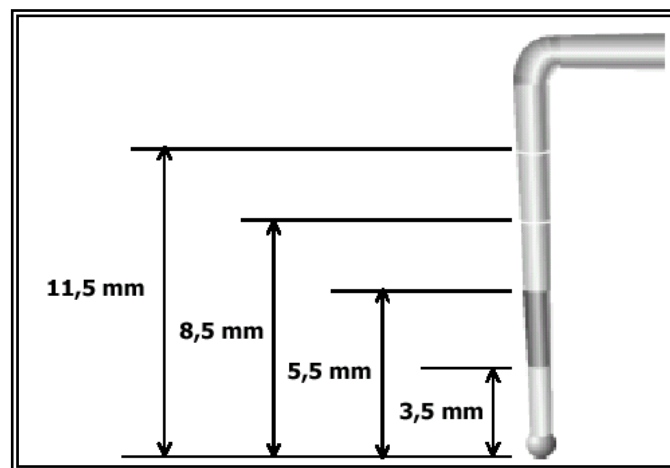


Figura 2: Sonda preconizada pela OMS para exame clínico
(Ilustração adaptada de Brasil, 2010)

A aplicação deste índice foi realizada, através da sondagem marginal de todos os dentes presentes, por sextante. Aguardava-se aproximadamente 10 a 30 segundos como indicado pelos autores e observava-se a presença ou ausência de sangramento à sondagem. Para mensurar o ISS, Ainamo e Bay (1975) preconizam o exame das quatro faces dos dentes presentes (vestibular, lingual/palatina, mesial e distal) quanto a dicotomia sangra (+) /não sangra (-) em cada superfície avaliada com ou sem sangramento a sondagem, respectivamente. O valor percentual final do índice deve ser obtido somando-se o total de faces com sangramento dividido pelo total de faces avaliadas e este resultado multiplicado por 100, como se segue:

$$\frac{\sum \text{Total de faces sangrantes}}{\text{N}^\circ \text{ Total de faces avaliadas}} \times 100 = \text{ISS}$$

Todos os dados referentes ao índice de sangramento gengival dos escolares foram registrados em uma ficha periodontal (Apêndice D).



Fotografia 4: Aplicação do Índice de Sangramento à Sondagem. Campina Grande – PB, 2012.

Fonte: próprio autor

4.7.1.5 Quantificação Microbiológica de *Streptococcus* Orais

4.7.1.5.1 Técnica de Coleta

As amostras da saliva requerida para a determinação da contagem de células viáveis de *Streptococcus* orais foram coletadas sem estimulação em um recipiente coletor estéril e mantidas em caixa térmica isopor com gelo para garantir a viabilidade das bactérias até o início do procedimento microbiológico. Assim, o período de tempo entre a coleta e o início dos procedimentos laboratoriais foi de aproximadamente três horas. A análise microbiológica da saliva foi realizada no Laboratório de Ensaio de Medicamentos (LABDEM) da Universidade Estadual da Paraíba.

4.7.1.5.2 Técnica de Cultivo

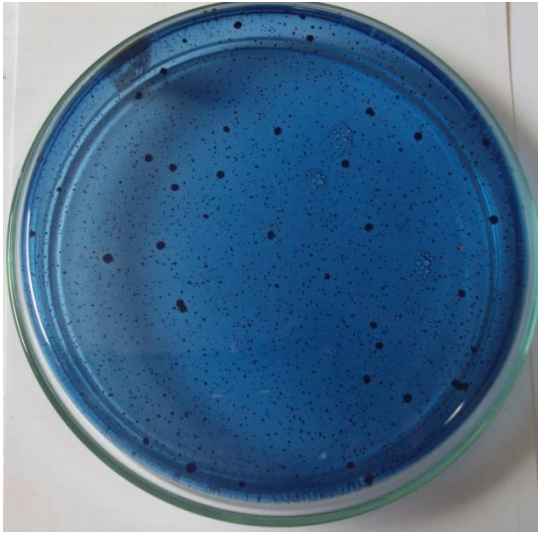
Com o auxílio de uma pipeta automática e ponteiros estéreis, 0,5ml de saliva, previamente homogeneizada, foi adicionada em 3ml de caldo BHI (Difco®, Detroit/MI,

USA) por aproximadamente 6 horas, conforme recomendado por Santos Filho (2006) para a identificação de *Streptococcus*. Após este período, 1ml do caldo foi sucessivamente diluído em solução salina esterilizada a 0,9% em séries decimais de 1/10 a 1/10.000. Em seguida 0,1 ml de cada diluição foi plaqueada, com o auxílio de alça de Drigalski descartável (China), pela técnica Spread Plate, sobre a superfície de 15 ml de meio de cultura, em placas de Petri (90x15), contendo Agar *mitis salivarius* (Difco®, Detroit/MI, USA) acrescido de 20% de sacarose (Synth®, Diadema/SP, Brasil), 0,2 Unidade Internacionais de Bacitracina Purex (Inlab®, São Paulo, Brasil) e 0,1g de telurito de potássio (Vetec®, Rio de Janeiro/RJ, Brasil), conforme preconizado por Gold; Jordan; Van Houte (1973) adaptado por Pereira et al. (2006). As placas foram incubadas por 48 horas em estufa bacteriológica a 37°C. Os experimentos foram realizados em duplicatas e todas as análises foram procedidas em capela de fluxo laminar.

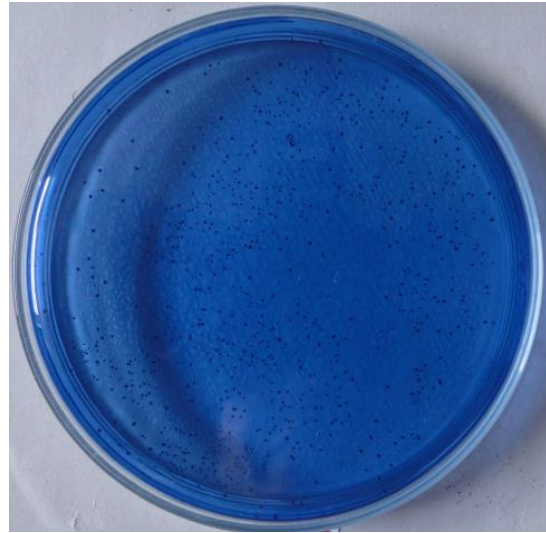
O meio de cultura foi preparado segundo as orientações do fabricante, ou seja, para cada 1000ml de água destilada eram acrescentadas 90g do pó de Agar *mitis salivarius*. Esta mistura era autoclavada a 121°C, durante 15 minutos. Após o seu resfriamento, aproximadamente a 55°C, era acrescentado 1ml de uma solução contendo 0,1g de telurito e 0,289g de bacitracina diluídos em 10 ml de água destilada também autoclavada, por cada 1000ml de meio de cultura. As placas eram conservadas em geladeira e utilizadas dentro de um período de no máximo cinco dias.

4.7.1.5.3 Técnica de Contagem

A leitura das placas foi efetuada pela contagem padrão de colônias de *Streptococcus* orais viáveis (Unidade Formadora de Colônias - UFC/ml) em microscópio estereoscópio. A contagem de colônias foi realizada com o auxílio de um contador de colônias. Em seguida converteu-se o valor a partir da quantidade inoculada 0,1ml, e do fator da diluição para contagem, obtendo o resultado final de UFCs/ml de saliva em potência de 10. Para a análise da contagem de UFC/ml de *Streptococcus* orais, optou-se transformar os valores em potência de 10, utilizando-se o logaritmo deste número para a análise estatística.



Fotografia 5a



Fotografia 5b

Fotografia 5: Contagem de *Streptococcus* orais antes Fotografia 5a (coleta 1, diluição 1) e após a ação dos enxaguatórios, observando-se uma redução da quantidade colônias Fotografia 5b (coleta 2, diluição 1).

4.8 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados deste estudo foram registrados na forma de banco de dados no programa de informática SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) para Windows®, versão 17.0, e analisados por meio de estatística descritiva e inferencial uni e bivariada. Para os procedimentos descritivos, foram apresentadas medidas de tendência central (média e mediana) e de variabilidade (desvio-padrão). Os procedimentos de inferência estatística, por sua vez, foram realizados com base em estatística paramétrica, sendo determinante para a escolha dos testes, a distribuição dos dados corroborada pelo teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Utilizou o teste t de *Student*, que identifica diferenças entre grupos e coeficiente de correlação ρ (Rô) de Spearman avaliou possíveis correlações entre as variáveis. Ressalta-se, por fim, que para a interpretação das informações, foi considerado um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS

Neste estudo, foi avaliado o Índice de Higiene Oral Simplificado (IHO-S) de 71 escolares com faixa etária entre nove e 12 anos. Trinta escolares foram excluídas por não apresentarem IHO-S igual ou maior que 1,6. Dois desistiram de participar do estudo. Dois apresentavam menos de 20 dentes e um estava fazendo uso de antibiótico e, assim não foram incluídos.

Dessa forma, 36 escolares preencheram todos os critérios de inclusão e foram alocadas neste ensaio clínico. Um escolar do grupo A faltou a uma avaliação por motivo de doença não associada ao uso do enxaguatório e a amostra final do estudo foi constituída por 35 escolares. O Grupo A (Clorexidina) foi composto por 16 escolares, sendo sete pertencente ao gênero feminino e nove ao masculino. O Grupo B (*Punica granatum* – romã) foi constituído por 19 escolares, sendo sete do gênero feminino e 12 do masculino).

A faixa etária dos escolares analisados variou de nove a 12 anos, teve média de 10,43 anos, mediana de 10,00 anos e desvio padrão de 1,04 anos.

A Tabela 2 apresenta os resultados relativos à caracterização sócio-econômica do grupo de pesquisados. Foi observado que 57,1% dos participantes apresentavam a faixa etária entre nove e 10 anos e 42,9%, entre 11 a 12 anos. A amostra foi constituída por 60,0% de escolares do gênero masculino e a maioria (74,3%) foi classificada na classe econômica C.

Tabela 2: Distribuição absoluta e percentual dos escolares segundo os dados de caracterização sócio-econômica, Campina Grande – PB, 2012.

<i>Variável</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
TOTAL	35	100,0
Faixa etária		
9 a 10	20	57,1
11 a 12	15	42,9
Gênero		
Masculino	21	60,0
Feminino	14	40,0
CCEB		
B	4	11,4
C	26	74,3
D	4	11,4
E	1	2,9

Neste estudo pôde-se observar que a maioria dos escolares relatou escovar os dentes diariamente (Tabela 3). Quanto a frequência de escovação, 51,4% responderam que escovam os dentes três vezes por dia. A maioria afirmou que utilizava escova e creme dental para higiene bucal (97,1%) e apenas 1 participante (2,9%) relatou não fazer uso do creme dental regularmente. Com relação ao uso do fio dental 22,9% dos participantes afirmaram que o utilizam habitualmente. Os escolares foram questionados sobre o uso de enxaguante bucal em período anterior à pesquisa. Constatou-se que seis pesquisados (17,1%) já tinham feito uso de enxaguante bucal. Desses, quatro (66,7%) não lembravam o nome do enxaguante utilizado, um citou Listerine® e outro Cepacol®.

Tabela 3: Distribuição absoluta e percentual dos escolares segundo os dados relacionados com a higiene bucal. Campina Grande – PB, 2012.

<i>Variável</i>	<i>N</i>	<i>%</i>
<i>Escovação diária</i>		
Sim	34	97,1
Não	1	2,9
<i>TOTAL</i>	35	100,0
<i>Frequência de escovações diárias</i>		
Uma vez por dia	5	14,3
Duas vezes por dia	12	34,3
Três vezes por dia	18	51,4
<i>TOTAL</i>	35	100,0
Uso do fio dental	8	22,9
Uso do palito	2	5,7
<i>Uso de enxaguante bucal em período anterior (>2 meses) ao estudo</i>		
Sim	6	17,1
Não	29	82,9
<i>TOTAL</i>	35	100,0

Na Tabela 4 observa-se que a maioria dos pesquisados tinham recebido tratamento odontológico há um ano ou mais (40,0%). Quando questionados quanto ao tempo do último tratamento odontológico, nove escolares (25,7%) não lembravam este tempo e 11,4% nunca haviam ido ao dentista. Em relação à presença de hábitos bucais, o mais citado foi a onicofagia (45,7%).

Tabela 4: Distribuição absoluta e percentual dos escolares segundo o tempo de último tratamento odontológico e hábitos bucais. Campina Grande – PB, 2012.

Variável	N	%
<i>TOTAL</i>	35	100,0
<i>Tempo do último tratamento odontológico</i>		
Nunca fez tratamento odontológico	4	11,4
Há menos de um ano	8	22,9
Há um ano ou mais	14	40,0
Não lembra	9	25,7
<i>Hábitos bucais</i>		
Nenhum	16	45,7
Onicofagia	16	45,7
Chupar dedo e outro	2	5,7
Onicofagia e outro	1	2,9

Das 35 crianças analisadas, 16 (45,7%) fizeram parte do grupo controle-positivo (Clorexidina) e 19 (54,3%) fizeram parte do grupo experimental (Romã) Gráfico 1.

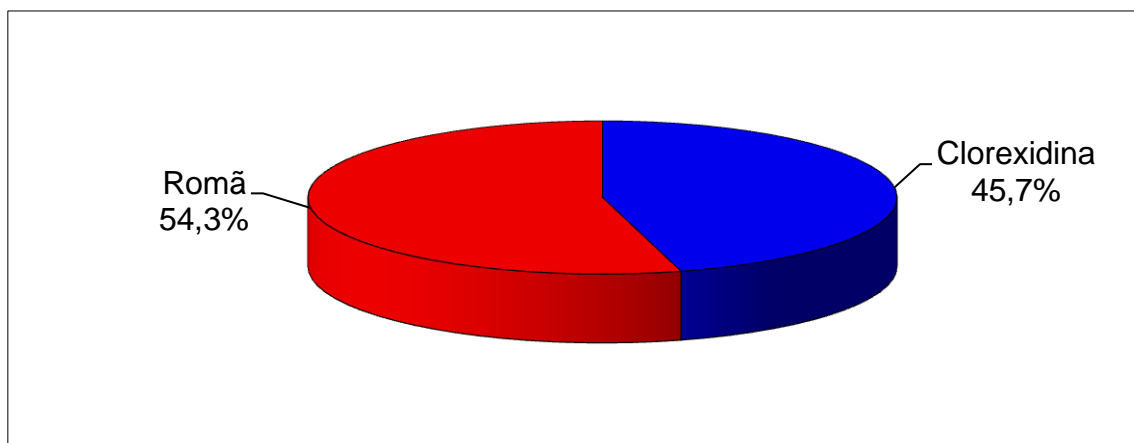


Gráfico 1: Distribuição dos escolares segundo o grupo.

Com o objetivo de verificar diferenças entre os grupos quanto aos índices bucais, os dados foram submetidos ao teste t de *Student*. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as variáveis Índice de Placa inicial (IP-0 dia) e Índice de Sangramento Gengival inicial (ISS-0 dia), ISS-7 dias e ISS-14 dias ($p > 0,05$), conforme dados

descritivos e inferenciais pormenorizados na Tabela 5. Entretanto, foram observadas diferenças significativas entre as variáveis: IHO-S, IP-7 dias e IP-15 dias.

Inicialmente, quanto ao IHO-S, verificou-se que o grupo A apresentou índice mais elevado (M=2,13; DP=0,27) do que o grupo B (M=1,94; DP=0,22), sendo esta diferença considerada significativa do ponto de vista estatístico. Contudo, os resultados posteriores foram o inverso: verificou-se que o índice IP com 7 e 14 dias foram mais baixos no grupo A (M=0,24 e 0,26, respectivamente) do que no grupo B (M=0,63 e 0,68). Estas informações estão discriminadas na Tabela 5 e ilustradas nos gráficos 2 e 3.

Tabela 5: Correlação dos índices bucais com os grupos avaliados. Campina Grande – PB, 2012.

Índices	Dias	Grupo A (clorexidina)		Grupo B (Romã)		t(33)	P
		M	DP	M	DP		
IHO-S	0	2,13	0,27	1,94	0,22	2,27	0,03*
IP	0 dia	0,77	0,35	0,73	0,27	0,33	0,74
	7 dias	0,24	0,18	0,63	0,26	-4,93	<0,001*
	14 dias	0,26	0,23	0,68	0,31	-4,34	<0,001*
ISS	0 dia	11,07	5,10	8,06	4,01	1,95	0,06
	7 dias	6,38	3,10	6,64	4,80	-0,18	0,85
	14 dias	6,00	3,84	5,70	3,74	0,23	0,81

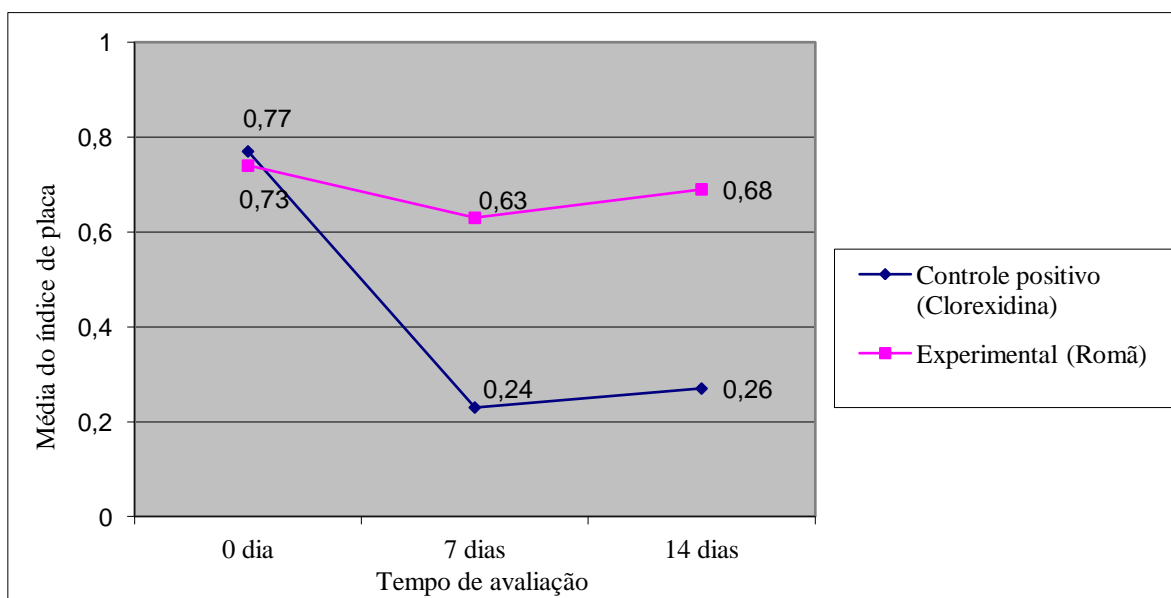


Gráfico 2: Avaliação do índice de placa nos grupos examinados.

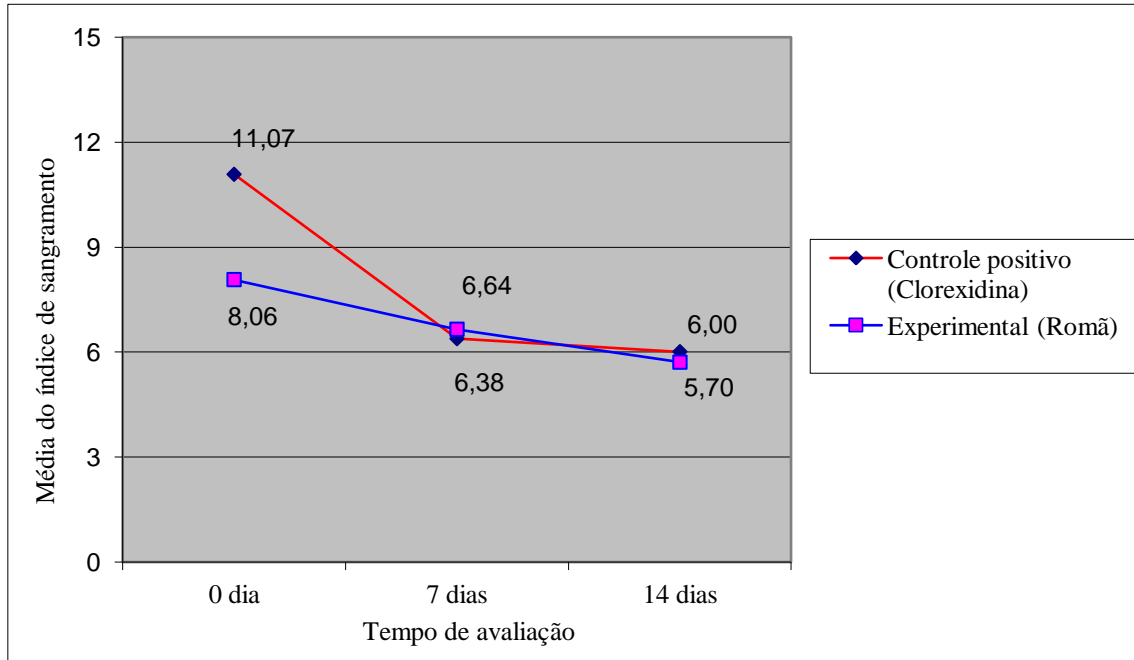


Gráfico 3: Avaliação do índice de sangramento nos grupos examinados.

Considerando que a aferição dos índices bucais foi feita em três momentos distintos, foi avaliada a redução de tais índices da primeira a última aferição (Queda=índice 0 dia – índice 14 dias). Tais quais os resultados anteriores, verificou-se diferença estatisticamente significativa entre a queda no índice de placa ($t=4,03$; $p<0,001$), sendo a queda mais elevada no grupo A ($M=0,50$; $DP=0,41$) do que no grupo B ($M=0,05$; $DP=0,23$). Em relação ao índice de sangramento gengival, embora a queda tenha sido também mais elevada no grupo A, esta diferença não foi significativa ($p=0,08$), segundo dados apresentados na Tabela 6.

Tabela 6: Correlação da redução dos índices bucais com os grupos avaliados. Campina Grande – PB, 2012.

Redução dos índices	Grupo A (clorexidina)		Grupo B (romã)		$t(33)$	P
	M	DP	M	DP		
Queda IP	0,50	0,41	0,05	0,23	4,03	<0,001*
Queda ISS	5,06	4,81	2,35	4,26	1,76	0,08

A contagem de UFC/ml de *Streptococcus* orais também foi avaliada em função dos grupos de bochecho. A Tabela 7 apresenta a média e o desvio padrão do logaritmo decimal do

número de UFC/ml de *Streptococcus* por grupo. Pode-se observar que na coleta 1 a média foi mais elevada no grupo Controle positivo (clorexidina) em relação ao grupo Experimental (romã) (5,24 x 4,98). Já na coleta 2 a média foi mais elevada no grupo Experimental (3,85 x 2,56), entretanto sem diferença significativa entre os grupos em nenhuma das coletas. Em cada um dos grupos houve redução na média da contagem de *Streptococcus*, diferenças estas que se revelaram ser significativas ($p < 0,05$). Em relação a variação (redução) a média foi mais elevada no grupo Controle positivo do que no grupo Experimental (2,68 x 1,13), sendo observado diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$).

O valor percentual entre as médias das duas coletas foi mais elevado no grupo Controle positivo do que no grupo Experimental (51,14% x 22,69%).

Tabela 7: Distribuição da contagem de *Streptococcus* por coleta segundo o grupo. Campina Grande – PB, 2012.

<i>Coleta</i>	<i>Grupo A (Clorexidina)</i> Média ± DP (Mediana)	<i>Grupo B (Romã)</i> Média ± DP (Mediana)	<i>Valor de p</i>
Coleta 1	5,24 ± 1,38 (4,53)*	4,98 ± 1,73 (5,22)*	$p^{(1)} = 0,630$
Coleta 2	2,56 ± 2,45 (2,35)*	3,85 ± 2,21 (4,78)*	$p^{(1)} = 0,110$
Valor de p	$p^{(2)} < 0,001^{**}$	$p^{(2)} = 0,009^{**}$	
Diferença entre as coletas	2,68 ± 2,37 (2,28)	1,13 ± 1,69 (0,89)	$p^{(1)} = 0,030^*$
% redução das médias entre as coletas	51,14	22,69	

(*) contagem de UFC/ml transformada em Log10

(**): Diferença significativa ao nível de 5,0%.

(1): Através do teste t-Student com variâncias iguais.

(2): Através do teste t-Student pareado

Os índices de placa e de sangramento gengival foram avaliados quanto ao gênero dos participantes. Verificou-se diferença estatisticamente significativa em relação ao índice de placa com 14 dias ($p=0,01$). Isto é, constatou-se que o IP-14 dias é mais elevado no grupo masculino ($M=0,60$; $DP=0,39$) do que no feminino ($M=0,33$; $DP=0,19$), segundo gráfico 4. Quanto às demais variáveis, IHO-S, IP-0, IP-7, ISS-0, ISS-7 e ISS-14, não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas (Tabela 8 e Gráfico 4).

Tabela 8: Avaliação dos índices bucais em função do gênero dos participantes. Campina Grande – PB, 2012.

Índices	Dias	Masculino		Feminino		t(33)	P
		M	DP	M	DP		
IHO-S	0	1,96	0,25	2,12	0,25	-1,83	0,07
IP	0 dia	0,78	0,29	0,71	0,33	0,63	0,52
	7 dias	0,51	0,34	0,36	0,20	1,58	0,12
	14 dias	0,60	0,39	0,33	0,19	2,71	0,01*
ISS	0 dia	9,39	5,36	9,51	3,76	-0,07	0,94
	7 dias	6,66	4,65	6,32	3,11	0,23	0,81
	14 dias	5,87	4,01	5,80	3,43	0,05	0,95

(*): Diferença significativa ao nível de 5,0%.

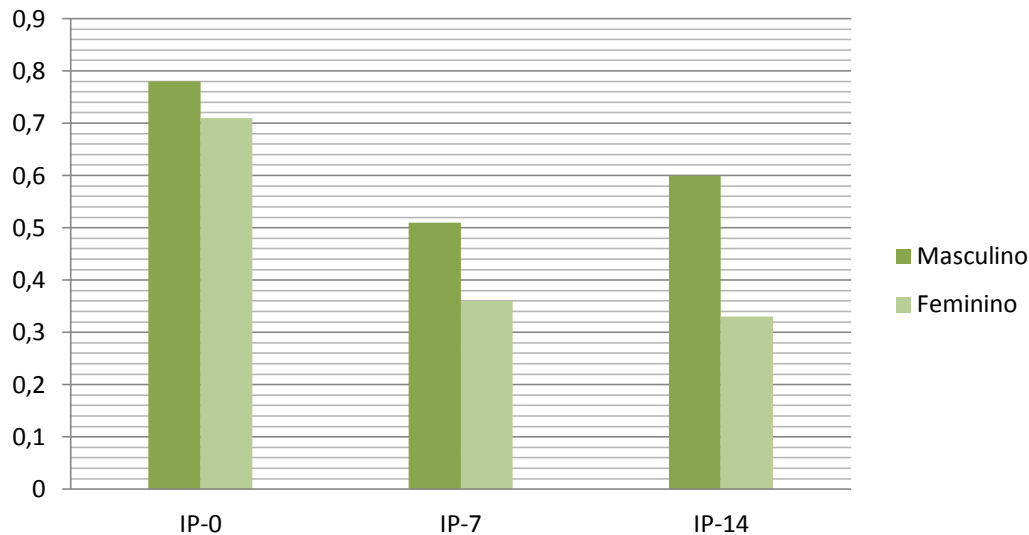


Gráfico 4: Avaliação do índice de placa em relação ao gênero dos participantes.

Com o objetivo de obter uma maior representatividade das classes sócio-econômico dos participantes, com vistas à comparação dos mesmos, os dados foram agrupados em duas classes. A primeira correspondente as classes B e C e a segunda, as classes D e E. A partir deste agrupamento, os dados foram submetidos ao teste t de *Student* o qual não sugeriu diferença entre os grupos em qualquer índice bucal (ver Tabela 9).

Tabela 9: Avaliação dos índices bucais em função do perfil sócio-econômico. Campina Grande – PB, 2012.

Índices	Dias	Perfil B e C		Perfil D e E		t(33)	p
		M	DP	M	DP		
IHO-S	0	2,02	0,24	2,09	0,40	-0,58	0,56
IP	0 dia	0,73	0,31	0,87	0,30	-0,94	0,35
	7 dias	0,44	0,29	0,49	0,40	-0,33	0,74
	14 dias	0,50	0,34	0,45	0,41	0,25	0,80
ISS	0 dia	9,31	4,86	10,21	4,18	-0,38	0,70
	7 dias	6,61	4,22	6,00	3,21	0,30	0,76
	14 dias	5,52	3,63	7,77	4,16	-1,25	0,21

O grau de escolaridade dos pais também foi confrontado com os índices de placa e sangramento gengival, sendo tal escolaridade dividida entre aqueles que tinham até o ensino fundamental completo, e aqueles que tinham a partir do ensino médio. Quanto ao IHO-S, IP-7 dias, IP-14 dias, ISS-0 dia, ISS-7 dias, ISS-14 dias, não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (ver Tabela 10). No entanto, verificou-se que o índice de placa inicial (IP-0 dia) foi mais elevado (M=0,83; DP=0,27) entre os pais com escolaridade mais baixa. Para tanto, observar gráfico 5.

Tabela 10: Avaliação dos índices bucais em função do grau de escolaridade dos pais. Campina Grande – PB, 2012.

Índices	Dias	Até Ens. Fund. Completo		A partir do Ensino Médio		t(33)	p
		M	DP	M	DP		
IHO-S	0	2,05	0,28	1,98	0,22	0,65	0,51
IP	0 dia	0,83	0,27	0,57	0,32	2,38	0,02*
	7 dias	0,49	0,32	0,36	0,23	1,25	0,21
	14 dias	0,52	0,38	0,42	0,26	0,81	0,41
ISS	0 dia	8,92	4,16	10,55	5,84	-0,94	0,35
	7 dias	6,23	3,76	7,16	4,77	-0,62	0,53
	14 dias	5,39	3,54	6,82	4,13	-1,05	0,29

(*): Diferença significativa ao nível de 5,0%.

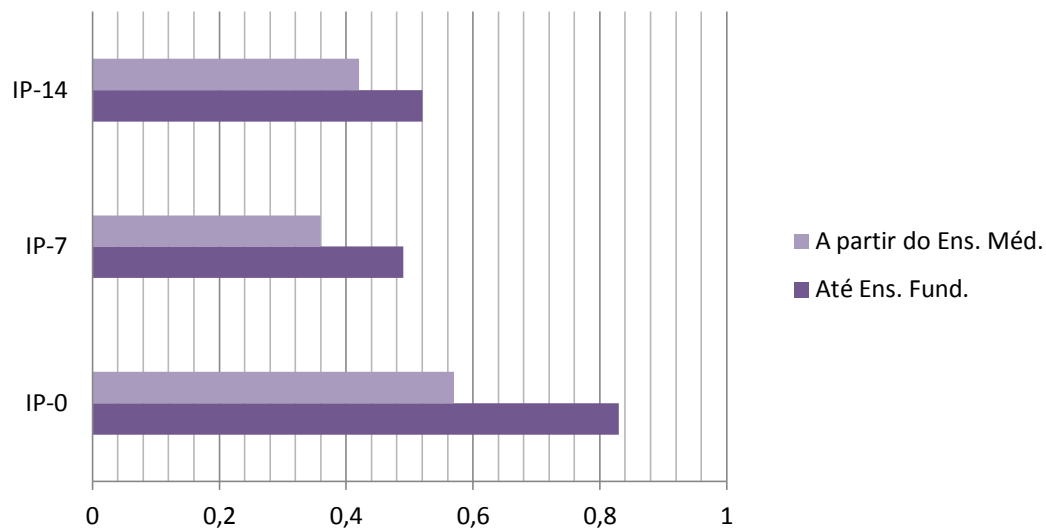


Gráfico 5: Avaliação do índice de placa em relação ao nível de escolaridade dos pais.

Por fim, os índices bucais foram correlacionados a idade e número de escovação dos participantes, por meio do cálculo do coeficiente de correlação ρ de Spearman. A partir dos resultados, dispostos na Tabela 11, verificou-se que os coeficientes de correlação foram fracos e não significativos, pois sempre foram inferiores a 0,3 sugerindo, portanto, não correlação entre as variáveis.

Tabela 11: Correlação entre os índices bucais com a idade e número de escovação dos participantes. Campina Grande – PB, 2012.

Índices	Dias	Idade		Nº de escovações	
		P	P	ρ	P
IHO-S	0	-0,17	0,30	0,04	0,78
IP	0 dia	0,07	0,66	-0,28	0,09
	7 dias	-0,02	0,90	-0,08	0,64
	14 dias	-0,04	0,80	-0,24	0,15
ISS	0 dia	-0,04	0,80	-0,09	0,59
	7 dias	0,20	0,24	-0,10	0,56
	14 dias	-0,02	0,88	-0,01	0,81

6 DISCUSSÃO

A remoção mecânica do biofilme dental é considerada imprescindível para a prevenção da cárie e doença periodontal. Entretanto, a manutenção da boa higiene bucal, durante períodos de tempo prolongados, através dos métodos mecânicos de higiene, é considerada uma tarefa difícil e influenciada pela habilidade manual e motivação do indivíduo para sua execução (JAYAPRAKASH; VEERESHA; HIREMATH, 2007). Assim, em virtude dessas dificuldades, para assegurar um adequado controle do biofilme, existe um grande interesse em se utilizar agentes antimicrobianos que possam auxiliar a escovação dental deficiente (FRANCO NETO et al., 2008).

A frequência de escovação e idade dos participantes foram correlacionadas com os índices de placa e sangramento gengival através do cálculo do coeficiente de correlação ρ de Spearman. Observou-se uma correlação positiva entre as variáveis idade e índice de placa inicial e uma correlação negativa entre idade e índice de sangramento à sondagem, embora esta correlação tenha sido fraca. No entanto, Neves; Passos; Oliveira (2011) observaram em escolares, com faixa etária entre sete a 12 anos, uma correlação negativa deste coeficiente entre os índices de placa, sangramento à sondagem e a idade, revelando que quanto maior a idade menor foi o valor obtido naquelas avaliações. Esta fraca correlação observada no presente estudo pode estar relacionada a menor variação de faixa etária utilizada, assim como a maior quantidade de escolares avaliados em estudo transversal daqueles pesquisadores ($n = 176$ crianças).

Para avaliar o controle do biofilme dos escolares participantes, foi mensurado o Índice de Higiene Oral Simplificado (IHO-S), sendo observadas nos dois grupos médias de 2,13 e 1,94. Esse dado é semelhante aos achados obtidos por Almeida et al. (2006), o qual observou médias de 2,09 e 2,36 em um estudo clínico para avaliar a eficácia de um enxaguatório de própolis em relação a clorexidina em crianças cárie ativas. Este resultado sugere que, apesar dos avanços ocorridos na saúde bucal, na última década, as campanhas de prevenção e promoção em saúde bucal precisam ser intensificadas.

Para analisar a ação dos bochechos sobre o biofilme dental já acumulado foi avaliado o índice de placa em três momentos. Observou-se que ocorreu uma redução deste índice nos dois grupos estudados. Estes resultados estão de acordo com os obtidos em estudo de Dolińska; Stokowska (2006) que avaliaram a efetividade dos enxaguatórios Listerine® e Helmex® e de Jayaprakash; Veerasha; Hiremath (2007) que avaliaram os efeitos da clorexidina associada ao fluoreto de sódio em crianças, e também constataram uma redução

do índice de Placa nos exames posteriores ao inicial.

A redução da média do índice de placa entre a avaliação inicial e final foi baixa (0,05) nos escolares que utilizaram o enxaguatório de romã durante 14 dias. Esse resultado é semelhante aos achados de Pereira et al. (2005) que não observaram redução deste índice em escolares após 30 dias de uso de um dentrífico a base de romã. Contudo, estudo clínico realizado por Bhadbhade et al. (2011) mostrou que o extrato do fruto de romã apresentou eficácia para inibir a formação do biofilme dental, sem diferença estatística significativa em relação a clorexidina. Os dados desse ensaio clínico confirmam o potencial antimicrobiano dos fitoconstituintes presentes na *Punica granatum* L., já demonstrado em estudos *in vitro* (MACHADO et al., 2003; PIYAWAN et al., 2005; PEREIRA et al., 2006; VASCONCELOS et al., 2006; AL-ZOREKY, 2009).

Segundo Ouhayoun (2003) estudos indicam que as bactérias podem ter sua susceptibilidade à agentes químicos alterada quando deixam a sua forma plactônica e passam a integrar biofilmes. Por isso, o autor afirma que a eficácia antimicrobiana dos bochechos é dependente de sua ação microbicida aliada a sua capacidade de penetrar em comunidades microbianas vivas e bem organizadas, como pode ser observado nos biofilmes dentais. Cortelli; Thénoux (2007) enfatizam que esta habilidade é que faz a diferença na ação *in vivo* de um agente. Ressalta-se que no desenho deste estudo não foi realizada nenhuma profilaxia dental ou orientações sobre higiene dental e dieta em período anterior, nem durante as análises. Foi avaliada a ação do fitoterápico sobre o biofilme já formado na superfície dos dentes, evidenciando a capacidade dos constituintes da *Punica granatum* de penetrar em comunidades microbianas bem organizadas. Essa ação antimicrobiana provavelmente está associada à capacidade dos taninos para inibir enzimas microbianas extracelulares, interferir com a disponibilidade de receptores presentes na superfície celular dos microrganismos essenciais para a co-adesão de outros microrganismos, ou agir diretamente sobre o metabolismo microbiano através da inibição da fosforilação oxidativa (SCALBERT, 1991).

Segundo Eley (1999), estudos tem mostrado resultados variáveis quando se avalia a clorexidina como auxiliar de medidas de higiene bucal habitual. Para o autor isto sugere que este agente é mais eficaz quando utilizado para se prevenir a formação do biofilme sobre a superfície do dente limpa do que para remover depósitos pré-existentes. Contudo, os resultados do presente estudo mostraram que a redução do índice de placa foi significativa no grupo que utilizou o bochecho de clorexidina, corroborando os dados de estudos clínicos anteriores que observaram sua efetividade para inibir a sua formação ou auxiliar a redução do biofilme já existente (ERNEST et al., 2005; STOOKEN et al., 2007; YÉVENES et al., 2009;

BHADDBHADE et al., 2011).

A inflamação gengival nos escolares foi avaliada através da análise do Índice de Sangramento à Sondagem. Conforme se observa no presente estudo, houve uma redução do percentual de faces sangrantes nos dois grupos, sem nenhuma diferença estatística significativa entre eles. Esses resultados demonstram o potencial da eficácia do enxaguatório da romã sobre o processo inflamatório, confirmando a ação antiinflamatória da romã já demonstrada em estudos anteriores (VASCONCELOS et al., 2003; PEREIRA et al., 2005). DiSilvestro; DiSilvestro; DiSilvestro (2009) observaram que o extrato do fruto da romã alterou alguns indicadores salivares que podem ser benéficos para tratamento do quadro de gengivite. Segundo os pesquisadores, o extrato do fruto dessa planta é rico em compostos fenólicos como taninos e flavonóides com possível ação antiinflamatória. Lee et al. (2010) em estudos posteriores, enfatizam que os taninos hidrolisáveis da romã inibem a síntese de alguns mediadores pró-inflamatórios, o que justifica os efeitos antiinflamatórios da *Punica granatum*.

Comparando-se a ação dos dois enxaguantes sobre a contagem de UFC/ml de *Streptococcus* orais na saliva nas duas coletas, observa-se que ocorreu uma redução da média de UFC/ml desses microrganismos na saliva nos dois grupos, sendo as diferenças entre os dois momentos de avaliação estatisticamente significativa. Os resultados deste estudo são semelhantes aos dados de Almeida et al. (2006) que avaliaram a ação do extrato de própolis a 6,25% e da clorexidina a 0,12% sobre a contagem de *Streptococcus mutans* salivares em escolares, aos achados de Srikanth; Shashikiran; Subba-Reddy (2008) que analisaram a ação do extrato de cacau sobre a contagem *Streptococcus mutans* em crianças, aos dados de Agarwal; Nagesh (2011) que avaliaram a ação do extrato de Tulsi a 4%, da clorexidina a 0,2% e do Listerine® sobre a contagem de *Streptococcus mutans* salivares em adolescentes, e aos resultados de Venkatesh-Babu; Vivek; Ambika (2011) que compararam a ação do extrato de cacau em relação a clorexidina sobre os níveis de *Streptococcus mutans* em crianças. Todos esses estudos constataram redução estatisticamente significativa na contagem desse microrganismo.

Os dados do presente estudo em relação à ação da *Punica granatum* sobre os *Streptococcus* orais confirmam os resultados dos estudos *in vitro* de Pereira et al. (2006) e Vasconcelos et al. (2006) que constataram a ação antimicrobiana e antiaderente do extrato da casca do fruto da romã sobre linhagens de *Streptococcus*. Esta avaliação também está de acordo com pesquisa de Menezes; Cordeiro; Viana (2006) que avaliaram a ação do extrato hidroalcoólico dos frutos da romã sobre a contagem de microrganismos do biofilme dental obtidos da área cervical das faces vestibulares dos primeiros molares permanentes, incisivos

centrais e incisivos laterais de ambos os arcos. Menezes; Cordeiro; Viana (2006) constataram que ocorreu uma inibição de 84% da contagem de microrganismos, sendo esse percentual de redução similar ao da clorexidina. No presente ensaio clínico foi observada uma redução percentual inferior. Essa diferença pode estar relacionada a baixa substantividade dos compostos fenólicos, já que o período entre a administração do enxaguatório e a coleta da saliva foi maior nesse estudo.

A ação do enxaguatório de clorexidina neste estudo corrobora os dados de pesquisa *in vitro* realizada por Jarvinen; Tenovuo; Huovinen (1993) que avaliaram a suscetibilidade de *Streptococcus mutans* obtidos de saliva de crianças e constataram que todos os isolados foram muito suscetíveis à ação deste antiséptico. Almeida; Bastos (2001) afirmaram que existem fortes indícios indicando que a clorexidina tem afinidade pelos *Streptococcus*, principalmente o *Streptococcus mutans*, eliminando-os do biofilme, além de desativar a via de transporte de açúcares desses microrganismos o que, provavelmente, justifica os resultados expressivos observados nos estudos clínicos.

Quanto a associação entre gênero e condições periodontais, estudo epidemiológico de Coutinho; Tostes (1997) observou que os quadros de gengivite mais severa foram mais prevalentes no gênero masculino. Chambrone et al. (2010) também constataram que os indivíduos do gênero masculino apresentaram maior quantidade de placa e inflamação gengival que os do gênero feminino. Em relação a inflamação gengival, os resultados da média do índice de sangramento à sondagem inicial (ISS-0 dia) discordam dos obtidos pelos autores, pois observou-se que este foi mais elevado nos escolares do gênero feminino. Contudo, constatou-se que a média foi inferior no gênero feminino nos dois exames subsequentes (ISS-7 dias e ISS-14 dias), mas sem diferença estatisticamente significativa em relação ao gênero masculino. Em relação ao índice de placa percebe-se que a média desse foi inferior no gênero feminino, nas três avaliações, corroborando os achados do estudo transversal de Chambrone et al. (2010). Também foi possível observar que ocorreu uma redução mais significativa do Índice de Placa (IP) nos escolares do gênero feminino ($p < 0,05$), sugerindo que os escolares do gênero feminino tem uma higiene bucal mais satisfatória que os do gênero masculino.

Quanto à classificação sócio-econômica, no presente estudo a maioria dos participantes (74,3%) está inserida na classe C. Estes resultados estão em desacordo com os obtidos em estudo epidemiológico de Neves; Passos; Oliveira (2011), realizado com 176 escolares em uma escola municipal de João Pessoa/PB – Brasil, o qual revelou um maior percentual pertencente a classe D.

Maltz e Silva (2001) afirmam que estudos sugerem existir uma correlação entre a prevalência de gengivite e o perfil socioeconômico da família. No presente estudo, os escolares foram agrupados em dois grupos, segundo esse perfil, sendo o primeiro composto pelas classes A e B e o segundo, pelas C e D. O teste t de *Student* não sugeriu diferença estatística significativa entre os grupos em relação ao acúmulo de biofilme e percentual de faces sangrantes, corroborando os achados desses autores que encontraram fraca correlação entre essas duas variáveis, através da análise do coeficiente de Spermán. Esses dados também estão de acordo com os resultados obtidos por Chambrone et al. (2010) que constataram uma alta prevalência da gengivite na faixa etária de sete a 14 anos em escolares de uma classe econômica média-alta, evidenciando que a inflamação gengival está mais associada ao controle deficiente do biofilme dental do que propriamente com a condição sócio-econômica.

Em relação a escolaridade dos pais, Chaves et al. (2011) observaram associação estatisticamente significativa entre essa variável e gengivite em crianças. No presente estudo não foi observada associação entre essa variável e Índice de Sangramento à Sondagem (ISS) nos escolares. Entretanto, foi observada uma associação significativa entre essa variável e o Índice de Placa avaliado no primeiro dia ($p= 0,02$), sugerindo que a pouca instrução dos pais pode ser um fator contribuinte para uma remoção satisfatória do biofilme pelos escolares.

Apesar de não ter sido objetivo de avaliação neste ensaio os pesquisadores observaram que ocorreu calcificação do biofilme (nas faces vestibulares dos dentes 16 e 26) de um escolar e alteração no paladar de dois pesquisados alocados no grupo que utilizou o enxaguatório de clorexidina. Esses achados corroboram os dados da literatura em relação aos efeitos colaterais associados ao uso desse agente antimicrobiano (ELEY, 1999; ERNEST et al.; 2005; CORTELLI; THÉONOUX, 2007, ZANATTA; ANTONIAZZI; RÖSING, 2010).

Segundo Lotufo et al. (2009) a American Dental Association avalia os produtos antiplaca e antigengivite por meio do *seu Seal of Acceptance Program*, através do qual deve-se ficar evidente a eficácia e segurança do produto para o uso em humanos. Este ensaio clínico revelou que o enxaguante obtido do extrato da casca do fruto da romã mostrou-se efetivo sobre o controle do biofilme dental acumulado e inflamação gengival presente, em comparação a clorexidina.

Não foram observadas e nem relatadas pelos escolares alterações dos tecidos bucais relacionadas ao uso do enxaguatório de romã. Esses dados são bastante promissores no que se refere a inexistência dos efeitos adversos do enxaguatório da romã aos tecidos bucais, sugerindo que o enxaguante à base de *Punica granatum* pode ser utilizado em produtos para higiene bucal com segurança.

7 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos e analisados no presente estudo pode-se concluir que:

- O perfil sócio-demográfico da amostra pesquisada constituiu-se, em sua maioria, por escolares do gênero masculino, com média de idade em torno de 10,43 anos, com maior frequência de escolares pertencentes a classe C;
- A correlação entre os dados sócio-econômicos e índices avaliados mostrou que: o IP foi mais elevado nos participantes do gênero masculino, sendo o IP inicial mais elevado nos escolares que apresentam pais com baixa escolaridade;
- O enxaguatório de romã possui potencial ação sobre o biofilme dental acumulado;
- O enxaguatório de romã apresenta eficácia antiinflamatória, sugerindo que pode ser utilizado com eficácia e segurança como produto para higiene bucal;
- Os enxaguatórios de romã e clorexidina foram efetivos na redução da contagem de *Streptococcus* orais.

REFERÊNCIAS¹

ADDY, M.; MORAN, J. Controle químico da placa supragengival. In: LINDHE, J.; LANG, N.P.; KARRING, T. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral**, 5 edição, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

ADDY, M.; MORAN, J.; NEWCOMBE, R.G. Meta-analyses of studies of 0.2% delmopinol mouth rinse as an adjunct to gingival health and plaque control measures. **Journal of Clinical Periodontology**, Oxford, v.34, p.58–65, 2007.

AGARWAL, P.; NAGESH, L. Comparative evaluation of efficacy of 0,2% Chlorhexidine, Listerine and Tulsi extract mouth rinses on salivary *streptococcus mutans* count of high school children – RCT. **Contemporary Clinical Trials**, p 1-7, 2011.

AINAMO, J.; BAY, I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. **Scandinavian Journal Dental Research**, Berlin, v.25, n.4, p.229-235, 1975.

AL-AHMAD, A. et al. Bacterial colonization of enamel *in situ* investigated using fluorescence *in situ* hybridization. **Journal of Medical Microbiology**, Spencers Wood, v.58, p.1359-1366, 2009.

ALMEIDA, R.V.D et al. Efeito clínico de solução anti-séptica a base de própolis em crianças cárie ativa. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, João Pessoa, v.6, n.1, p.87-92, 2006.

ALMEIDA, B.S.; BASTOS, J.R.M. Uso da clorexidina associada com a escovação no controle de placa dentária em escolares. *Revista Gaúcha de Odontologia*, Porto Alegre, v.49, n.3, p.135-138, 2001.

¹Este trabalho está de acordo com as normas técnicas de documentação elaboradas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), que se seguem:

NBR 6023: Informação e documentação – Referências – Elaboração, 08/2002;

NBR 6024: Informação e documentação – Numeração progressiva das seções de um documento, 05/2003;

NBR 6027: Informação e documentação – Sumário – Apresentação, 05/2003;

NBR 6028: Informação e documentação – Resumo – Apresentação, 11/2003;

NBR 6034: Informação e documentação –Índice– Apresentação, 12/2004;

NBR 10520: Informação e documentação – citações em documentos – apresentação, 08/2002;

NBR 14724: Informação e documentação – trabalhos acadêmicos– apresentação, 03/2011

ALVES, P.M. et al. Atividade antimicrobiana e antiaderente in vitro do extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn. (alecrim) sobre microrganismos cariogênicos. **Arquivos em Odontologia**, Belo Horizonte, v.44, n.2, p.53-58, 2008.

ALVES, T.M.S. et al. Atividade Antimicrobiana de Produtos Fluoretados sobre Bactérias Formadoras do Biofilme Dentário: Estudo in vitro. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, João Pessoa, v.10, n.2, p.209-216, 2010.

Al-ZOREKY, N.S. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. **International Journal of Food Microbiology**, v.134, p.244-248, 2009.

ANTONIO, A.G. et al. Preventive strategies in oral health promotion. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro v.10 (sup), p.279-286, 2005.

AQUINO, D.R. et al. Ação antimicrobiana do triclosan sobre microbiota cariogênica. **Revista Brasileira de Biociências**, Taubaté, v.10, n. 1-2, p.79-86, 2004.

ARAÚJO, C.R.F. et al. Concentração mínima bactericida do extrato do cajueiro sobre bactérias do biofilme dental. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, João Pessoa, v.9, n.2, p.187-191, 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE PESQUISA, **Critério de Classificação Econômica Brasil**. Disponível em: <http://www.abep.org/novo/Content.aspx?ContentID=301>. Acesso em 03 de fevereiro de 2012.

AUTIO-GOLD, J. The role of chlorhexidine in caries prevention. **Operative Dentistry**, v.33, n.6, p.710-716, 2008.

BHADBHADDE, S.J. et al. The antiplaque efficacy of pomegranate mouthrinse. **Quintessence International**, Hanover Park, v.42, n.1, p.29-35, 2011.

BOTELHO, M.A. et al. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.40, p. 349-356, 2007.

BOWEN, W.H.; KOO, H. Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferases: Role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. **Caries Research**, London, v.45, p.69-86, 2011.

BRASIL, Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, CONEP. Resolução nº 196/96 sobre pesquisa envolvendo seres humanos. Brasília, 1996.

BRASIL, Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA). Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2000/17_00rdc.htm. Acesso em 20 de abril de 2012.

BRASIL, Gabinete do Ministro, Portaria nº 971, de 03 de maio de 2006. Disponível em: 189.28.128.100/dab/docs/legislaçao/portaria971_03_05_06.pdf. Acesso em: 20 de abril de 2012.

BRASIL, Presidência da República, Casa Civil, Decreto 5813, de 22 de junho de 2006. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-006/2006/Decreto/D5813.htm. Acesso em: 20 de abril de 2012.

BRASIL, Ministério da Saúde, Departamento de Atenção Básica. Projeto SBBrasil, Manual da Equipe de Campo, 2010, 53p. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/bucal> Acesso em: 15/06/2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2011, 126p.

BULMAN, J.S.; OSBORN, J. F. Measuring diagnostic consistency. **British Dental Journal**, London, v.166, n.10, p.377-381, may, 1989.

BUSSCHER, H.J.; DOORNBUSCH, G.I.; VAN DER MEI, H.C. Adhesion of mutans Streptococci to glass with and without a salivary coating as studied in a parallel – plate flow chamber. **Journal of Dental Research**, Washington, v.71, n.3, p.491-500, 1992.

CALIXTO, J.B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: A personal view. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, p.131–134, 2005.

CASAROTO, A.R.; LARA, V.S. Phytotherapies for candida-associated denture stomatitis. **Fitoterapia**, v.81, p.323-328, 2010.

CHAMBRONE, L. et al. Prevalência e severidade de gengivite em escolares de 7 a 14 anos: condições locais associadas ao sangramento à sondagem. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v.15, n.2, p.337-343, 2010.

CHAVES, R.A. et al. Consultório odontológico na escola: análise da saúde gengival e do nível de higiene oral. **Revista Gaúcha de Odontologia**, Porto Alegre, v.59, n.1, p.29-34, 2011.

CIANCIO, S. Improving oral health: current considerations. **Journal of Clinical Periodontology**, Oxford, v.30, Suppl.5, p.4–6, 2003.

CORTELLI, J.R.; THÉNOUX, R.E.S. The effect of mouthrinses against oral microorganisms. **Brazilian Oral Research**, São Paulo, v.21, Spec Iss 1, p.23-28, 2007.

COUTINHO, T.C.; TOSTES, M.A. Prevalência de gengivite em crianças. **Revista Gaúcha de Odontologia**, Porto Alegre, v.45, n.3, p.170-174, 1997.

COWAN, M.M. Plant Products as Antimicrobial Agents. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v.12, n.4, p.564–582, 1999.

DANTAS, R.V.F. Estudo residual de um fitoterápico sobre a condição gengival de escolares em Joao Pessoa-PB, 2010. Originalmente apresentado como monografia, Universidade Federal da Paraíba.

DAVOGLIO, R.S. et al. Fatores associados a hábitos de saúde bucal e utilização de serviços odontológicos entre adolescentes. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.25, n.3, p.655-667, 2009.

DiSILVESTRO, R.A.; DiSILVESTRO, D.J.; DiSILVESTRO, D.J. Pomegranate extract mouth rinsing effects on saliva measures relevant to gingivitis risk. **Phytotherapy Research**, Malden, v.23, p.1123-1127, 2009.

DOLIŃSKA, E.; STOKOWSKA, W. Short time effect of elmex® and Listerine® mouthrinses on plaque in 12-year-old children. **Advances in Medical Sciences**, v.51, Suppl.1, p.73-76, 2006.

DRUMOND MRS et al. Avaliação do efeito da própolis sobre biofilme dentário, doença gengival e nível de s. mutans em saliva de crianças livres de cárie. **Odontologia Clínica Científica**, Recife, v.5, n.4, p. 313-319, 2006.

DUARTE, C.A.; LOTUFO, R.F.M.; RODRIGUES, A.S. Biofilme dentário-importância clínica. In: GUEDES-PINTO, A.C. **Odontopediatria**, 8ª edição, São Paulo: Santos, 2010, 1007p.

ELEY, B.M. Antibacterial agents in the control of supragingival plaque — a review. **British Dental Journal**, London v.186, n. 6, p.286-296, 1999.

ENDO, E.H. et al. Potent antifungal activity of extracts and pure compound isolated from pomegranate peels and synergism with fluconazole against *Candida albicans*. **Research in Microbiology**, v.161, p.534-540, 2010.

ERNST, C.P. et al. Clinical study effectiveness and side effects of hexetidine and chlorhexidine mouth rinses versus a negative control. **Quintessence International**, Hanover Park, v.36, p.641-652, 2005.

FILOGÔNIO, C.F.B. et al. Effect of vegetable oil (Brazil nut oil) and mineral oil (liquid petrolatum) on dental biofilm control. **Brazilian Oral Research**, São Paulo, v.25, n.6, p.556-561, 2011.

FINE, D.H. et al. Effect of an essential oil-containing antiseptic mouthrinse on plaque and salivary *Streptococcus mutans* levels. **Journal of Clinical Periodontology**, Oxford, v.27, 157–161, 2000.

FINE, D.H. et al. In vivo antimicrobial effectiveness of an essential oil-containing mouth rinse 12h after a single use and 14 days' use. **Journal of Clinical Periodontology**, Oxford, v.32, p.335-340, 2005.

FINE, D.H. Listerine: past, present and future —a test of thyme. **Journal of Dentistry**, Exeter, v.38, p.2-5, 2010.

FISCHER, U.A.; CARLE, R.; KAMMERER, D.R. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD-ESI/MS. **Food Chemistry**, v.127, p.807–821, 2011.

FRANCISCO, K.S.F. Fitoterapia: Uma opção para o tratamento odontológico. **Revista Saúde**, Guarulhos, v. 4, n.1, p.18-24, 2010.

FRANCO NETO, C.A. et al. Comparative analysis of the effect of two chlorhexidine mouthrinses on plaque accumulation and gingival bleeding. **Brazilian Oral Research**, São Paulo, v.22, n.2, p.139-144, 2008.

FREIRES, I.A. et al. Atividades antibacteriana e antiaderente in vitro de tinturas de *Schinus terebinthifolius* (Aroeira) e *Solidago microglossa* (Arnica) frente a bactérias formadoras do biofilme dentário. **Odontologia Clínico Científica**, Recife, v.9 n.2, p.139-143, 2010.

FURIGA, A. et al. Effect of antiplaque compounds and mouthrinses on the activity of glucosyltransferases from *Streptococcus sobrinus* and insoluble glucan production. **Oral Microbiology and Immunology**, Singapore, v.23, p.391-400, 2008.

GOLD, O.G.; JORDAN, H.V.; VAN HOUTE, J.A selective Medium for *Streptococcus mutans*. **Archives of Oral Biology**, Oxford, v.18, p. 1357-1364, 1973.

GREENE, J.C.; VERMILLION, J. The simplified oral hygiene index. **The Journal of the American Dental Association**, Chicago, v.68, p.7-13, 1964.

GROPPO, F.C. Use of Phytotherapy in Dentistry. **Phytotherapy Research**, Malden, v.22, p.993–998, 2008.

GUNSOLLEY, J.C. Clinical efficacy of antimicrobial mouthrinses. **Journal of Dentistry**, v.38, p.6-10, 2010.

HAFFAJEE, A.D.; YASKELL, T.; SOCRANSKY, S.S. Antimicrobial effectiveness of an herbal mouthrinse compared with an essential oil and a chlorhexidine mouthrinse. **Journal of American Dental Association**, Chicago, v.139, p.606-612, 2008.

HERRERA, D. et al. Efficacy of a 0.15% benzydamine hydrochloride and 0.05% cetylpyridinium chloride mouthrinse on 4-day de novo plaque formation. **Journal of Clinical Periodontology**, Oxford, v.32, p.595–603, 2005.

JARVINEN, H.; TENOVUO, J.; HUOVINEN, P. In Vitro Susceptibility of *Streptococcus mutans* to Chlorhexidine and Six Other Antimicrobial Agents. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.37, n.5, p.1158-1159, 1993.

JAYAPRAKASH, K.; VEERESHA, K.L.; HIREMATH, S.S. A comparative study of two mouthrinses on plaque and gingivitis in school children in the age group of 13-16 years in Bangalore city. **Journal of the India Society of Pedodontics and Preventive Dentistry**, Sri Ganganar, v,25, n.3, p.126-129, 2007.

JENKINS, S.; ADDY, M.; NEWCOMBE, R. Triclosan and sodium lauryl sulphate mouthwashes. Effects on salivary bacterial counts. **Journal of Clinical Periodontology**, Oxford, v.18, p.140-144, 1991.

JONES, R.D. et al. Triclosan: a review of effectiveness and safety in health care settings. **American Journal of Infection Control**, New York, v.28, p.184-196, 2000.

- JOVITO, V.C. et al. Avaliação *in vivo* de dentifrício contendo extrato da *Eugenia uniflora* L. (pitanga) sobre indicadores de saúde bucal. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, João Pessoa, v.9, n.1, p.81-86, 2009.
- KAUR, G. et al. Punica granatum (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice. **Food and Chemical Toxicology**, v.44, p.984-993, 2006.
- LANG, N.P.; MOMBELLI, A.; ATTSTRÖM, R. Biofilmes e Cálculos Orais. In: LINDHE, J.; LANG, N.P.; KARRING, T. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral**, 5 edição, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.
- LANSKY, E.P.; NEWMAN, R.A. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. **Journal of Ethnopharmacology** v.109, p.177–206, 2007.
- LEE, C.J. Anti-inflammatory effects of *Punica granatum* Linn e in vitro and in vivo. **Food Chemistry**, v.118, p.315–322, 2010.
- LEE, DA-HONG et al. Inhibitory effect of *Aralia continentalis* on the cariogenic properties of Streptococcus mutans. **Journal of Ethnopharmacology**, v.137, 979– 984, 2011.
- LIMA JÚNIOR, J.F. et al. O Uso de Fitoterápicos e a Saúde Bucal. **Saúde em Revista**, Piracicaba, v.7, n.16, p.11-17, 2005.
- LOTUFO, R.F.M. et al. Controle químico do biofilme dentário supragengival: Revisão da literatura. **Revista Periodontia**, v.19, n.1, p.34-42, 2009.
- MACHADO, T.B. et al. In vitro activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analogues, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.21, p.279-284, 2003.
- MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; VEIGA JÚNIOR., V.F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, São Paulo, v.25, n. 3, p.429-438, 2002.
- MALTZ, M.; SILVA, B.B. Relação entre cárie, gengivite e fluorose e nível socioeconômico em escolares. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.35, n.2, p.170-176, 2001.
- MARSH, P.D. Microbiological aspects of the chemical control of plaque and gingivitis. *Journal of Dental Research*, v.71, n.7, p.1431-1438, 1992.
- MARSH, P.D. Controlling the oral biofilm with antimicrobials. **Journal of Dentistry**, Exeter, v.38, p.11-15, 2010.
- MARSH, P.; MARTIN, M.V. **Microbiologia oral**. São Paulo: 4ª edição, Santos, 2005, 192p.

- MENEZES, S.M.S.; CORDEIRO, L.N.; VIANA, G.S.B. *Punica granatum* (Pomegranate) extract is active against dental plaque. **Journal of Herbal Pharmacotherapy**, Massachusetts, v.6, n.2, p.79-92, 2006.
- MIRDEHGHAN, S.H.; RAHEMI, M. Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. **Scientia Horticulturae**, v.111, p.120-127, 2007.
- MORAN, J.H. Home-use oral hygiene products: mouthrinses. **Periodontology 2000**, Malden, v.48, p.42-53, 2008.
- NELSON-FILHO, P.; SILVA, L.A.B. In: ASSED, S. Adequação do meio bucal. In: Odontopediatria: bases científicas para a prática clínica. São Paulo: Artes Médicas, 2005.
- NEVES, A.M.; PASSOS, I.A.; OLIVEIRA, A.F.B. Estudo da prevalência e severidade de gengivite em população de baixo nível socioeconômico. **Odontologia Clinico Científica**, Recife, v.9, n.1, p.65-71, 2010.
- OH, E.R.T.J.; WANG, H.L. Periodontal diseases in the child and adolescent. **Journal Clinical Periodontology**, Oxford, v.29, p.400-410, 2002
- OLIVEIRA, L.P. et al. Atividade citotóxica e antiangiogênica de *Punica granatum* L., Punicaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.20, n.2, p.201-207, 2010.
- OLTRAMARI-NAVARRO, P.V.P. et al. Effectiveness of 0.50% and 0.75% chlorhexidine dentifrices in orthodontic patients: A double-blind and randomized controlled trial. **American Journal of Orthodontics and DentoFacial Orthopedics**, v.136, p.651-656, 2009.
- OUHAYOUN J.P. Penetrating the plaque biofilm: impact of essential oil mouthwash. **Journal of Clinical Periodontology**, Oxford, v.30 (Suppl. 5): 10-12, 2003.
- OPPERMANN, R.V. et al. Proposal for the teaching of the chemical control of supragingival biofilm. **Brazilian Oral Research**, São Paulo v.24, n. Spec 1, p.33-36, 2010.
- PAES LEME, A.F. et al. The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation- new insight. **Journal Dentistry Research**, Michigan, v.85, n.10, p.878-887, 2006.
- PEREIRA, E.M.R. et al. Clinical Evidence of the Efficacy of a Mouthwash Containing Propolis for the Control of Plaque and Gingivitis: A Phase II Study. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p1-7, 2011.
- PEREIRA, J.V. et al. Estudos com extrato da *Punica granatum* Linn. (romã): efeito antimicrobiano in vitro e avaliação clínica de um dentifrício sobre microrganismos do biofilme dental. **Revista Odonto Ciência**, v.20, n.49, p.262-269, 2005.
- PEREIRA, J.V. et al. Efeito antibacteriano e antiaderente in vitro do extrato de *Punica granatum* Linn. Sobre microrganismos do biofilme dental. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.1, p.88-93, 2006.

PIYAWAN, S. et al. Inhibitory effects of active compounds from *Punica granatum* pericarp on verocytotoxin production by enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. **Journal of Health Science**, v.51, n.5, p.590-596, 2005.

PIERI, F.A. Efeitos clínicos e microbiológicos do óleo de copaíba (*Copaifera officinalis*) sobre bactérias formadoras de placa dental em cães. **Arquivo Brasileiro em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.3, p.578-585, 2010.

PIERI, F.A.; et al. Bacteriostatic Effect of Copaiba Oil (*Copaifera officinalis*) against *Streptococcus mutans*. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v.23, n.1, p.36-38, 2012.

PINHEIRO, M.L.P.; ANDRADE, E.D. Fitoterápicos como alternativa ao uso de medicamentos convencionais em odontologia. **Revista Abo Nacional**, v.16, n.8, p.107-110, 2008.

PIRES, J.R.; ROSSA JÚNIOR, C.; PIZZOLITTO, A.C. In vitro antimicrobial efficiency of a mouthwash containing triclosan/gantrez and sodium bicarbonate. **Brazilian Oral Research**, São Paulo, v.21, n.4, p.342-347, 2007.

RAMOS, T.M. et al. Condições bucais e hábitos de higiene oral de gestantes de baixo nível sócio-econômico no município de Aracajú-SE. **Pesquisa Brasileira de Odontopediatria e Clínica Integrada**, João Pessoa, v.6, n.3, p.229-235, 2006.

RODRIGUES, I.S.C. et al. Antiplaque and antigingivitis effect of lippie sidoides. a double-blind clinical study in humans. **Journal of Applied Oral Science**. Bauru, v.17, n.5, p.404-407, 2009.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v. 30, n. 12, p.3875-3883, 1991.

SANDT, C. et al. Role of the ammonium group in the diffusion of quaternary ammonium compounds in *Streptococcus mutans* biofilms. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Birmingham, v.60, 1281–1287, 2007.

SANTOS FILHO, L. **Manual de microbiologia clínica**. 4ª edição, João Pessoa: Editora Universitária/ UFPB, 2006, p.158.

SANTOS, V.L. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Maytenus rígida* Mart. (Celastraceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu v.13, p.68-72, 2011.

SARTI, S. J.; CARVALHO, J. C. T. Fitoterapia e fitoterápicos. In: CARVALHO, J. C. T. **Fitoterápicos anti-inflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas**. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004, p. 13-38.

SEERAM, N. et al. Rapid large scale purification of ellagitannins from pomegranate husk, a by-product of the commercial juice industry. **Separation and Purification Technology**, v.41, p.49–55, 2005.

SEMENOFF, T.A.D.V.; SEMENOFF-SEGUNDO, A.; BIASOLI, E.R. In vitro antimicrobial effectiveness of mouthwashes against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Revista Odonto Ciência**, Porto Alegre, v.23, n.4, p.351-354, 2008.

SHARMA, N.C. et al. Antiplaque and antigingivitis effectiveness of a hexetidine mouthwash. **Journal of Clinical Periodontology**, Oxford, v.30, p.590-594, 2003.

SIGNORETTO, C. et al. Drinking habits are associated with changes in the dental plaque microbial community. **Journal of Clinical Microbiology**, v.48, n.2, p.347-356, 2010.

SILNESS, J.; LÖE, H. Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. **Acta Odontologica Scandinavica**, v.22, p.121-135, 1964.

SILVA, R.R. et al. Efeito de flavonóides no metabolismo do ácido araquidônico. **Medicina**, Ribeirão Preto, v.35, n.2, p.127-133, 2002.

SILVA, V.A. et al. Eficácia antimicrobiana do extrato do *Croton sonderianus* Müll. sobre bactérias causadoras da cárie dentária. **Revista de Odontologia da UNESP**, Araraquara, v.40, n.2, p. 69-72, 2011.

SILVEIRA, J.L.G.C.; OLIVEIRA, V.; PADILHA, W.W.N. Avaliação da redução do índice de placa visível e do índice de sangramento gengival em uma prática de promoção de saúde bucal com crianças. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, São Paulo, v.16, n.2, p.169-174, 2002.

STOEKEN, P.A. et al. Inhibition of “de novo” plaque formation with 0.12% chlorhexidine spray compared to 0.2% spray and 0.2% chlorhexidine mouthwash. **Journal of Periodontology**, v.78, n.5, p.899-904, 2007.

SRIKANTH, R.K.; SHASHIKIRAN, N.D.; SUBBA REDDY, V.V. Chocolate mouth rinse: Effect on plaque accumulation and mutans streptococci counts when used by children. **Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry**, Sri Ganganagar, v.26, n.2, p.67-70, 2008.

TANOMARU, J.M.G. et al. Antibacterial activity of four mouthrinses containing triclosan against salivary staphylococcus aureus. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.39, p.569-572, 2008.

TOASSI, R.F.C.; PETRY, P.C. Motivação no controle do biofilme dental e sangramento gengival em escolares. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.36, n.5, p.634-637, 2002.

TREIN, M.P. et al. Formação de biofilme em diferentes concentrações de oxigênio. **Revista Odonto Ciência**, Porto Alegre, v. 21, n. 53, p.253-260, 2006

THOMAS, E. Efficacy of two commonly available mouth rinses used as preprocedural rinses in children. **Journal of India Society of Pedodontics and Preventive Dentistry**, Karnataka, v.29, n.2, p.113-116, 2011.

VALENTE, M.S.G. Adolescencia y salud bucal. **Adolescencia Latinoamericana**, v.1, p.170-174, 1998.

- VASCONCELOS, L.C.S. et al. Use of *Punica granatum* as an antifungal agent against candidosis associated denture stomatitis. **Mycoses**, v.46, p.192-196, 2003.
- VASCONCELOS, L.C.S. et al. Minimum Inhibitory concentration of adherence of *Punica granatum* Linn (pomegranate) gel against *S. mutans*, *S. mitis* and *C. albicans*. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v.17, n.3, p.223-227, 2006.
- VIILLALPANDO, K.T. et al. a randomized clinical evaluation of triclosan-containing dentifrice and mouthwash association in the control of plaque and gingivitis. **Quintessence Interanational**, Hanover Park, v.41, n.10, p. 855-861, 2010.
- VIDAL, A. et al. Studies on the toxicity of *Punica granatum* L. (Punicaceae) whole fruit extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v.89, p.295–300, 2003.
- VINAGRE, N.P.L. et al. Efetividade clínica de um enxaguatório bucal fitoterápico com tintura padronizada de *Calendula officinalis* na manutenção da saúde periodontal. **Revista de Odontologia da UNESP**, Araraquara, v.40, n.1, p.30-35, 2011.
- VIUDA-MARTOS, M.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A. Pomegranate and its many functional components as related to human health: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.9, p.635-654, 2010.
- VENKATESH-BABU, N.S.; VIVEK, D.K.; AMBIKA, G. Comparative evaluation of chlorhexidine mouthrinse versus cacao bean husk extract mouthrinse as antimicrobial agents in children. **European Archives of Paediatric Dentistry**, v.12, n.5, p.245-249, 2011.
- YÉVENES, I. et al. Comparison of mouthrinses containing chlorhexidine and other active agents with chlorhexidine mouthrinse-gel: effects on de novo plaque formation. **Revista Odonto Ciência**, Porto Alegre, v.24, n.4, p.345-348, 2009.
- ZANATTA, F.B.; ANTONIAZZI, R.P.; RÖSING, C.K. Staining and calculus formation after 0.12% chlorhexidine rinses in plaque-free and plaque covered surfaces: a randomized trial. **Journal of Applied Oral Science**. Bauru, v.18, n.5, p.515-521, 2010.
- ZANELA, N.L.M.; BIJELLA, M.F.T.B.; ROSA, O.P.S. Influência de bochechos com soluções antimicrobianas na inibição da placa dentária e nos níveis de *streptococcus mutans* em crianças. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, São Paulo, v.16, n.2, p.101-106, 2002.
- ZEE, K.Y.; RUNDEGREN, J.; ATTSTROM, R. Effect of delmopinol hydrochloride mouthrinse on plaque formation and gingivitis in "rapid" and "slow" plaque formers. **Journal of Clinical Periodontology**, Oxford, v.24: 486-491, 1997.
- WEN, Z. et al. Biofilm formation and virulence expression by *Streptococcus mutans* are altered when grown in dual-species model. **BMC Microbiology**, v.10, n.111, p.1-9, 2010.
- WOLFF, M.S.; LARSON, L. The cariogenic dental biofilm: good, bad or just something to control? **Brazilian Oral Research**, São Paulo, v.23 (SpecIss 1)p.31-38, 2009.

APÊNDICE A- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para os responsáveis

Eu _____, RG _____,
Estado Civil _____, _____ anos, residente na _____, Nº
_____, Bairro _____, Cidade _____,

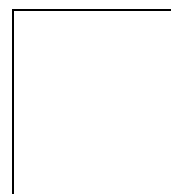
Declaro ser responsável pelo aluno e estar de acordo com os seguintes pontos:

O trabalho "Avaliação clínica de um enxaguatório à base da romã (*Punica granatum* L.) sobre o controle do biofilme dental e a inflamação gengival em escolares" terá como objetivo avaliar clinicamente a ação antimicrobiana de um enxaguatório, à base de *Punica granatum* L. (romã) sobre o controle do biofilme dentário e inflamação gengival em escolares na faixa etária de 10 a 12 anos.

- Não haverá utilização de nenhum indivíduo como grupo placebo, visto não haver procedimento terapêutico neste trabalho científico.
- O voluntário poderá se recusar a participar, ou retirar seu consentimento a qualquer momento da realização do trabalho ora proposto, não havendo qualquer penalização ou prejuízo para o mesmo.
- Será garantido o sigilo dos resultados obtidos neste trabalho, assegurando assim a privacidade dos participantes em manter tais resultados em caráter confidencial.
- Não haverá qualquer despesa ou ônus financeiro aos participantes voluntários deste projeto científico e não haverá qualquer procedimento que possa incorrer em danos físicos ou financeiros ao voluntário e, portanto, não haveria necessidade de indenização por parte da equipe científica e/ou da Instituição responsável.
- Qualquer dúvida ou solicitação de esclarecimentos, o participante poderá contatar a equipe científica com a Professora Dra. Jozinete Vieira Pereira, na Av. das Baraúnas, s/n Bodocongó.
- Ao final da pesquisa, se for do meu interesse, terei livre acesso ao conteúdo da mesma, podendo discutir os dados, com o pesquisador; Vale salientar que este documento será impresso em duas vias e uma delas ficará em minha posse.

Diante dos esclarecimentos prestados, autorizo meu filho (a) _____, impúbere, nascido aos/...../....., a participar do estudo 'Avaliação clínica de um enxaguatório à base da romã (*Punica granatum* L.) sobre o controle do biofilme dental e inflamação gengival em escolares, na qualidade de voluntário.

Campina Grande,.....de.....de



Participante

APÊNDICE B – Ficha de avaliação clínica dos pacientes

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA – UEPB
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE – CCBS
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA

PESQUISA: Avaliação clínica de um enxaguatório à base da romã (*Punica granatum* L.) sobre o controle do biofilme dental e a inflamação gengival em escolares

FICHA DE AVALIAÇÃO CLÍNICA – CRIANÇAS

NOME: _____ IDADE: _____ GÊNERO: _____

PAI: _____

MÃE: _____

ENDEREÇO: _____

TELEFONE: _____

DATA DO EXAME: ____/____/____

Nº IDENTIFICAÇÃO

GRUPO DE TRATAMENTO

1. Perfil Sócio-econômico da família²:

1 Itens

	Quantidade de Itens					Pontos
	0	1	2	3	4 ou +	
Televisão em cores						
Rádio						
Banheiro						
Automóvel						
Empregada mensalista						
Máquina de lavar						
Videocassete e/ou DVD						
Geladeira						
Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira Duplex)						
Total de Pontos						

² Segundo Critério de Classificação Econômica Brasil

2 Grau de Instrução do chefe de família

Nomenclatura Antiga	Nomenclatura Atual		Alternativa
Analfabeto/ Primário incompleto	Analfabeto/ Até 3ª série Fundamental/ Até 3ª série 1º. Grau	0	
Primário completo/ Ginásial incompleto	Até 4ª série Fundamental / Até 4ª série 1º. Grau	1	
Ginásial completo/ Colegial incompleto	Fundamental completo/ 1º. Grau completo	2	
Colegial completo/ Superior incompleto	Médio completo/ 2º. Grau completo	4	
Superior completo	Superior completo	8	

Critério Brasil

Classe	Pontos	Classificação
A1	42 -46	
A2	35-41	
B1	29-34	
B2	23-28	
C1	18-22	
C2	14-17	
D	8-13	
E	0-7	

2. Considerações sobre a saúde bucal e sistêmica:

2.1 Escova os dentes todos os dias? SIM () NÃO ()

Quantas vezes por dia _____

2.2 O que utiliza para fazer a higiene bucal?

() Escova de dente () Creme dental () Fio dental () Palito () Outro _____

2.3 Já fez uso de algum bochecho? Qual? _____

2.3.1 Se sim, quando?

() Estou fazendo () Há um mês () Há dois meses ou mais

2.4 Quando foi ao dentista pela última vez _____

2.5 Hábitos

() Chupar o dedo () Chupar chupeta () Onicofagia (roer unhas) () Outro

2.6 Apresenta alguma doença sistêmica () Sim () Não

Qual? _____

2.6.1 Faz uso de alguma medicação regularmente () Sim () Não

Qual? _____

APÊNDICE C - Ficha para avaliar higiene bucal

Número de identificação _____

IHO-S (Greene; Vermillion, 1964)

SCORES:

- 0 - Ausência de placa
- 1 - Placa cobrindo não mais que 1/3 da superfície
- 2 - Placa cobrindo mais que 1/3 e menos que 2/3
- 3 - Placa cobrindo mais que 2/3 superfície

FACE	V16	V11	V26	L36	V31	L46
SCORE						

IHO-S _____

- () IHO-S superior 1,5 – aluno incluído no estudo
- () IHO-S inferior a 1,5 - aluno não incluído no estudo

APÊNDICE D - Ficha para Coleta dos Índices de Placa e Sangramento Gengival
 Nº identificação _____

IP (Silness; Loe, 1964)

Dente	16	12	24	36	32	44
Face						
VESTIBULAR						
LINGUAL/PALATINA						
MESIAL						
DISTAL						
TOTAL P/ DENTE						

IP: _____
 DATA DO EXAME: _____
 Dia 1 Dia 7 Dia 15

ISS (Ainamo; Bay, 1975)

	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
VESTIBULAR														
LINGUAL/PALATINA														
MESIAL														
DISTAL														

	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37
VESTIBULAR														
LINGUAL/PALATINA														
MESIAL														
DISTAL														

ISS: _____
 DATA DO EXAME: ____/____/____
 Dia 1 Dia 7 Dia 15

Obs:



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
Departamento de Odontologia

Termo de Compromisso do Instituto (Local da Pesquisa)
Avaliação clínica de um enxaguatório à base da romã (*Punica granatum L.*)
sobre o controle do biofilme dentário e inflamação gengival em escolares

Instituição: Escola Municipal Félix Araújo - Campina Grande, Paraíba.

A instituição educacional acima identificada assume compromisso de:

- I. Autorizar a realização da pesquisa em questão com os escolares;
- II. Reunir pais e/ou responsáveis pelos escolares da instituição para esclarecimentos sobre a pesquisa em questão e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;

Campina Grande, 26 de 10 de 2011.

Responsável pela Instituição


Prof. Flávio Romero Guimarães
Secretário de Educação



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
Departamento de Odontologia

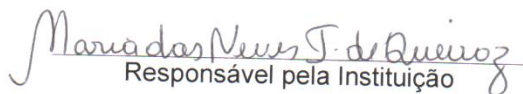
Termo de Compromisso do Instituto (Local da Pesquisa)
Avaliação clínica de um enxaguatório à base da romã (*Punica granatum* L.)
sobre o controle do biofilme dental e a inflamação gengival em escolares

Instituição: Escola Municipal Maria Minervina - Campina Grande, Paraíba.

A instituição educacional acima identificada assume compromisso de:

- I. Autorizar a realização da pesquisa em questão com os escolares;
- II. Reunir pais e/ou responsáveis pelos escolares da instituição para esclarecimentos sobre a pesquisa em questão e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;

Campina Grande, 06 de 12 de 2011.


Responsável pela Instituição

DECLARAÇÃO

Declaro que os enxaguatórios utilizados na pesquisa de mestrado de Danúbia Roberta de Medeiros Nóbrega foram preparados na Dilecta Farmácia de Manipulação, situada na Avenida Camilo de Holanda 500, centro, João Pessoa, CNPJ 04.312.853.0001-10, sob a responsabilidade de Célia Maria Vargas da Costa Buzzo CRF 2696, farmacêutica responsável técnica pela empresa.

João Pessoa, 10 de fevereiro de 2012,

Celia Vargas Buzzo

Célia Vargas Buzzo – CRF 2696

Celia Vargas Buzzo
CRF - PB 2696
Farmacêutica Responsável
DILECTA FARMÁCIA DE MANIPULAÇÃO

Vigilância Sanitária
JEVS 353870901-519-000001-1-6
M.S. 1.05.983-7

CONTROLE DE QUALIDADE
Laudo de Análise



Farmacêutica Responsável:
Paula M. Pezzatti
Dra. Paula Mariana Pezzatti
CRF-SP 35044

Flores & Ervas
Qualidade Farmacêutica

Estrada Vicente Belline, 175 - Piracicaba - SP

E-mail: floreseervas@floreseervas.com.br Website: www.floreseervas.com.br

Fone: (19) 3422-1106



EMPRESA BRASILEIRA DE RADIAÇÕES LTDA.

INFORMAÇÕES GERAIS

Nosso Lote :	026216	Parte utilizada :	Casca	Validade/ fornecedor:	09/2011
Nomenclatura :	ROMÃ TINTURA	Esterilização :	Não houve	Validade/ nosso lote :	09/2012
Nome científico :	Punica granatum	Manufatura :	09/2009	Método de secagem :	-----
Origem :	Nacional	Lote de origem :	ROTI 124		

ASPECTOS MACRO E MICROSCÓPICOS

NA

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

Cor : Alaranjado Odor : Característico Sabor : Característico

CARACTERÍSTICAS FÍSICO - QUÍMICAS

Aspecto	Especificação	Resultado	Especificação	Resultado
Aspecto		Líquido límpido	pH	4,80
Elementos estranhos		NA	Solubilidade	Solúvel em água
Umidade		NA	Densidade	0,915 g/mL
Cinzas totais		NA	Líquido extrator	Solução hidroalcolólica
Cinzas insolúveis		NA	Teor alcoólico	55 °GL
Metais pesados			Resíduo seco	1,97 %NA

TESTES DE IDENTIFICAÇÃO

Positivo para Taninos 1

CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS

Análise	Especificação	Resultado
Contagem padrão em placas	Máx. 10.000 ufc/g	De acordo
Bolores e leveduras	Máx. 100 ufc/g ou ml	De acordo
Contagem de enterobactérias	Máx. 100 ufc/g ou ml	De acordo
<i>Escherichia coli</i> (coliformes)	Ausência	De acordo
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausência	De acordo
<i>Pseudomonas aeruginosas</i>	Ausência	De acordo
<i>Salmonella sp</i>	Ausência	De acordo

TEOR DE PRINCÍPIO ATIVO

Especificação	Resultado	Método utilizado
Teor de Fenólicos expressos em Ácido Gálico:	22,2mg/mL 2	

1-Identificação por colorimetria
2-Espectrometria na região ultravioleta-visível
3-Cromatografia por camada delgada
4-Outros

CONCLUSÃO DA ANÁLISE

APROVADO

DATA DA ANÁLISE

10/9/2009

DATA DA IMPRESSÃO

20/1/2010

OBS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Farmacopéia Brasileira, 4.ed. São Paulo: Atheneu, 2000.
SIMÕES, C.M.O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5.ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Editora UFRGS/UFSC, 2004.

- AS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS PRESENTES NESTE LAUDO ATENDEM AOS LIMITES ESTABELECIDOS PELO MINISTÉRIO DA SAÚDE E SUA VALIDADE SERÁ DESCONSIDERADA CASO O PRODUTO SEJA MANIPULADO OU ARMAZENADO EM LOCAIS INADEQUADOS.
- ESTE PRODUTO CORRESPONDE AO PADRÃO DE QUALIDADE DE IDENTIFICAÇÃO ESTABELECIDO PELA RDC 204 DE 14/11/2006.
- AS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS, METAIS PESADOS E OUTRAS FORAM CEDIAS PELO FORNECEDOR CREDENCIADO PELA ANVISA.
- "NA" CORRESPONDE A TESTE NÃO APLICÁVEL.
- A ALTERAÇÃO DE COR PODERÁ OCORRER, POR SE TRATAR DE PRODUTO NATURAL.


UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA-UEPB
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA- PRPGP
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS
COMPROVANTE SISNEP

Andamento do projeto - CAAE - 0676.0.133.000-11

Título do Projeto de Pesquisa				
AVALIAÇÃO CLÍNICA DE UM ENXAGUATÓRIO À BASE DA ROMÃ (<i>Punica granatum</i> Linn.) SOBRE O CONTROLE DE BIOFILME DENTÁRIO E INFLAMAÇÃO GENGIVAL EM ESCOLARES				
Situação	Data Inicial no CEP	Data Final no CEP	Data Inicial na CONEP	Data Final na CONEP
Aprovado no CEP	04/11/2011 12:19:04	09/11/2011 09:22:28		

Descrição	Data	Documento	Nº do Doc	Origem
3 - Protocolo Aprovado no CEP	09/11/2011 09:21:52	Folha de Rosto	0676.0.133.000-11	CEP
4 - Protocolo Aprovado no CEP	09/11/2011 09:22:28	Folha de Rosto	0676.0.133.000-11	CEP
2 - Recebimento de Protocolo pelo CEP (Check-List)	04/11/2011 12:19:04	Folha de Rosto	0676.0.133.000-11	CEP
1 - Envio da Folha de Rosto pela Internet	24/10/2011 10:02:51	Folha de Rosto	FR473374	Pesquisador

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
 PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
 COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA


 Prof.ª Dra. Doralícia Pedrosa de Araújo
 Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa