

MARILENE DA CRUZ MAGALHÃES BUFFON

**APLICAÇÃO DO EXTRATO DE AGRIÃO D'ÁGUA (*Nasturtium officinale*
R. Br.) NO CONTROLE DA PLACA BACTERIANA: UMA PROPOSTA
PARA A SAÚDE PÚBLICA.**

CURITIBA

2005

MARILENE DA CRUZ MAGALHÃES BUFFON

**APLICAÇÃO DO EXTRATO DE AGRIÃO D'ÁGUA (*Nasturtium officinale*
R. Br.) NO CONTROLE DA PLACA BACTERIANA: UMA PROPOSTA
PARA A SAÚDE PÚBLICA.**

Tese apresentada como exigência para
obtenção do título de Doutor em Ciências, pelo
Curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal,
do Setor de Ciências Agrárias da Universidade
Federal do Paraná,

Orientador: Prof. Dr. Vismar da Costa Lima
Neto

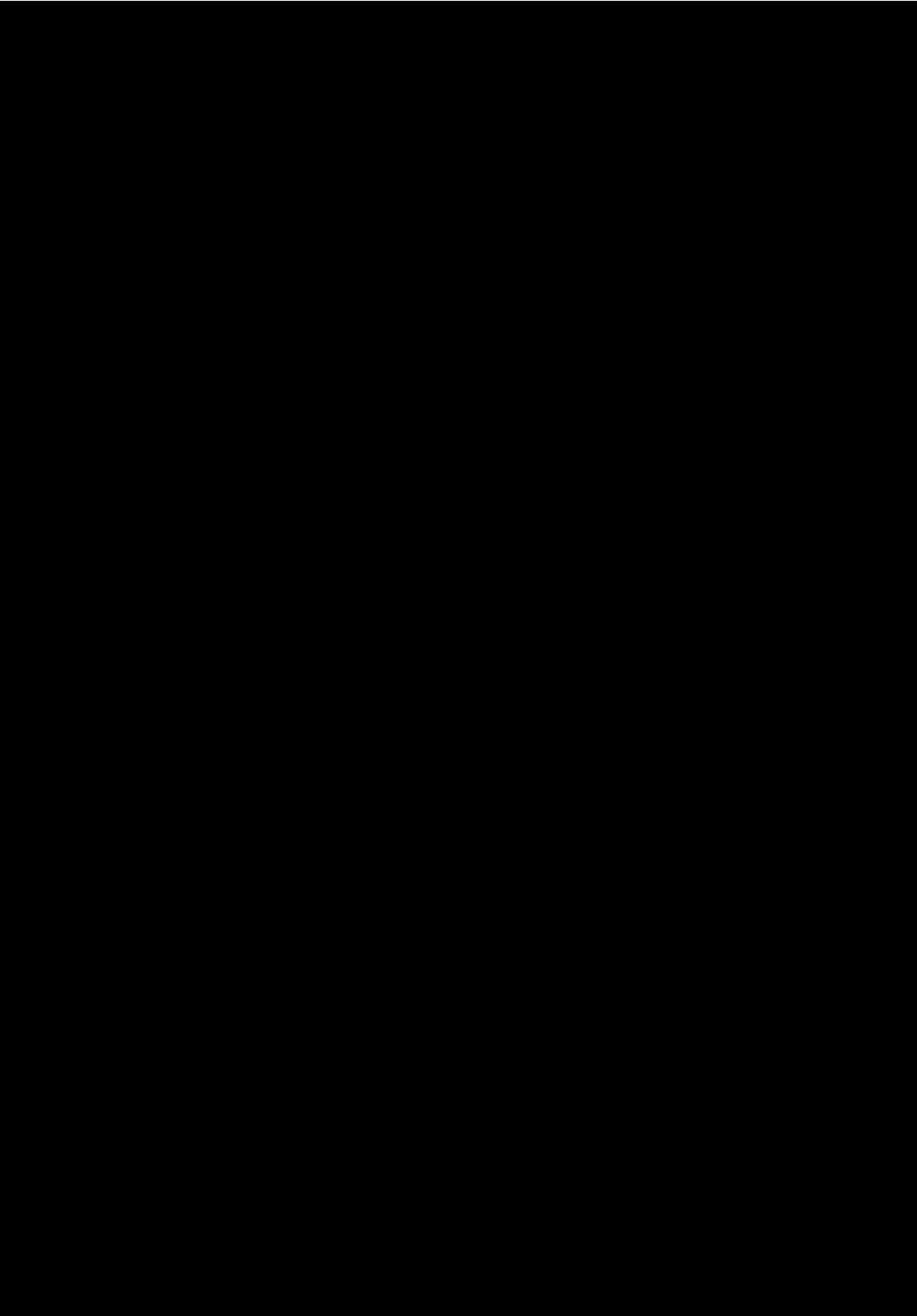
Prof^a. Dr^a. Maria Lúcia da Costa
Lima (*in memoriam*)

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a Izabel Galarda

Prof^a. Dr^a Marilis Dallarmi
Miguel

CURITIBA

2005



Dedico a todos aqueles que trilham os caminhos da promoção à saúde e compartilham os seus conhecimentos em prol de uma vida mais justa e com qualidade.

A minha família, Sérgio, companheiro de jornada e aos meus filhos Sérgio Júnior e Nathasha, por serem co-autores, contribuindo com amor, energia e compreensão.

AGRADECIMENTOS

- A Deus, que em sua infinita bondade, compreendeu os meus anseios, orientando-me para a conclusão desta jornada.
- Aos meus pais Luiz e Ivete pelo amor, incentivo e compreensão.
- A minha inesquecível orientadora Dr^a. Maria Lúcia R. Z. da Costa Lima, pelos preciosos ensinamentos, dedicação e amizade.
- Ao meu orientador Dr. Vismar da Costa Lima Neto, pela orientação constante e por ter me adotado ao longo do curso.
- As minhas co-orientadoras Izabel Galarda e Marilis Dallarmi Miguel, pela preciosa orientação, amizade, competência, dissipando dúvidas e ansiedades.
- Ao amigo João Luiz de Souza Carvalho, pela elaboração dos extratos, como também, por saber compartilhar conhecimentos.
- Aos Doutores Obdúlio Gomes Miguel, Eliane Rose Serpe, Eliane Carneiro Gomes, Cirino Correia Júnior e Albino Grigoletti Júnior, pelas excelentes contribuições e sugestões, para a finalização deste estudo.
- Aos Cirurgiões-dentista Giovana Daniela Pecharki e Eduardo Pizzatto, pelo apoio e estímulo, durante a jornada.
- A professora Cristina Leise Monteiro por ter permitido a utilização do Laboratório de Microbiologia da UFPR.
- Aos professores, alunos e funcionários deste curso de Pós-Graduação, que de uma forma ou de outra contribuíram para concretização desta etapa.

SUMÁRIO

<u>LISTA DE SIGLAS</u>	x
<u>LISTA DE SÍMBOLOS</u>	xi
<u>LISTA DE FIGURAS</u>	xii
<u>LISTA DE GRÁFICOS</u>	xiv
<u>LISTA DE TABELAS</u>	xv
<u>LISTA DE QUADROS</u>	xvii
<u>RESUMO</u>	xviii
<u>ABSTRACT</u>	xix
<u>1 INTRODUÇÃO</u>	1
1.1 OBJETIVO GERAL	4
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
<u>2 REVISÃO DA LITERATURA</u>	5
2.1 AGRIÃO D'ÁGUA. <i>Nasturtium officinale</i> R. Br. - Brassicaceae	5
2.1.1 Aspectos Botânicos, Sinonímias e Nomes Populares	7
2.1.1.1 Enquadramento taxonômico	8
2.1.1.2 Descrição macroscópica	8
2.1.1.3 Descrição microscópica	9
2.1.2 Composição Química	10
2.1.3 Aspectos Farmacológicos	13
2.1.4 Dosagem e Administração	14
2.1.5 Aspectos Agronômicos	16
2.1.5.1 Clima e época de plantio	16
2.1.5.2 Solo e adubação	17
2.1.5.3 Propagação	17

2.1.5.4 Tratos culturais	18
2.1.5.5 Colheita, comercialização e produção agrícola no Paraná	18
2.2 ECOSSISTEMA BUCAL	20
2.3 COMPOSIÇÃO DA PLACA BACTERIANA	23
2.3.1 Formação da Placa Bacteriana	24
2.4 CÁRIE DENTAL	25
2.5 DOENÇA PERIODONTAL.....	30
2.6 CONTROLE MECÂNICO DA PLACA BACTERIANA (BIOFILME).....	32
2.7 CONTROLE QUÍMICO DA PLACA BACTERIANA (BIOFILME)	35
2.8 PRINCIPAIS ANTIMICROBIANOS UTILIZADOS EM ODONTOLOGIA.....	36
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	40
3.1 COLETA, IDENTIFICAÇÃO E EXSICATA DO AGRIÃO	40
3.2 ESTABILIZAÇÃO E PADRONIZAÇÃO GRANULOMÉTRICA DA DROGA VEGETAL.....	42
3.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DE AGRIÃO D'ÁGUA (<i>Nasturtium officinale</i> R. Br.)	43
3.3.1 Obtenção dos Extratos Padronizados para fins Farmacotécnicos, em Aparelho de Soxhlet	43
3.3.2 Extração por Gradiente de Polaridade em Soxhlet, para fins Fitoquímicos e de Testes Farmacológicos.....	45
3.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA <i>IN VITRO</i>	47
3.4.1 Inibição por Difusão em Ágar	47
3.4.1.1 Material.....	47
3.4.1.2 Linhagem de microrganismos.....	48
3.4.2 Método.....	48

3.5 AVALIAÇÃO <i>IN VIVO</i> DO EFEITO DE BOCHECHO CONTENDO AGRIÃO (<i>Nasturtium officinale</i> R. Br.) NO CONTROLE DA PLACA DENTÁRIA (BIOFILME DENTAL)	54
3.5.1 Material	54
3.5.2 Métodos / Metodologia	56
4 RESULTADO E DISCUSSÃO	64
4.1 EXPERIMENTO <i>IN VITRO</i>	64
4.2 EXPERIMENTO <i>IN VIVO</i>	76
4.2.1 Reflexões de Análise Qualitativa sobre o Instrumento de Avaliação	80
5 CONCLUSÃO	82
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	83
7 REFERÊNCIAS	85
8 ANEXOS	92
ANEXO 1 — DOCUMENTO DO COMITÊ DE ÉTICA	93
ANEXO 2 — ORIENTAÇÃO AO PACIENTE	94
ANEXO 3 — TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	95
ANEXO 4 — QUESTIONÁRIOS PRÉ E DURANTE O TRATAMENTO.....	97
ANEXO 5 — FICHA DE AVALIAÇÃO DO ÍNDICE IHO-S	100
ANEXO 6 — ANÁLISE DE VARIÂNCIA — <i>S. pyogenes</i>	101
ANEXO 7 — ANÁLISE DE VARIÂNCIA — <i>S. mitis</i>	102
ANEXO 8 — ANÁLISE DE VARIÂNCIA — <i>S. epidermidis</i>	103
ANEXO 9 — ANÁLISE DE VARIÂNCIA — <i>S. aureus</i>	104
ANEXO 10 — ANÁLISE DE VARIÂNCIA — <i>P. aeruginosa</i>	105
ANEXO 11 — ANÁLISE DE VARIÂNCIA — <i>S. mutans</i>	106
ANEXO 12 — ANÁLISE DE VARIÂNCIA — PLACA DENTÁRIA	107
ANEXO 13 — ANÁLISE DE VARIÂNCIA — <i>Candida albicans</i>	108

ANEXO 14 — ANÁLISE DE VARIÂNCIA — SOLUÇÃO 1	109
ANEXO 15 — ANÁLISE DE VARIÂNCIA — SOLUÇÃO 2	110
ANEXO 16 — ANÁLISE DE VARIÂNCIA — SOLUÇÃO 3	111
ANEXO 17 — ANÁLISE DE VARIÂNCIA — SOLUÇÃO 4	112
ANEXO 18 — ANÁLISE DE VARIÂNCIA — SOLUÇÃO 5	113
ANEXO 19 — ANÁLISE DE VARIÂNCIA — SOLUÇÃO 6	114
ANEXO 20 — ANÁLISE DE VARIÂNCIA — SOLUÇÃO 7	115
ANEXO 21 — INSTRUÇÕES PARA PREPARO DE UMA TINTURA DE AGRIÃO	116

LISTA DE SIGLAS

ATCC	– American Type Culture Colletion
BHI	– Brain Heart Infusion (Infusão de Cérebro e Coração)
ceo-d	– cariado, extraído, obturado– dente decíduo
CLAE	– Cromotografia Líquida de Alta Eficiência
CPO-D	– Cariado, Perdido, Obturado – Dente Permanente
FDI	– Federação Dentária Internacional
IHO-S	– Índice Higiene Oral Simplificado
OMS	– Organização Mundial da Saúde
PEITEC	– Isotiocianato feniletil Isotiocianato
SVS	– Secretaria Vigilância Sanitária
TSB	– Tryptic Say Broth
UFC	– Unidade Formadora Colônia
UV	– Ultra Violeta

LISTA DE SÍMBOLOS

ϕ	–	Diâmetro
° C	–	Grau Celsius
cm	–	Centímetro
CX	–	Clorexidina
Dir	–	Direita
Esq	–	Esquerda
g	–	Grama
h	–	Altura
ha	–	Hectare
Hg	–	Mercúrio
Inf	–	Inferior
kg	–	Quilograma
L	–	Litro
μ L	–	Microlitro
mg	–	Miligrama
min	–	Minuto
mL	–	Mililitro
mm	–	Milímetro
N°	–	Número
ns	–	Diferença não significativa
P	–	Dente perdido (extraído)
pH	–	Potencial de hidrogênio
Ppm	–	Parte por milhão
s	–	Diferença significativa
Sup	–	Superior
Ton	–	Tonelada
V	–	Volume

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	FOTO DO AGRIÃO: CAULE, GLABRO, FOLHAS, FLORES, COROLA, SÉPALAS, ANDROCEU, OVÁRIO, FRUTO E VALVAS.....	9
FIGURA 2 -	FÓRMULA ESTRUTURAL DA CLOREXIDINA.....	37
FIGURA 3 -	CULTIVO DO AGRIÃO. (<i>Nasturtium officinale</i> R. Br.) COM INFLORESCÊNCIA – CURITIBA – PR.....	41
FIGURA 4 -	APARELHO SOXHLET ANALÍTICO	44
FIGURA 5 -	DISPOSIÇÃO DAS SOLUÇÕES DE EXTRATOS DE AGRIÃO CONTENDO MEIO BHI: SOLUÇÃO 1 – EXTRATO BRUTO, SOLUÇÃO 2 – FRAÇÃO HEXÂNICA, SOLUÇÃO 3 – FRAÇÃO DICLOROMETANO, SOLUÇÃO 4 – FRAÇÃO ACETATO DE ETILA, SOLUÇÃO 5 – FRAÇÃO METANÓLICA e SOLUÇÃO 6 – FRAÇÃO ETANÓLICA; EM TORNO DA SOLUÇÃO 7 – DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA A 0,2%.....	50
FIGURA 6 -	PLACA DE PETRI CONTENDO MEIO BHI SEMEADA COM PLACA DENTÁRIA ILUSTRANDO INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO DE MICRORGANISMOS PRESENTES NA PLACA DENTÁRIA, QUANDO TESTADOS O EXTRATO DE AGRIÃO (<i>Nasturtium officinale</i> R. Br.) FRAÇÃO DICLOROMETANO (À ESQUERDA) E A SOLUÇÃO DE CLOREXIDINA A 0,2% (À DIREITA)	51
FIGURA 7 -	PLACA DE PETRI CONTENDO MEIO BHI SEMEADA COM <i>Streptococcus mutans</i> , APRESENTA INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO (EM FORMA DE HALO), QUANDO TESTADO O EXTRATO BRUTO DE AGRIÃO (<i>Nasturtium officinale</i> R. Br.)	52
FIGURA 8 -	PLACA DE PETRI CONTENDO MEIO BHI SEMEADA COM <i>Streptococcus mutans</i> , DEMONSTRA INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO (EM FORMA DE HALOS), QUANDO TESTADOS AS SOLUÇÕES: DE EXTRATO DE AGRIÃO, SOLUÇÃO 2 – FRAÇÃO HEXÂNICA (À DIREITA) E SOLUÇÃO 6 - FRAÇÃO ETANÓLICA (À ESQUERDA)	52
FIGURA 9 -	FRASCOS CONTENDO AS SOLUÇÕES PARA BOCHECHO A, B E C.....	55
FIGURA 10 -	EXAME CLÍNICO DAS CONDIÇÕES DE SAÚDE BUCAL	58
FIGURA 11 -	REVELAÇÃO DE PLACA DENTÁRIA COM PASTILHA DE FUCSINA BÁSICA, PARA REGISTRO DO ÍNDICE DE HIGIENE ORAL SIMPLIFICADO (IHO-S). AS SUPERFÍCIES DENTÁRIAS MANCHADAS DE VERMELHO, APRESENTAM PLACA DENTÁRIA	59

FIGURA 12 -	INÍCIO DA REMOÇÃO DE PLACA DENTÁRIA, NAS FACES PROXIMAS (LATERAIS DOS DENTES) COM TIRA DE LIXA E PASTA PROFILÁTICA.....	59
FIGURA 13 -	PROFILAXIA – REMOÇÃO DA PLACA DENTÁRIA, COM MICRO MOTOR, TAÇA DE BORRACHA E PASTA PROFILÁTICA	60
FIGURA 14 -	RESULTADOS DAS DIFERENÇAS ENTRE MÉDIAS DAS SOLUÇÕES A, B E C PARA A PRIMEIRA AVALIAÇÃO (7 DIAS) – TESTE DE TUKEY: NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA IGUAL A 0,05	78
FIGURA 15 -	RESULTADOS DAS DIFERENÇAS ENTRE MÉDIAS DAS SOLUÇÕES A, B E C PARA A SEGUNDA AVALIAÇÃO (14 DIAS) – TESTE DE TUKEY: NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA IGUAL A 0,05	79

LISTA DE GRÁFICOS

- GRÁFICO 1 - COMPARAÇÃO DE HALOS DE INIBIÇÃO EM mm (MÉDIA) DE DIFERENTES FRAÇÕES (SOLUÇÕES) OBTIDAS A PARTIR DO EXTRATO DE AGRIÃO D'ÁGUA (*Nasturtium officinale* R. Br.) E DO DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA A 0,2% FRENTE A MICRORGANISMOS DA CAVIDADE BUCAL E PLACA DENTAL..... 65**
- GRÁFICO 2 - MÉDIAS DOS ÍNDICES DE HIGIENE ORAL SIMPLIFICADO (IHO-S), DE 17 VOLUNTÁRIOS, PARA CADA TRATAMENTO COM AS SOLUÇÕES PARA BOCHECHO: SOLUÇÃO A (EXTRATO DE AGRIÃO, *Nasturtium officinale* R. Br. A 5%), SOLUÇÃO B (SOLUÇÃO PLACEBO) E SOLUÇÃO C (SOLUÇÃO DE GLUCONATO DE CLOREXIDINA A 0,12%)..... 77**

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	ENQUADRAMENTO TAXONÔMICO DA ESPÉCIE <i>Nasturtium officinale</i> R. Br.....	8
TABELA 2 -	PRODUÇÃO AGRÍCOLA DE AGRIÃO D'ÁGUA NO ESTADO DO PARANÁ, SAFRA 2002-2003	19
TABELA 3 -	MÉDIA DE DENTES CARIADOS, PERDIDOS E OBTURADOS (CPO), DESVIO-PADRÃO PARA MÉDIA POPULACIONAL SEGUNDO IDADE E MACRORREGIÃO. BRASIL. 2003.....	26
TABELA 4 -	COMPARAÇÃO DE HALOS DE INIBIÇÃO EM mm (MÉDIA) DE DIFERENTES FRAÇÕES (SOLUÇÕES) OBTIDAS A PARTIR DO EXTRATO DE AGRIÃO D'ÁGUA (<i>Nasturtium officinale</i> R. Br.) E DO DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA A 0,2% FRENTE A MICRORGANISMOS: <i>Streptococcus pyogenes</i> e <i>Streptococcus mitis</i> . TESTE TUKEY – NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA IGUAL A 0,05.	66
TABELA 5 -	COMPARAÇÃO DE HALOS DE INIBIÇÃO EM mm (MÉDIA) DE DIFERENTES FRAÇÕES (SOLUÇÕES) OBTIDAS A PARTIR DO EXTRATO DE AGRIÃO D'ÁGUA (<i>Nasturtium officinale</i> R. Br.) E DO DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA A 0,2% FRENTE A MICRORGANISMOS: <i>Staphylococcus epidermidis</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> . TESTE TUKEY – NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA IGUAL A 0,05.....	68
TABELA 6 -	COMPARAÇÃO DE HALOS DE INIBIÇÃO EM mm (MÉDIA) DE DIFERENTES FRAÇÕES (SOLUÇÕES) OBTIDAS A PARTIR DO EXTRATO DE AGRIÃO D'ÁGUA (<i>Nasturtium officinale</i> R. Br.) E DO DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA A 0,2% FRENTE A MICRORGANISMOS: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Streptococcus mutans</i> . TESTE TUKEY – NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA IGUAL A 0,05.....	69
TABELA 7 -	COMPARAÇÃO DE HALOS DE INIBIÇÃO EM mm (MÉDIA) DE DIFERENTES FRAÇÕES (SOLUÇÕES) OBTIDAS A PARTIR DO EXTRATO DE AGRIÃO D'ÁGUA (<i>Nasturtium officinale</i> R. Br.) E DO DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA A 0,2% FRENTE A PLACA DENTAL E <i>Candida albicans</i> . TESTE TUKEY – NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA IGUAL A 0,05.....	71
TABELA 8 -	COMPARAÇÃO DE HALOS DE INIBIÇÃO EM mm (MÉDIA) DE DIFERENTES FRAÇÕES (SOLUÇÕES) OBTIDAS A PARTIR DO EXTRATO DE AGRIÃO D'ÁGUA (<i>Nasturtium officinale</i> R. Br.) E DO DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA A 0,2% FRENTE A MICRORGANISMOS DA CAVIDADE BUCAL E PLACA DENTAL.....	73

TABELA 9 -	RESULTADOS DE ESCORES PARA O ÍNDICE DE HIGIENE ORAL – SIMPLIFICADO (IHO-S), SEGUNDO GREENE E VERMILLION	76
TABELA 10 -	MÉDIAS DOS ÍNDICES DE HIGIENE ORAL SIMPLIFICADO (IHO-S), DE 17 VOLUNTÁRIOS, PARA CADA TRATAMENTO COM AS SOLUÇÕES PARA BOCHECHO: SOLUÇÃO A (EXTRATO DE AGRIÃO, <i>Nasturtium officinale</i> R. Br. A 5%), SOLUÇÃO B (SOLUÇÃO PLACEBO) E SOLUÇÃO C (SOLUÇÃO DE GLUCONATO DE CLOREXIDINA A 0,12%).....	77

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 –	COMPARAÇÃO ENTRE AS METAS PROPOSTAS PELA OMS/FDI PARA ANO 2000 COM RELAÇÃO À CÁRIE DENTÁRIA E OS RESULTADOS DO PROJETO SAÚDE BUCAL BRASIL. BRASIL, 2003.....	7
QUADRO 2 –	ESQUEMA DOS DENTES E FACES A SEREM EXAMINADOS.....	61
QUADRO 3 –	ESCORES DAS FACES EXAMINADAS	62
QUADRO 4 –	FÓRMULA IHO-S	62
QUADRO 5 –	RESULTADOS QUANTO À HIGIENE BUCAL.....	63

RESUMO

Estudos têm demonstrado que a placa dental é um dos fatores determinantes para o surgimento da cárie e doença periodontal, justificando, dessa maneira, a utilização de medidas para o seu controle. Nesse sentido, colutórios contendo *Nasturtium officinale* R. Br, mais conhecido como agrião, podem ser testados, visto que essa planta apresenta compostos com possível atividade contra microrganismos presentes na cavidade bucal. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* a eficácia das diferentes frações obtidas do extrato bruto do *Nasturtium officinale* R. Br frente à eficácia da solução do digluconato de clorexidina a 0,2% no controle da placa dental. As amostras de placa bacteriana coletadas foram submetidas à identificação e isolamento das bactérias presentes. O material coletado foi inoculado em meio BHI com ágar e distribuído em placas de petri. Sobre a superfície do meio foram realizadas escavações e nestas foram adicionados 150 µl de extratos fracionados. Após o período de incubação, foram observados e medidos os halos de inibição. Foi também testada uma solução para bochecho contendo extrato hidroalcolico a 5% de *Nasturtium officinale* R. Br. em 17 voluntários. Concluiu-se que as diferentes frações obtidas a partir do extrato bruto do agrião mostraram-se eficazes na inibição do crescimento de diferentes microrganismos presentes na cavidade bucal e mostrou-se eficaz na redução da formação de placa dentária, confirmando suas propriedades terapêuticas e sendo economicamente viável, eficiente, ecologicamente benéfico, disponível nas propriedades rurais e incorporado ao cotidiano do homem do campo, prevenindo e promovendo a sua saúde bucal.

Palavras-chave: agrião; placa dental; digluconato de clorexidina.

ABSTRACT

Studies have demonstrated that dental plaque is one of the determinant factors for developing caries and periodontal disease, justifying the use of some methods for its control. In this context, extracts with *Nasturtium officinale*, R. Br. (watercress) could be tested, since this plant presents compounds with possible antimicrobial activity against oral microorganisms in the biofilm. So, the aim of this study was to test in vitro the efficacy of different concentrations of this product, in comparison to the well know, chlorhexidine gluconate 0.2%, in dental plaque control. The samples of collected dental plaque were identified and isolated. The material were after inoculated in BHI medium with agar, and divided into Petri plates. Excavations were made on the surface of the medium, and inside of them, 150 micro liters of the extract were added in different concentration gradients. After the incubation period, the zones of inhibited bacterial growth were measured and observed. Also it was tested in 17 volunteers a mouth rinsing solution containing 5% hidroalcoolic extract of *Nasturtium officinale* R. Br. It was concluded that different fractions obtained by the pure extract of watercress showed to be efficient in growing inhibition of different oral microorganisms. Mouth rinsing solution showed to be efficacious in reducing dental plaque development, confirming their therapeutics properties, and can be feasible in economic terms, efficient, beneficial in ecology, available in rural properties, incorporated to field human quotidian, preventing and promoting buccal health.

Key-words: watercress; dental plaque; chlorhexidine gluconate.

1 INTRODUÇÃO

De acordo com WEYNE (2005), as condições de saúde bucal dos brasileiros continuam insatisfatórias. Com exceção do relevante declínio observado no número médio de cavidades de cárie na idade de 12 anos, o ataque cariogênico ainda é muito intenso nas outras faixas etárias, o que gera um maciço acúmulo de dentes com necessidades restauradoras não atendidas. Assim, por exemplo, na faixa etária dos 35 a 44 anos, em média, 20,1 dentes (dos 32 existentes na dentição) apresentam cavidades de cárie, restaurações ou foram perdidos. Na faixa etária entre 65 a 74 anos, este número sobe para 27,8 dentes afetados. A ocorrência de perdas dentárias precoces é grave e faz com que a necessidade de uso de algum tipo de prótese comece a se manifestar já na faixa dos 15 a 19 anos.

Segundo PINTO (2003), o quadro epidemiológico brasileiro, reflete com nitidez algumas das principais características da nossa sociedade: economia em crise prolongada; agudas desigualdades salariais e sociais; sistema educacional com ênfase na formação de nível superior; produção agrícola voltada para a exportação; grande número de pessoas de baixa renda e em estado de pobreza relativa ou absoluta. Como Cirurgiã-dentista, professora do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Paraná, atuando na área da Saúde Coletiva, avalia-se que este quadro epidemiológico reflita também a dificuldade do acesso aos serviços de saúde, como também da falta de programas voltados a promoção e manutenção à saúde bucal.

PINTO (2000), afirmou que no Brasil, os residentes e trabalhadores da zona

rural, freqüentam e utilizam menos os serviços odontológicos, devido a sua inexistência ou dificuldade no acesso. Do ponto de vista epidemiológico a população rural, apresenta a sua saúde bucal geralmente comprometida, necessitando de procedimentos de prevenção, proteção e recuperação à sua saúde.

Segundo BUFFON (2002) a população da zona rural, além de ser excluída dos levantamentos epidemiológicos, não encontra os serviços de atenção básica à saúde, voltado às suas necessidades, visando uma melhor qualidade de vida. Esta população tem, na maioria das vezes, o profissional engenheiro agrônomo ou técnico agrícola como único orientador e consultor dos seus problemas.

Com base no uso e conhecimento popular, o importante crescimento mundial da fitoterapia dentro de programas preventivos e curativos (GUYOT, 1990) tem estimulado a avaliação da atividade de diferentes extratos de plantas para o controle da placa bacteriana (biofilme dental), (OSAWA, 1990 a; OSAWA, 1990 b). Diversos estudos têm demonstrado que a placa bacteriana (biofilme dental) é considerada o fator etiológico primário pelo início e desenvolvimento do processo carioso e de doenças periodontais, justificando desta maneira, a utilização de medidas para o seu controle. Mesmo assim, os programas ofertados a população carente dificilmente atingem os objetivos em sua plenitude, uma vez que desvinculam os componentes sociais na incidência da cárie e doença periodontal, em função de que a maior parte da população brasileira não possui condições financeiras para aquisição periódica dos instrumentos para o controle bacteriano, quer sejam mecânicos ou químicos, fazendo com que o perfil epidemiológico brasileiro seja desastroso, (MEDEIROS, 1991). Desta maneira, com a placa bacteriana não sendo adequadamente controlada, instala-se um processo de contínua destruição, comprometendo a entidade dentoperiodontal e contribuindo para diminuição da longevidade dos dentes. Este fato justifica a intensificação das medidas de prevenção da cárie e da doença periodontal baseadas no controle da placa

supragengival através de meios químicos e mecânicos, (DE MICHELI e SARIAN, 1990).

A constante necessidade de se avaliar métodos economicamente viáveis para o controle do crescimento bacteriano permitindo que um contingente maior de pessoas se beneficie, tem estimulado o uso da fitoterapia, dentro de programas preventivos e curativos importantes para a população brasileira, (BUFFON, 2002).

De acordo com CARVALHO (2001), o agrião d'água, *Nasturtium officinale* R. Br. (Brassicaceae), é consumido em grande quantidade na alimentação humana, sendo rico em substâncias ativas e vitaminas sendo utilizada no tratamento de infecções do trato urinário e como expectorante para o tratamento de bronquites (BLUMENTAL, GOLDBERG e BRICKMAANN, 2000). Há indicações de uso no tratamento de icterícia e em doenças periodontais como as gengivites, LOGGIA (1993).

A cultura do agrião está presente em grande parte das propriedades rurais do Paraná, para comercialização ou consumo próprio. Os estudos sobre as suas propriedades terapêuticas, no intuito de melhorar a saúde bucal da população, justificam este trabalho, nas propriedades rurais, por esta planta ser um recurso disponível.

Pelo exposto, a realização do estudo das atividades biológicas do agrião d'água (*Nasturtium officinale* R. Br.), representa uma importante contribuição para o desenvolvimento de fitoterápicos, justificando a utilização dos extrativos brutos vegetais como um método de controle de doenças bucais.

As hipóteses utilizadas foram: o extrato de agrião d'água (*Nasturtium officinale* R. Br.), é capaz de interferir no crescimento de microrganismos, verificando sua ação antimicrobiana. A utilização do extrato de agrião d'água (*Nasturtium officinale* R. Br.) na forma de bochecho diário controla a formação de placa dentária na cavidade bucal.

1.1 OBJETIVO GERAL

Estudar e buscar aplicabilidade científica da eficácia, na ação antimicrobiana, do extrato de agrião d'água (*Nasturtium officinale* R. Br.), no controle da placa bacteriana.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Testar o extrato de agrião d'água (*Nasturtium officinale* R. Br.) obtido de acordo com metodologia analítica, na atividade antimicrobiana para bactérias da cavidade bucal *in vitro*.
- Avaliar *in vivo* o efeito da solução para bochecho contendo agrião d'água (*Nasturtium officinale* R. Br.) no controle da formação da placa bacteriana (biofilme dental).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 AGRIÃO D'ÁGUA. *Nasturtium officinale* R. Br. - Brassicaceae

A Organização Mundial de Saúde OMS (1991), definiu que planta medicinal é qualquer planta usada no sentido de amenizar, prevenir ou curar uma doença ou para alterar fisiologicamente um processo patológico ou é qualquer planta usada como fonte de medicamento ou seus precursores.

As informações sobre os usos das plantas medicinais e suas virtudes terapêuticas foram sendo acumuladas durante séculos, e muito desse conhecimento se encontra disponível atualmente. De domínio público, o conhecimento sobre as plantas medicinais representou e ainda representa o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. Essa prática, que se caracteriza pela utilização dos recursos naturais como forma de tratamento e cura de doenças, é tão antiga quanto à espécie humana, (REIS, 1996).

Nesse contexto, um dos assuntos mais intrigante e fascinante da pesquisa com plantas medicinais residem na origem desse conhecimento, na forma e nos procedimentos que o homem utilizou para descobrir as virtudes terapêuticas das espécies vegetais. Sem dúvida, a origem dessas descobertas se encontra na observação constante e sistemática dos fenômenos e características da natureza e na conseqüente experimentação empírica desses recursos. O homem deve ter avaliado por si mesmo várias espécies, que de alguma forma sugeriram a potencialidade de uso

para amenizar seus problemas, seja como medicamento ou como alimento, (DIAS, 1996).

MIGUEL e MIGUEL (1999) afirmaram que, houve crescimento nas pesquisas que enfocam o uso de plantas medicinais na terapêutica, fato que decorre da experiência e segurança com o uso das mesmas para o tratamento de inúmeras doenças. Aliado a isso, tem-se o fomento dos órgãos financiadores na área, a abertura de inúmeros cursos de pós-graduação para médicos, enfermeiros, cirurgiões-dentistas, biólogos e engenheiros agrônomos, no intuito de buscar informações que subsidiem a fitoterapia enquanto medicina tradicional e com grande aceite pela população. Ainda considera-se o incentivo que a Organização Mundial da Saúde (OMS) e seus países membros, adotam em investir na pesquisa e no uso das plantas medicinais em saúde pública.

De acordo com MIGUEL e MIGUEL (1999), 25% dos medicamentos prescritos no mundo são de origem vegetal, onde dos 252 medicamentos básicos e essenciais considerados pela OMS, 11% são exclusivamente de origem vegetal.

SILVA (2001) relatou que o agrião d'água (*Nasturtium officinale* R. Br.), é uma planta nativa da Europa Central e Ocidental e da Ásia. Encontra-se disseminada em quase todo o mundo, subespontânea em todo Brasil. Cultivada como planta olerícola, comumente comercializada em feiras e mercados. É uma planta herbácea vivaz e aquática, de talos longos, rastejantes e munidos de raízes adventícias. Sua reprodução pode ser por meio de sementes, como por estaquia; devendo ser plantada em beira de córregos com água corrente.

Segundo CARVALHO (2001), dentre tanta diversidade o agrião d'água, *Nasturtium officinale* R. Br., é uma planta que possui uma vasta gama de utilizações, BLUMENTAL, GOLDBERG e BRICKMAANN (2000) referem ações farmacológicas como antibacteriana, antiescorbútica, colagoga e expectorante. Estas características

demonstram a necessidade de credenciar os fornecedores, a fim de controlar os estrangulamentos da cadeia produtiva, vista desde a semente até a matéria prima final.

2.1.1 Aspectos Botânicos, Sinonímias e Nomes Populares

A sinonímia científica para a espécie é citada como: *Roripa nasturtium* (L). Rusbi, *Sisymbrium nasturtium* Thumb., *Sisymbrium nasturtium-aquaticum* L., *Sisymbrium fluviatile* Vell, *Radicula nasturtium* (Thumb.) Ca, *Radicula nasturtium aquaticum* Britt. e *Nasturtium nasturtium* Cockerell, segundo OLIVEIRA (1991). O mesmo autor cita como sinônimos populares para o agrião, no Brasil: agrião das fontes, agrião d'água, berro, berro d'água, agrião oficial, agrião-aquático, agrião d'água corrente, agrião-da-europa, agrião-dos-rios, cardamia-jontana, cardomo-dos-rios, mastruço-dos-rios, nastúrcio, saúde-do-corpo.

2.1.1.1 Enquadramento taxonômico

TABELA 1 – ENQUADRAMENTO TAXONÔMICO DA ESPÉCIE *Nasturtium officinale* R. Br.

	Cronquist (1988)	Engler (1964)
Divisão	Magnoliophyta	Angiospermae
Classe	Magnoliopsida	Dicotyledoneae
Subclasse	Dilleniidae	Archichamydeae
Ordem	Capparales	Papaverales
Família	Brassicaceae	Cruciferae
Gênero	<i>Nasturtium</i>	<i>Nasturtium</i>
Espécie	<i>Nasturtium officinale</i>	<i>Nasturtium officinale</i>

FONTE: CARVALHO (2001)

2.1.1.2 Descrição macroscópica

Segundo CARVALHO (2001), o agrião é uma planta herbácea e vivaz, seu caule apresenta coloração verde, algumas vezes arroxeadada na base. É flexível, glabro, fistuloso, semicilíndrico e provido de sulcos longitudinais pouco profundos. Mede de 15cm a 30cm de comprimento por até 1cm de diâmetro na base e ao nível dos nós origina finas raízes adventícias de coloração brancacenta. Apresenta folhas alternas, compostas, pecioladas, emparipinadas providas de três a onze folíolos membranosos,

glabros, de forma variando entre oval, elíptica até orbicular. O folíolo terminal geralmente possui tamanho e base subcordiforme e a margem dos folíolos é inteira ou levemente crenada. As flores são alvinitentes, pequenas, dispostas em espigas terminais ou opostas as folhas. A corola é actinomorfa, crucífera e o cálice é dialissépalo regular formado de quatro sépalas. O androceu é tetradínamo e o ovário apresenta-se súpero bicarpelar. O fruto é uma siliqua curta, um pouco recurvada mais comprida que o pedúnculo. As valvas são munidas de nervura dorsal distinta. Floresce bianualmente de abril a maio e de novembro a fevereiro, (Figura 1).

FIGURA 1 – FOTO DO AGRIÃO: CAULE, GLABRO, FOLHAS, FLORES, COROLA, SÉPALAS, ANDROCEU, OVÁRIO, FRUTO E VALVAS



FONTE: CARVALHO (2001)

2.1.1.3 Descrição microscópica

OLIVEIRA (1996), relatou que o caule apresenta eustélica sendo os feixes vasculares do tipo colateral aberto. A epiderme caulinar quando vista em secção transversal é formada por células de contorno retangular alongada no sentido angular e quando vista em secção paradérmica apresenta células alongadas no sentido

longitudinal. Os estômatos localizam-se, com maior freqüência, ao longo dos sulcos longitudinais. A região colenquimática subepidérmica é pouco desenvolvida, tanto na região cortical como na região medular, onde aparece uma fístula, elas são providas de lacunas e câmaras constituindo aerênquima. A secção transversal da folha apresenta limbo com mesofilo heterogêneo e assimétrico. As epidermes são constituídas por células irregulares na forma e no tamanho, não apresentam pêlos e os estômatos ocorrem em ambas às faces. As células epidérmicas vistas de face, apresentam contorno levemente sinuoso e os estômatos do tipo anisocítico acham-se distribuídos irregularmente. O parênquima paliçádico é formado por uma única fileira de células, ao passo que o parênquima lacunoso é bem desenvolvido. Na região do mesófilo ocorrem feixes luminosos do tipo colateral. A planta não apresenta cristais de oxalato de cálcio.

2.1.2 Composição Química

Segundo trabalho realizado por JOHNSTON, STERN e WAISS (1968), o isolamento de flavonóides, glucosinolatos, saponinas e compostos fenólicos simples derivados de C_6C_1 e C_6C_3 no agrião pode ser realizado por cromatografia em coluna de Sephadex LH-20.

A conversão de ácidos carboxílicos aromáticos foi investigada em *Nasturtium officinale* R. Br. por LOFFELHARDT e KINDL (1975), por meio de experimentos que demonstraram a capacidade da membrana tilacóide de catalisar a L-fenilamina em ácido benzóico.

GIL e MACLEOD. (1980) demonstraram que o *Nasturtium officinale* R. Br. contém quatro glucosinolatos, sendo o maior representante o 2-feniletilglucosinolato.

Isotiocianatos foram os maiores produtos de degradação dos glucosinolatos, mas os tiocianatos não foram detectados. A aplicação de calor durante a extração causou um aumento na formação de nitrilas sobre a formação de tiocianatos.

HART e SCOTT (1995) desenvolveram um método em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) para determinação de carotenóides em vários vegetais incluindo o agrião, o qual mostrou ser como uma boa fonte de luteína e beta-caroteno (>1000 mg / 100 g). HORBOWICZ (1989) determinou o conteúdo de vitamina E (alfa-tocoferol) em várias plantas por CLAE e o agrião foi uma das que apresentou o maior conteúdo, cerca de 5mg/100g na planta fresca.

Um método de separação por CLAE de glucosinolatos intactos em vegetais da família brassicaceae foi desenvolvido por LEWKE, HANKE, SCHNITZLER (1996). O método é baseado em separação por coluna RP-18, utilizando como eluente metanol e tampão acetato de amônio com detecção ultravioleta (UV).

No agrião, a conversão NADPH-dependente de aminoácidos para suas aldoximas é um passo inicial na síntese de glucosinolatos, segundo BENNETT et al. (1996). SVANEM, BONE, ROSSITER (1997) sintetizaram o [alfa-14C]-desulfofenil glucosinolato em seis passos a partir do fenetilbromideo.

Utilizando um método de CLAE para o doseamento dos produtos cíclicos dos isotiocianatos e 1-2-benzenoditiol após o tratamento do extrato com mirosinase, JIAO et al. (1998) determinaram que o agrião contém 81,3 μmol / 100 g desses compostos na planta fresca.

O *Nasturtium officinale* R. Br. contém glucosinolatos (glicosídeos do óleo da mostarda), como o gluconasturtiin (precursor do feniletil isotiocianato), o qual ocorre por hidrólise. Também possui nitrilas, como a 3-fenilpropionitrila e a 8-metiltiooctanona nitrila. Possui os minerais manganês, ferro, fósforo, iodo, cobre e cálcio e as vitaminas A, C, D e E e nicotinamida, segundo LA LUZ (1993), LOGGIA (1993) e BLUMENTAL,

GOLDBERG e BRICKMAANN (2000).

KIKUCHI et al. (1999) desenvolveram um método para separação e análise de isoflavonas beta-glicosídicas (daidzina e genistina) e agluconas (daidzeína e genisteína) do agrião utilizando CLAE em fase reversa com eluente gradiente de metanol e água.

GODA e HOCINO (1999), isolaram do *Nasturtium officinale* R. Br. compostos inibidores da histamina em células antígeno estimuladas RBL-2H3. Dos quinze compostos isolados, flavonoídes e megastigmanos inibiram significativamente a liberação de histamina e dois flavonoídes, 3-O-soforosídeo da rametina (7-metilquercetina) e ramazina, eram compostos inéditos.

CARVALHO (2001), realizou estudo fitoquímico utilizando como técnica analítica a cromatografia: em camada delgada, em coluna, gasosa, líquida de alta eficiência e a espectrometria de ultravioleta. Foi verificada a presença de compostos fenólicos simples e heterosídeos (fenilpropanóides e flavonóides), saponinas (esteroidais e terpênicas policíclicas) e compostos contendo enxofre (glucosinolatos), no *Nasturtium officinale* R. Br.

De acordo com LORENZI e MATOS (2002), o agrião, além de glicosídeos, óleos essenciais, gliconastursídeo e mirosina, a planta é rica em sais minerais, vitaminas, proteínas, carotenos e clorofila.

2.1.3 Aspectos Farmacológicos

Inúmeras pesquisas farmacológicas demonstraram a utilização do agrião como fator protetor dos pulmões de fumantes contra agentes carcinógenos presentes no tabaco. Dietas que incluem o agrião podem ajudar a inibir a formação do 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridyl-1-butanona), ou NNK. O NNK é um carcinógeno presente no tabaco, que contribui para etiologia do câncer do pulmão. O isotiocianato feniletil isotiocianato (PEITC), liberado na mastigação da folha do agrião pela hidrólise enzimática de glucosinolatos é um agente químico preventivo contra o câncer do pulmão. Estudos pré-clínicos demonstraram que o PEITC inibiu a tumorigênese de pulmão induzida pela nitrosamina, a qual é um potente carcinogênico específico do tabaco. Para determinar biodisponibilidade do PEITC a partir do seu precursor glucosinolato, análises em material biológico animal foram conduzidas, as quais tem demonstrado que o PEITC é liberado após ingestão da folha de agrião, segundo BLUMENTAL, GOLDBERG e BRICKMAANN (2000).

GETAHUN e CHUNG (1999), demonstraram que glucosinolatos são convertidos em isotiocianatos em humanos depois da ingestão de agrião cozido, onde as mirosinases foram completamente inativadas. A extensão da conversão, entretanto, é consideravelmente menor que a da ingestão de agrião crua. Além disso, foi sugerido que a microflora intestinal é uma boa fonte para a hidrólise de glucosinolatos a isotiocianatos em humanos.

BONI e PATRI (1994), relataram ação de estimulação e regeneração tecidual na gengiva, esfregando a mesma com a folha fresca do agrião. Atribuindo esta propriedade aos isotiocianatos presentes no agrião.

Tem sido reportado que o agrião possui atividades antibacterianas,

antiescorbútica, colagoga e propriedades expectorantes, segundo BLUMENTAL, GOLDBERG e BRICKMAANN (2000).

O extrato de agrião administrado na dose de 4% do peso corporal em ratos mostrou significativo aumento na pressão arterial, segundo RIBEIRO (1988). Ainda neste contexto, não foi observado a interação do uso do agrião concomitantemente com outros fármacos, afirmou BLUMENTAL, GOLDBERG e BRICKMAANN (2000).

MORGAN (1997) e SILVA (2001), afirmaram que o agrião (*Nasturtium officinale* R. Br.), pode prevenir cárie dentária, quando suas folhas forem consumidas cruas em salada, atribuindo esta ação aos isotiocionatos que inibem a ação da enzima glicosiltransferase, produzidas pelos *Streptococcus* (*S.sangrinis*, *S. oralis*, *S. mitis*) responsáveis pelo início da lesão cariosa.

Segundo LORENZI e MATOS (2002), o agrião é considerado estimulante dos órgãos digestivos, diurético e vermífugo; sendo empregado no combate ao raquitismo, contra atonia intestinal, escrofulose (forma benigna de tuberculose linfoglandular, própria da infância) e afecções escorbúticas e broncopulmonares.

2.1.4 Dosagem e Administração

Para BLUMENTAL, GOLDBERG, BRICKMAANN (2000) o uso interno do agrião (*Nasturtium officinale* R. Br.) deve seguir a dosagem de acordo com a forma de uso do mesmo. Para a droga a dose adequada é de 4 g a 6 g em ingestão diária; por conseguinte, quando utilizada a planta fresca esta tem como posologia diária cerca de 20 a 30 g. CARVALHO (2001) refere o sumo da planta fresca, no consumo de 60 a 150 mL de vegetal fresco moído em água previamente fervida e fria. Ao tratar do infuso

como preparação aquosa extrativa, o autor refere uma quantidade de droga inferior a indicação farmacopéica para infusos, recomenda-se o uso de 2 g em 150 mL de água fervente em infusão por 10 min, duas ou três vezes ao dia antes das refeições.

Quanto aos aspectos toxicológicos, o agrião, *Nasturtium officinale* R. Br., já apresenta produtos no mercado farmacêutico, por exemplo o xarope Melagrião, do Laboratório Catarinense, comprovadamente sem efeitos toxicológicos. Este xarope é comercializado há 58 anos. Foi o primeiro produto fitoterápico no país a submeter-se a testes de eficácia (PANORAMA BRASIL, 2003).

Segundo LORENZI e MATOS (2002), as folhas do agrião, na forma de salada são indicadas contra o bócio, anemia, tuberculose, diabetes e como antídoto contra os efeitos tóxicos da nicotina. Em uso externo, na forma de cataplasma, é empregado na cicatrização de feridas. Recomenda-se também em uso externo contra problemas de pele (sardas, afecções, manchas, eczemas, acnes) e para problemas da mucosa bucal (aftas e gengivites), o seu extrato alcoólico preparado com duas colheres (sopa) de folhas e talos amassados, uma xícara (café) de álcool de cereais e uma xícara (café) de glicerina (PANIZZA, 1998).

Para as afecções pulmonares, tosse e bronquite, é recomendado o seu xarope preparado com uma colher (sopa) de folhas e ramos picados em uma xícara (chá) de água em fervura, adicionando ao seu coado uma xícara (chá) de açúcar cristal e fervendo-se novamente até derretê-lo; em seguida acrescentar uma colher (sopa) de mel de abelha. Tomar uma colher (sopa) da mistura entre duas a três vezes ao dia (PANIZZA, 1998).

2.1.5 Aspectos Agronômicos

O agrião d'água, *Nasturtium officinale* R. Br., da família das Brassicaceas, é uma planta herbácea, perene, aquática, aromática, de ramos ocos e decumbentes, possui caule rastejante, flutuante, com raízes adventícias nos nós para fixação da planta na terra e uma porção de raízes mais finas aquáticas, que retiram nutrientes da água; de 15-30cm de altura, nativa da Europa. No Brasil é mais cultivado na região Sul do País, por oferecer melhores condições climáticas para seu desenvolvimento, podendo também ser cultivado em outras regiões (LORENZZI e MATOS, 2002).

A variedade mais cultivada e conhecida entre os agricultores é a Folha Larga, pela sua excelente qualidade, certa tolerância ao florescimento precoce e sabor ligeiramente picante e agradável (FILGUEIRA e REIS, 1982; PANIZZA, 1998).

Há também outras variedades chamadas de agrião-seco, agrião-de-terra-seca, conhecida cientificamente por *Lepidium sativum* L., suas folhas são usadas da mesma forma que o agrião d'água, de paladar muito picante.

2.1.5.1 Clima e época de plantio

O agrião d'água é uma hortaliça de clima ameno, produzindo melhor quando se efetua o plantio em março-julho, em baixas altitudes. Todavia, em localidades de altitude superior a 800m planta-se durante o ano todo, como ocorre nos arredores da capital paulista, com a cultivar Folha Larga (FILGUEIRA e REIS, 1982; LORENZI e MATOS, 2002). Já o agrião-de-terra-seca, deve ser cultivado nos meses mais frescos do ano, de abril a setembro, no Estado de São Paulo e Estados vizinhos.

2.1.5.2 Solo e adubação

O agrião, prefere os solos argilosos, que tenham boa capacidade de retenção de água com pH de 6,0 a 6,8, e ricos em matéria orgânica. Deve estar localizado em lugar calmo, ao abrigo dos ventos e semi-ensolarado (ALSINA, 1972; FILGUEIRA e REIS, 1982).

O agrião-de-terra-seca é cultivado em canteiros comuns, irrigado quando necessário.

2.1.5.3 Propagação

Faz-se a propagação pela sementeira em sementeira, espaçadas 5cm entre linhas, as sementes são lançadas sobre o solo e cobertas com capim seco sem sementes. O solo deve estar sempre úmido. Em seguida é realizado o transplante para a “agrieira” ou para canteiros definitivos de 10 a 15 cm de altura, previamente adubados, mantendo-se espaçamento de 20 cm entre as covas (5 plantas/cova); (ALSINA, 1972; FILGUEIRA e REIS, 1982; PANIZZA, 1998).

As sementes são de tamanho muito diminuto, havendo 5.000, em média, por grama, para a cultivar nacional. A germinação é normalmente baixa, sendo 40% o padrão nacional mínimo. Gastam-se 4kg para produzir-se mudas suficientes para o plantio de 1 ha (FILGUEIRA e REIS, 1982).

2.1.5.4 Tratos culturais

A aplicação de água é o trato cultural mais importante para esta hortaliça semi-aquática. Localizam-se as “agrieiras” próximas a uma boa fonte de água corrente, que deve circular, lentamente, de uma para outra. A altura da lâmina de água aplicada deve acompanhar o crescimento das plantas, sendo tal altura controlada por comportas; a princípio, a água deve cobrir apenas a superfície do fundo da “agrieira” (FILGUEIRA e REIS, 1982).

No plantio em canteiros mantém-se a superfície permanentemente úmida, com 100% de água útil, por meio de irrigações abundantes e freqüentes (ALSINA, 1972).

É fundamental no cultivo do agrião que se use água limpa, não poluída por esgotos sanitários ou resíduos industriais. Note-se que as folhas de agrião, consumidas sempre cruas, podem tornar-se eficientes fontes de propagação de parasitas intestinais, entre os consumidores. Esta é uma boa razão para a interiorização das culturas, que devem ser instaladas longe das cidades, em localidades com ótima disponibilidade de água não poluída (FILGUEIRA e REIS, 1982).

2.1.5.5 Colheita, comercialização e Produção Agrícola no Paraná

O agrião colhe-se a partir de 60-70 dias, após o transplante. Obtém-se de 3-7 cortes, com intervalos de 20-30 dias, durante o período produtivo. O ponto de colheita é quando as folhas atingem o seu tamanho máximo, porém antes que se tornem pontiagudas e enegrecidas e os caules endureçam. Fazem-se os cortes a 5 cm da

superfície do leito, evitando-se ferir as raízes e diminuir a produtividade (FILGUEIRA e REIS, 1982).

O preparo para mercado consiste em atar-se o agrião em molhos com peso de 5 kg, aproximadamente, com 40-50 cm de comprimento, incluindo folhas e hastes. Tais maços são copiosamente regados, antes do transporte até o mercado. São melhores protegidos da dessecação quando embalados em engradados do tipo utilizado para alface. Segundo a SEAB-DERAL, no Paraná, na safra 2002/2003, a área de plantio foi de 133,72 ha; produzindo 2.171,44 toneladas.

De acordo com a Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Paraná – SEAB, a Tabela 2 representa a produção desta cultura no estado do Paraná, na safra de 2002/2003, onde observamos que os maiores produtores no Estado estão nos municípios de Colombo e São José dos Pinhais, com produção em torno de 495,00 e 452,00 toneladas/ano.

TABELA 2 – PRODUÇÃO AGRÍCOLA DE AGRIÃO D'ÁGUA NO ESTADO DO PARANÁ, SAFRA 2002/2003

MUNICÍPIO	ÁREA (ha)	PRODUÇÃO (TON)
ADRIANÓPOLIS	1,00	10,00
ALMIRANTE TAMANDARÉ	3,00	39,00
ARAUCÁRIA	2,00	38,00
BOCAIUVA DO SUL	3,00	51,00
CAMPO MAGRO	1,00	19,00
CERRO AZUL	1,00	18,00
COLOMBO	22,00	495,00
CURITIBA	1,00	18,00
FAZENDA RIO GRANDE	2,00	33,00
MANDIRITUBA	2,00	38,00
PIRAQUARA	1,00	13,00
QUATRO BARRAS	1,00	15,00
RIO BRANCO DO SUL	1,00	17,00
SÃO JOSÉ DOS PINHAIS	20,00	452,00
TOTAL PARANÁ	61,00	1256,00

FONTE: SEAB/DERAL, (2004)

2.2 ECOSSISTEMA BUCAL

De acordo com JORGE (1998), do ponto de vista de ecossistema, a cavidade bucal é um sistema de crescimento aberto. Isto significa que os nutrientes e os microrganismos são repetidamente introduzidos e removidos deste sistema. Somente se estabelecem microrganismos que possuem capacidade de aderência às superfícies da cavidade bucal ou que, de alguma outra maneira, fiquem retidos. Algumas bactérias podem conseguir um refúgio nos sulcos, fissuras ou espaços interproximais. Outros microrganismos têm de utilizar mecanismos específicos de aderência para vencer as forças de remoção das superfícies bucais. As características destas superfícies são específicas e somente determinadas bactérias são capazes de aderir. Isto se significa que a boca possui uma microbiota própria e que a maioria de seus componentes não é capaz de colonizar qualquer outro local do corpo humano. A cavidade bucal compreende diversos locais distintos, sendo que cada um mantém o crescimento de uma comunidade microbiana característica. A microbiota bucal é composta por uma variedade de ecossistemas bacterianos distintos em diferentes locais, freqüentemente com subsistemas existentes no interior do mesmo local. Por outro lado, cada um dos ecossistemas é formado por uma variedade de tipos bacterianos que preferem certos habitats no interior da boca. Para facilidades de estudo, a microbiota da boca é dividida em três nichos principais, representados pela placa bacteriana dentária, sulco gengival e dorso da língua. A placa bacteriana constitui, indiscutivelmente, o fator etiológico principal para a cárie dentária e das doenças periodontais e, portanto, todos os esforços devem ser despendidos com a finalidade da sua remoção ou do seu controle. A

microbiota comensalista existente na cavidade bucal humana está associada tanto à manutenção da saúde quanto à instalação de doenças, participando no desenvolvimento do sistema imune, providenciando resistência à colonização de espécies exógenas ou patogênicas (THEILADE, 1990; MARSH e MARTIN, 1992) ou ainda funcionando como possível reservatório de microrganismos que podem vir a infectar o hospedeiro (THEILADE, 1990; MARSH e MARTIN, 1992; MARCOTTE e LAVOIE, 1998).

A cavidade bucal apresenta uma grande diversidade anatômica que propicia vários habitats com características físicas e químicas próprias, capazes de suportar o crescimento de diferentes comunidades microbianas específicas (MARCOTTE e LAVOIE, 1998).

A complexidade da ecologia bucal pode ser analisada quando se considera que mais de 350 espécies bacterianas, além de fungos, protozoários e microplasmas, são colonizadoras naturais da cavidade bucal humana (THEILADE, 1990; MARSH e MARTIN, 1992; MARCOTTE e LAVOIE, 1998) cuja distribuição varia quantitativa e qualitativamente o ambiente.

Os microrganismos colonizam os dentes formando uma massa densa, denominada placa dental ou biofilme bacteriano (THEILADE, 1990; MARSH e MARTIN, 1992; MARCOTTE e LAVOIE, 1998), composta por comunidades organizadas em uma matriz de produtos microbianos extracelulares e componentes salivares. A placa dental desenvolve-se preferencialmente em superfícies protegidas da remoção mecânica, como superfícies proximais, área subgingival, sulcos e fissuras de superfícies oclusais (MARSH e MARTIN, 1992).

A composição microbiana da placa dental varia de acordo com o local e o tempo decorrido desde sua colonização inicial. Os microrganismos predominantes isolados da placa dental supragingival são bactérias anaeróbias facultativas gram-

positivas, particularmente *Actinomyces* spp. e *Streptococcus* (THEILADE, 1990; MARSH e MARTIN, 1992). Bactérias gram-negativas do grupo das *Veillonellas* e das *Bacteroides* são regularmente isoladas, porém em pequenas proporções (THEILADE, 1990; MARCOTTE e LAVOIE, 1998).

No sulco gengival saudável o número total de bactérias cultiváveis é relativamente pequeno (10^3 a 10^6 UFC/sulco), com predominância de organismos gram-positivos (*Actinomyces* e *Streptococcus*), de composição semelhante à placa supragengival (BODWEN, ELLWOO, HAMILTON, 1990). Bastonetes gram-negativos produtores de pigmento negro, como *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia/nigrescens*, são raramente isolados de sulcos gengivais saudáveis (BODWEN, ELLWOO, HAMILTON, 1990).

Existe pouca informação disponível sobre a microbiota de superfícies mucosas, embora se saiba que a mucosa oral da gengiva, do palato, das bochechas e do assoalho da boca é colonizada por poucos microrganismos (0 a 25 UFC/célula epitelial), especialmente *Streptococcus* (*S. oralis* e *S. sanguinis*) (THEILADE, 1990). Os gêneros *Neisseria*, *Haemophilus* e *Veillonella* também estão presentes (THEILADE, 1990; MARCOTTE e LAVOIE, 1998).

Na língua, encontra-se grande diversidade e densidade bacterianas (100 UFC/célula epitelial) (BODWEN, ELLWOO, HAMILTON, 1990; THEILADE, 1990), com predominância de *Streptococcus* spp. (*S. salivarius* e *S. mitis*) e *Veillonella* spp. Outros grupos isolados incluem *Peptostreptococcus* spp.; *Actinomyces* spp. e *Bacteroides* spp. Anaeróbios estritos como os gram-negativos produtores de pigmento negro e espiroquetas, fortemente associados com a doença periodontal, têm sido isolados em pequeno número, sendo sugerido que esse sítio anatômico pode servir como um reservatório para microrganismos periodontopatogênicos (VAN DER VELDEN et al., 1986; MARCOTTE e LAVOIE, 1998).

Os microrganismos encontrados na saliva são derivados do deslocamento de bactérias que colonizam as várias regiões orais, sendo sua composição microbiana bem similar à da língua (MARSH e MARTIN, 1992; MARCOTTE e LAVOIE, 1998).

2.3 COMPOSIÇÃO DA PLACA BACTERIANA

A placa é constituída de microrganismos (70-80%), polissacarídeos, células epiteliais descamadas, enzimas, sais minerais, glicoproteínas salivares, proteínas, pigmentos e restos alimentares, (JORGE, 1998).

O componente bacteriano da placa dentária tem sido considerado um ecossistema de mudanças contínuas, variando em composição nos diferentes locais da boca. A quantidade de bactérias na placa são calculados em 705 de seu peso seco, com número de aproximadamente $1,7 \times 10$ organismos/g de peso, (SOCRANSKY e MANGANIELLO, 1971). A placa é uma mistura de muitos microrganismos, sendo comum isolar muitas espécies bacterianas de uma amostra. A composição bacteriana em uma área não é estática, variando com a idade da placa. A placa dental apresenta uma composição diversificada e complexa, em que são encontradas mais de 300 espécies.

Dependendo do local, a placa dental apresenta diferenças na composição de sua microbiota. Essas variações microbianas são resultado das diferenças locais em relação às fontes de nutrientes, ao pH e ao potencial de oxidorredução de cada sitio em particular segundo MARSH e BRADSHAW, (1999).

2.3.1 Formação da Placa Bacteriana

GONÇALVES e FLÓRIO (2004) afirmaram que a formação de placa dental em superfícies lisas tem sido bastante estudada *in vitro* e *in vivo*, assim como representa um bom exemplo das forças envolvidas na manutenção da homeostase do ecossistema oral. O desenvolvimento da placa dental segue um padrão geral de sucessão bacteriana dependente de vários fatores. Logo após a higienização bucal, ocorre a deposição, nos dentes, da película adquirida, camada protéica acelular, constituída por componentes da saliva e do fluido gengival, além de componentes bacterianos, como a enzima glicosil transferase. As bactérias começam a colonizar essa película 2 a 4 horas após a escovação. Os microrganismos pioneiros são principalmente os *Streptococcus* (*S. sanguinis*, *S. oralis* e *S. mitis*) e, em menor número, o *Actinomyces*. As bactérias com baixa afinidade pela película são eliminadas pelo fluxo salivar. Depois da colonização inicial, os microrganismos pioneiros crescem rapidamente, formando microcolônias embebidas em uma matriz extracelular composta por moléculas bacterianas do hospedeiro e da dieta alimentar. Durante esse processo, as alterações do ambiente causadas pelos precursores permitem a colonização por outras bactérias, como as *Veillonellas* (48 horas após a escovação).

As inter-relações bacterianas, incluindo co-agregação, produção de substâncias antibacterianas, novos metabólitos e cadeias alimentares alternativas, contribuem para o aumento na diversidade da comunidade bacteriana. O consumo de oxigênio pelas espécies aeróbias favorece a colonização por microrganismos anaeróbios obrigatórios como *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella* e espiroquetas (uma a duas semanas). Se a placa não for removida, a complexidade da microbiota aumentará até o estabelecimento da comunidade-climax (três a quatro

semanas) (MARSH e MARTIN, 1992), caracterizando a sucessão microbiana da placa dental (MARCOTTE e LAVOIE, 1998).

2.4 CÁRIE DENTAL

Dentre as enfermidades da cavidade bucal as que mais atenção despertam aos profissionais dos serviços de Saúde Pública e ao clínico geral da rede privada são a cárie dentária e a doença periodontal.

Na Tabela 3 são apresentados os resultados do ataque de cárie na dentição permanente, medidas pelo índice CPO-D (cariados, perdidos, obturados – dente), na idade de 12 anos e nos grupos etários de 15 a 19 anos, 35 a 44 anos e 65 a 74 anos, segundo macrorregião e no país como um todo.

Destacamos os dados para a região sul: aos 12 anos o índice Cariado, Perdido e Obturado – Dente (CPO-D) médio é igual a 2,31 dentes, ou seja, em média dois dentes cariados, ou perdidos, ou obturados (restaurados), portanto, já estiveram e ou estão sendo acometidos pela doença. Na faixa etária de 15 a 19 anos, o CPO-D médio é de 5,77. No grupo etário de 35 a 44 anos CPO-D médio igual a 20,61 e no grupo etário 65 a 74 anos CPO-D médio é igual a 27,33. A partir dos 35 anos o componente do CPO, dente perdido, aumenta com o passar dos anos.

TABELA 3 – MÉDIA DE DENTES CARIADOS, PERDIDOS E OBTURADOS (CPO), DESVIO-PADRÃO PARA MÉDIA POPULACIONAL SEGUNDO IDADE E MACRORREGIÃO. BRASIL. 2003

	Macroregião	Número Populacional	Média	Desvio Padrão
12 anos	Norte	6.208	3,13	3,13
	Nordeste	7.322	3,19	3,57
	Sudeste	8.052	2,30	2,72
	Sul	7.119	2,31	2,71
	Centro-Oeste	5.849	3,16	3,30
	Brasil	34.550	2,78	3,12
15 a 19 anos	Norte	3.877	6,14	4,79
	Nordeste	3.998	6,34	4,91
	Sudeste	2.981	5,94	4,65
	Sul	3.841	5,77	4,52
	Centro-Oeste	2.136	6,97	5,12
	Brasil	16.833	6,17	4,82
35 a 44 anos	Norte	2.486	19,88	7,88
	Nordeste	3.370	19,62	7,96
	Sudeste	2.340	20,30	7,74
	Sul	3.189	20,61	7,49
	Centro-Oeste	2.046	20,32	7,51
	Brasil	13.431	20,13	7,74
65 a 74 anos	Norte	746	28,34	6,32
	Nordeste	1.446	27,27	6,73
	Sudeste	1.052	28,61	6,44
	Sul	1.374	27,33	6,88
	Centro-Oeste	731	27,93	6,98
	Brasil	5.349	27,79	6,74

FONTE: BRASIL, 2004

O Quadro 1 ilustra os resultados obtidos por grupo etário e região, em relação às metas da Organização Mundial da Saúde (OMS) e Federação Dentária Internacional (FDI) para o ano 2000.

QUADRO 1 – COMPARAÇÃO ENTRE AS METAS PROPOSTAS PELA OMS/FDI PARA ANO 2000 COM RELAÇÃO À CÁRIE DENTÁRIA E OS RESULTADOS DO PROJETO SAÚDE BUCAL BRASIL. BRASIL, 2003

Idade		Norte	Nordeste	Sudeste	Sul	Centro-Oeste	Brasil
5 a 6 anos	Brasil 2003	35,04%	34,92%	44,92%	43,35%	41,73%	40,62%
	Meta OMS 2000	50% livres de cárie (ceo-d = 0)					
12 anos	Brasil 2003	3,13	3,19	2,30	2,31	3,16	2,78
	Meta OMS 2000	CPO-D menor que 3,0					
18 anos	Brasil 2003	39,13%	45,07%	66,53%	66,55%	65,74%	55,09%
	Meta OMS 2000	80% com P=0 (todos os dentes na boca)					
35 a 44 anos	Brasil 2003	46,34%	49,97%	62,35%	55,13%	58,36%	53,96%
	Meta OMS 2000	75% com 20 ou mais dentes presentes na boca					
65 a 74 anos	Brasil 2003	8,58%	11,07%	9,32%	10,41%	11,22%	10,23%
	Meta OMS 2000	50% com 20 ou mais dentes presentes na boca					

FONTES: BRASIL, 2004

NOTA: ceo-d – cariado, extraído, obturado – dente decíduo

CPO-D – cariado, perdido, obturado – dente permanente

P – dente perdido (extraído)

Observa-se que, de maneira geral, a situação brasileira não está muito boa. O Brasil atingiu as metas da OMS para o ano 2000 somente na idade de 12 anos, e em parte isso aconteceu somente devido às crianças das regiões sul e sudeste. Para todas as outras idades os níveis ficaram aquém das metas propostas para o ano 2000.

A presença de microrganismos patogênicos na superfície dental é um dos fatores predisponentes para o desenvolvimento da cárie dental, doença crônica infectocontagiosa, com alta prevalência no ser humano (VAN PALENSTEIN HELDERMAN, 1996). Sua etiologia apresenta caráter multifatorial (FEJERSKOV e MANJI, 1990), sendo os hábitos de vida e a infecção bacteriana os fatores mais importantes (BRATTHALL, 1997). Ela caracteriza-se pela desintegração molecular localizada e progressiva das estruturas dentais resultante da estagnação da placa dental e da ação dos ácidos orgânicos produzidos pelas bactérias por meio da fermentação de carboidratos da alimentação. A ingestão freqüente de carboidratos

fermentáveis leva à seleção de bactérias acidogênicas (capazes de produzir ácidos a partir de carboidratos) e acidúricas (capazes de sobreviver em ambientes ácidos) e a uma constante diminuição do pH ambiental, contribuindo para a solubilização dos minerais dentais abaixo de uma faixa crítica que varia entre 5 e 5,5 na ausência de fluoretos em solução (LOESCHE, 1986; MARCOTTE e LAVOIE, 1998).

A complexidade da comunidade bacteriana presente na placa dental dificulta a determinação de um único agente bacteriano de cárie (MARCOTTE e LAVOIE, 1998). Entretanto, há evidências consideráveis de que os *Streptococcus* grupo *mutans* e *Lactobacillus* estejam envolvidos no início e na progressão da cárie, respectivamente (LOESCHE, 1986). Esses dois grupos bacterianos são capazes de metabolizar rapidamente os carboidratos em ácidos, principalmente ácido láctico, além de tolerar o baixo pH ambiental.

Estudos longitudinais demonstraram que a iniciação da cárie em esmalte é precedida pelo aumento no número de *S. mutans* (LOESCHE, 1986). O aumento no número do *Lactobacillus* somente é significativo após a cavitação da superfície (BURT et al., 1985). Ressalta-se que lesões podem ter início mesmo na ausência de *S. mutans* e de *Lactobacillus*, uma vez que espécies como *Actinomyces* spp., *S. mitis*, *Veillonella* spp. e *Candida* spp. também têm sido associados à cárie de esmalte (MARSH e MARTINS, 1992).

O fato de que os *Streptococcus* grupo *mutans* constituem a principal porção da microbiota envolvida nos mais variados processos cariogênicos já está firmemente consolidado na comunidade acadêmica (ZICKERT et al., 1983; TANZER, 1995; VAN PALENSTEIN HELDERMAN, 1996; CAUFIELD, 1997). Esses *Streptococcus* formam um grupo composto por sete espécies (*S. cricetus*, *S. downei*, *S. ferus*, *S. macacae*, *S. sobrius* e *S. rattus*), as quais reúnem diferentes fatores de virulência para o desenvolvimento da cárie dental, como acidogenicidade e aciduricidade, capacidade de

adesão e acúmulo nas superfícies dentárias, síntese de polissacarídeos intra (armazenamento de substratos) e extracelulares solúveis e insolúveis em água além de produção de bacteriocinas que podem facilitar sua colonização (LOESCHE, 1986). O *Streptococcus mutans* e o *S. sobrinus* são consideradas as principais bactérias a iniciar o processo de cárie, sendo que o *S. mutans* é a espécie mais freqüentemente isolada na cavidade oral (biofilme dental, lesões cariosas e saliva) seguida pelo *S. sobrinus* (LINDQUIST e EMILSON, 1991).

A microbiota associada à cárie radicular também é complexa. Além dos *Streptococcus mutans* e dos *Lactobacillus*, vários outros microrganismos podem ser isolados, sendo os *Actinomyces* ocasionalmente a espécie predominante (BOWDEN et al., 1990).

MARSH e MARTIN (1992) propuseram a hipótese da placa ecológica, na qual fatores poderiam alterar a proporção da microbiota residente, predispondo o sítio à doença. Em pH neutro *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* são fracamente competitivos, constituindo, assim, uma pequena percentagem da comunidade total da placa bacteriana. Com o aumento freqüente de carboidratos fermentáveis haverá uma constante diminuição no pH da placa, com conseqüente diminuição na proporção de bactérias acidossensíveis (*S. sanguinis*, *S. oralis* e *S. mitis*) e aumento de bactérias acidogênicas e acidúricas, favorecendo o desenvolvimento e a progressão da doença.

2.5 DOENÇA PERIODONTAL

Segundo LINDHE (1997), a expressão *doença periodontal* representa um grupo de patologias que afeta os tecidos periodontais, com destaque para as gengivites e as periodontites. A cárie e as periodontais são as doenças bucais de maior prevalência na população mundial. A cárie, por ser ainda a maior causadora de perdas dentais, destaca-se como atenção principal nos programas de saúde bucal, fazendo com que as doenças periodontais fiquem relegadas ao segundo plano. As doenças periodontais ocorrem com maior prevalência em adolescentes, adultos e idosos, enquanto que a doença cárie ocorre com maior prevalência na faixa etária de cinco a 12 anos, consideradas prioritárias em termos de prevenção. Entretanto, com o declínio da ocorrência das lesões de cárie devido ao uso de métodos preventivos, sobretudo em países e em algumas áreas mais desenvolvidas, e ao aumento da longevidade da população, a atenção primária à prevenção das doenças bucais tende a ser direcionada para as periodontais.

As doenças periodontais são infecções causadas por microrganismos que colonizam as superfícies dos dentes, vivendo em simbiose com os indivíduos. O principal fator etiológico é a placa bacteriana, também chamada de biofilme bacteriano. O biofilme apresenta uma estrutura bastante complexa e é composto por micro-colônias de células bacterianas (15 a 25% do volume) que estão distribuídas de forma não-casual em uma matriz ou glicocálix formada por substância intercelular (75 a 80% do volume). Entre as microcolônias podem ser encontrados canais de água, que atuam na distribuição de nutrientes entre as células. A nutrição das células pode estar

armazenada nesses canais e, principalmente, na matriz intercelular. Individualmente, as microcolônias podem ser constituídas por uma única espécie bacteriana ou por diferentes espécies, o que é mais freqüente (SOCRANSKY e HAFFAJEE, 2002).

A associação das bactérias nas microcolônias não é causal. SOCRANSKY (1998), identificaram seis grupos de associações, que denominou de complexos bacterianos: 1) *Actinomyces*; 2) complexo amarelo, que consiste de membros do gênero *Streptococcus*; 3) complexo verde, consistindo de espécies do gênero *Capnocytophaga*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* sorotipo A, *Eikenella corrodens* e *Campylobacter*; 4) complexo roxo, constituído de *Veillonella parvula* e de *Actinomyces odontolyticus*; 5) complexo laranja, consistindo de grupos bacterianos gram-positivos; 6) complexo vermelho, consistindo também de bactérias gram-negativas, sobretudo de *Porphyromonas gingivialis*, de *Bacteróides forsythus* e de *Treponema denticola*. Os quatro primeiros grupos colonizam facilmente a superfície dos dentes, mas o crescimento desses geralmente precede a colonização e a multiplicação dos grupos dos complexos, laranja e vermelho, predominantemente gram-negativos (SOCRANSKY e HAFFAJEE, 2002).

A gengivite e a periodontite são as duas maiores formas de doenças inflamatórias que afetam o periodonto. O fator etiológico dessas doenças é o acúmulo da placa bacteriana, o qual pode iniciar o processo de destruição do tecido gengival e do periodonto de inserção. Gengivite é a inflamação do tecido gengival que não resulta em perda de inserção clínica. Periodontite é a inflamação do tecido gengival e do aparato de inserção adjacente, caracterizada pela perda de inserção de tecido conjuntivo e de osso alveolar.

As doenças periodontais também são consideradas fatores de risco para outras doenças ou alterações sistêmicas, que podem, inclusive, levar ao óbito, como as moléstias cardiovasculares e as respiratórias, e ao nascimento de bebês prematuros e

de baixo peso (PAGE e KORNMAN, 1997).

Com base nesses conhecimentos, a atuação dos cirurgiões-dentistas em conjunto com outros profissionais de saúde e áreas afins, deve ser considerada com maior importância no desenvolvimento de programas preventivos e de manutenção à saúde geral e bucal.

2.6 CONTROLE MECÂNICO DA PLACA BACTERIANA (BIOFILME)

O controle mecânico realizado pelo paciente envolve a higienização bucal com uso de escovas e de fio ou fita dental. A escova dental é o instrumento mais freqüentemente utilizado na higiene oral (LÖE, 1979); ela pode ser manual ou elétrica (VAN DER WEIJDEN, 1998).

A eficiência da ação da escova está relacionada com o tempo de escovação (HUBER, RUEGER, HEFIT, 1985) e é realçada de forma significativa com o uso conjunto de dentifrícios, que atuam aumentando a ação abrasiva das cerdas e como agentes de liberação de substâncias químicas na prevenção e no controle do biofilme e do cálculo dentário (DAVIS, 1980; FORWARD, 1991). O efeito de limpeza de um dentifrício está relacionado com o seu conteúdo de abrasivos (carbonato de cálcio, fosfato de cálcio, sulfato de cálcio, bicarbonato de sódio, cloreto de sódio, óxido de alumínio e silicato) e de detergentes (sulfato de sódio, sarcosinato de sódio). Além dessas substâncias, os dentifrícios apresentam agentes umectantes (glicerina, sorbitol), agentes engrossantes (celulose de carboximetil, alginato, amilose), agentes aromáticos, água e corantes (LINDHE, 1997). Para obter eficiência, o dentifrício deve ser colocado entre as cerdas e em pequena quantidade, evitando a formação excessiva

de espuma, que dificulta a visualização dos dentes e induz a uma rápida sensação de perfume e frescor na boca, fazendo com que o paciente, por vezes, finalize a escovação antes da completa limpeza dos dentes.

Quando a higiene oral é negligenciada ou realizada de forma irregular, o crescimento do biofilme dentário alcança sua máxima extensão em três a quatro dias, sendo o acúmulo de placa dentária detectável em quase todas as superfícies dos dentes (LANG, 1973; FURUICHI et al., 1992). Em populações sem acesso a acessórios de higiene bucal, como as escovas dentais, mais de 95% das superfícies dentais avaliadas exibem placa visível (BAELUM, FERJERSKOV, KARRING, 1986). Em contraste, populações de países ou áreas industrializadas e que praticam uma higiene bucal regular apresentam médias de 40 a 60% de superfícies dentais cobertas com placa (KALSBECK, 2000). Portanto, somente aumentar o acesso aos artigos e produtos de higiene bucal pela população não implica reduções nos níveis do biofilme dentário. A motivação e as instruções de higiene oral constituem os fatores de maior influência no controle de placa dentária pelo paciente (RONIS, 1993).

Um programa de instrução de higiene oral, de forma individual ou coletiva, consome tempo e requer freqüente motivação. Estudos de longa duração sobre a eficiência da instrução do paciente e de programas de motivação em adolescentes demonstraram que são necessárias 3,5 horas de instruções e de motivação para se obter reduções clinicamente significativas de níveis de placa individuais (ALBANDAR et al., 1994; ALBANDAR, 1995). O processo de educação e de mudança de hábitos de higiene bucal deve ser realizado o mais precocemente possível, envolvendo tanto o paciente quando os seus cuidadores, como pais, avós, babás e professores, visto que a criança espelha-se nas ações e nos hábitos dos adultos para desenvolver suas próprias ações e hábitos. Esses dados devem ser considerados no planejamento dos programas de educação em saúde coletiva.

O consumo de artigos e de produtos para higiene bucal no Brasil ainda não atingiu proporções ideais, demonstrando as diferenças de distribuição de renda e de valores na preservação e nos cuidados com a saúde bucal da população. O consumo de escova dentária por pessoa/ano no Brasil é de 0,9 unidade, ou seja, menos de uma escova ao ano por habitante, quando o ideal, recomendado tanto pelos cirurgiões-dentistas quanto pelos fabricantes, são quatro unidades por pessoa ao ano (ALCÂNTARA, 1999). O uso de “escova familiar”, uma única escova de uso comum para toda a família, é uma observação comum em trabalhos de educação para a saúde em populações de baixa renda (PINTO, 2000).

Os números *per capita* em relação ao consumo de fio dental no Brasil são ainda menores, atingindo a marca de 0,2 unidade por pessoa, quando o ideal seria de seis unidades pessoa/ano, ou seja, o consumo por pessoa de um rolo de fio dental a cada dois meses. Em relação ao uso de dentifrícios no Brasil, o consumo é de 430 g/ano por pessoa, ou seja, em torno de quatro tubos por pessoa/ano, enquanto que o ideal seria de 24 tubos ao ano. Contudo, de forma paradoxal, esse consumo ainda é maior do que em outros países mais desenvolvidos, como a França (351 g/ano) e a Inglaterra (420 g/ano) (ALCÂNTARA, 1999). Isto se deve ao fato de que há desperdício no uso do creme dental, provavelmente porque os tubos dos dentifrícios, assim favorecem e há falta de orientação do uso adequado por parte da população.

2.7 CONTROLE QUÍMICO DA PLACA BACTERIANA (BIOFILME)

Os agentes tópicos antimicrobianos auxiliares na redução da placa bacteriana (biofilme) podem ser utilizados em conjunto com o controle mecânico na preservação e no tratamento da gengivite em alguns pacientes (BRECX et al., 1992; MANDEL, 1994). Um grande número desses agentes tem sido testado em estudos clínicos, aplicados na forma de bochechos e dentifrícios. Contudo, para ser aceito como agente efetivo no tratamento da gengivite, um produto deve reduzir o biofilme bacteriano, demonstrar redução efetiva dos sinais clínicos da inflamação gengival por um período de pelo menos seis meses e apresentar segurança em seu uso, induzindo o mínimo de efeitos colaterais adversos (WU e SAVITT, 2002).

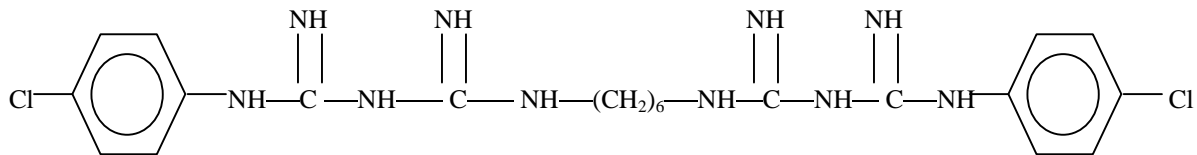
De acordo com CURY (1997), o controle químico da placa pode ser feito no sentido profilático ou terapêutico. No primeiro caso, estaríamos evitando que ocorresse um desequilíbrio da microbiota, quando os métodos mecânicos são ineficientes. No sentido terapêutico diz respeito a indivíduos que já apresentam uma microbiota desequilibrada, visando atingir as bactérias predominantes relacionadas com as doenças, objetivando o reequilíbrio da microbiota e sua harmonia com o hospedeiro.

2.8 PRINCIPAIS ANTIMICROBIANOS UTILIZADOS EM ODONTOLOGIA

THYLSTRUP e FEJERSKOV (1995) afirmaram que a clorexidina é um dos agentes antimicrobianos mais cuidadosamente estudados e o mais potente. Ela é altamente eficaz e em geral utilizada como padrão contra o qual é medida a potência de outros agentes. Ela é classificada quimicamente como uma Bis-guanidina, apresentando propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas. Ela consiste de dois anéis de 4-clorofenol e dois grupos bisbiguanidas que estão simetricamente ligados a uma cadeia hexametilênica (Figura 2). Isto fornece à molécula propriedades hidrófilas e hidrofóbicas. O efeito antimicrobiano *in vivo* da clorexidina não é muito grande, mas o espectro é amplo. A clorexidina em geral é mais eficaz contra as bactérias Gram-positivas que contra as Gram-negativas. Os estreptococos grupo mutans são particularmente sensíveis a clorexidina, ao passo que os *Streptococcus sanguis*, por exemplo, apresentam grande variação de suscetibilidade entre as várias cepas (EMILSON, 1997). Geralmente é utilizada na forma de sal de gluconato e tem demonstrado resultados positivos no controle de bactérias patogênicas presentes na cavidade bucal. Possui largo espectro bacteriano, alta substantividade, é segura e efetiva. Atualmente, acredita-se que os efeitos da clorexidina na formação da placa sejam devidos as suas atividades bactericidas, quando em altas concentrações, e pela inibição de enzimas glicolíticas e proteolíticas quando em baixas. Segundo CURY (1997), ela atua na desorganização geral da membrana celular e inibição específica de enzimas da membrana. Ela inibe a incorporação de glicose pelo *S. mutans* e seu metabolismo para ácido lático, e reduz a atividade proteolítica do *P. gingivalis*. Pode

ser encontrada veiculada em dentifrícios, géis, vernizes ou soluções. Entretanto, seu uso em dentifrícios pode ser indevido, pois estes em geral apresentam detergentes (ex. lauril sulfato de sódio), incompatíveis com a clorexidina, reduzindo sua ação. Na forma de solução, a concentração preferida é de 0,12%, utilizada duas vezes ao dia (ADAMS e ADDY, 1994).

FIGURA 2 – FÓRMULA ESTRUTURAL DA CLOREXIDINA



FONTE: THYLSTRUP e FEJERSKOV, (1995).

QUINDERÉ (1999), realizou um estudo para avaliar os efeitos tópicos da clorexidina sobre a mucosa oral de ratos, exposta a clorexidina a 0,5% e 5%. Os autores observaram áreas esbranquiçadas e eritematosas, bem como ulcerações, nos animais que receberam a clorexidina a 5%. Eles concluíram que as alterações clínico-patológicas provocadas foram mais significantes e severas, com o uso em elevadas concentrações e maiores períodos. Estes resultados sugerem que tais substâncias devem ter seu uso restrito, sujeito a indicações precisas, por pequenas concentrações e por curtos períodos de tempo. Como exemplo podemos citar crianças ou adultos deficientes (problemas motores), após cirurgias periodontais, pacientes que sofreram intervenções bucomaxilofaciais, ou que por algum motivo não estão conseguindo realizar o controle da placa bacteriana. Também pode ser indicada como um coadjuvante no tratamento de bolsas periodontais refratárias, na forma de membranas impregnadas.

SANTOS (1999), analisou a citotoxicidade de soluções de digluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard – Colgate), a 2% (Plack-Out) e 2% com flúor (fórmula laboratorial). Eles concluíram que o Periogard foi significativamente menos tóxico *in vitro*, em culturas de fibroblastos do que as outras substâncias testadas.

Para GEBARA, ZARDETTO, MAYER, (1996) embora a clorexidina seja um excelente antimicrobiano, devido a seus efeitos colaterais, não é recomendado o seu uso prolongado. Daí a necessidade de serem desenvolvidas substâncias tão efetivas quanto, mas sem os seus efeitos colaterais. Segundo CURY (1997) dentre os efeitos adversos relatados com o uso prolongado da clorexidina podemos citar a coloração dos dentes, descamação reversível da mucosa, alterações do paladar e aumento dos depósitos calcificados supra gengivais. Deve ser ressaltado que o manchamento provocado pela clorexidina não é no dente, e sim na película adquirida que está adsorvida ao dente. Portanto, sendo este manchamento extrínseco, ele pode ser removido por uma profilaxia dental ou descoloração com agentes oxidantes.

O Cloreto de Cetilpiridíneo, são compostos de amônia quaternária. Trata-se de um agente amplamente utilizado em bochechos, devido a suas propriedades antimicrobianas. Presume-se que sua ação ocorra por ligações catiônicas muito semelhantes às que ocorrem com a clorexidina. O mecanismo de ação está relacionado com o aumento da permeabilidade da parede celular, que favorece a lise, diminui o metabolismo celular, e a habilidade da bactéria em se aderir à superfície dentária. Segundo GJERMO, BAASTAD, RÖLLA (1970) sua atividade antimicrobiana é igual ou melhor do que a clorexidina, ao passo que sua propriedade de inibição de placa é inferior. Essa diferença na atividade antiplaca, pode estar relacionado, ao fato dele perder parte de sua propriedade antimicrobiana com sua adsorção nas superfícies. A retenção inicial do cloreto de cetilperidínio é mais alta do que a da clorexidina, mas ele é removido mais rapidamente da cavidade bucal.

Outros agentes têm sido formulados contendo coadjuvantes ao controle mecânico de placa e ao efeito cárie-protetor do flúor. Dentifrícios e/ou enxaguatórios bucais contendo clorexidina, compostos de amônia quaternária, extratos de plantas, íons metálicos e compostos têm mostrado eficácia na redução da formação da placa e do desenvolvimento de cáries dentárias (CUMMINS e CREETH, 1992).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLETA, IDENTIFICAÇÃO E EXSICATA DO AGRIÃO

O material vegetal, de cultivo orgânico, foi coletado junto ao produtor e fornecedor credenciado, Joemi comércio de frutas e verduras LTDA, sito a rua Bortolo Pellanda, 1489, em Umbará, bairro de Curitiba, Paraná-Brasil. A figura 3 mostra o cultivo do agrião (*Nasturtium officinale* R. Br.), na propriedade do Sr. Joemi, antes da colheita. Este produtor está credenciado ao Laboratório Catarinense, sediado em Joinville – SC. Esta empresa desenvolve e comercializa formas farmacêuticas de largo uso, dentre as quais destacam-se inúmeros fitoterápicos. O Laboratório qualifica os seus produtores e fornecedores, por isso o produtor recebeu visitas para revisão das condições agroecológicas, técnicas, sistemas de sementeiras, transplante e controle de umidificação (normal ou irrigação da nascente). Foi então elaborado um cronograma de colheitas para estudo da composição, fórmula percentual durante o consumo anual e suas variações. O cultivo orgânico se justifica pela necessidade de obtenção da planta para fins medicinais, sem nenhum resíduo de substância nociva à saúde humana (agroquímico).

FIGURA 3 – CULTIVO DO AGRIÃO, (*Nasturtium officinale* R. Br), COM INFLORESCÊNCIA – CURITIBA – PR



FOTO : CARVALHO (2004)

O material vegetal foi destinado à realização de exsicata. Em abril de 2000, o mesmo foi herborizado no Herbário de Curitiba, Museu Botânico, sob o número 248503 conferido pelo Dr. Gert Hatschbach.

As coletas foram realizadas nos meses de abril de 2002 e abril de 2003, sendo que em abril de 2002 foram adquiridos 2 kg de droga. Em abril de 2003 foram coletados 85 kg de material vegetal fresco, que foram estabilizados nas dependências da Universidade Federal do Paraná.

3.2 ESTABILIZAÇÃO E PADRONIZAÇÃO GRANULOMÉTRICA DA DROGA VEGETAL

O material vegetal, obtido em abril de 2003, foi pré-estabilizado em condições ambientes com ventilação forçada. Em seguida foi realizada estabilização de 40 kg de talos e folhas em estufa ventilada a 45°C, por um período de 20 horas, obtendo-se 2,8 kg de droga. A estabilização de todo o material vegetal se deu no período de 05/04/03 a 10/04/03.

A padronização granulométrica, da droga vegetal, foi realizada em um moinho de facas, com tamiz de 8 mm. Em seguida a droga vegetal estabilizada foi embalada em sacos de papel e acondicionada em caixas de papelão.

Segundo OLIVEIRA e AKISUE (1991) droga vegetal é todo o material de origem vegetal, seco e estabilizado que não sofreu nenhum processo de modificação, extração ou purificação.

3.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DE AGRIÃO D'ÁGUA (*Nasturtium officinale* R. Br.)

3.3.1 Obtenção dos Extratos Padronizados para fins Farmacotécnicos, em Aparelho de Soxhlet

Os extratos analíticos foram preparados no laboratório de Farmacotécnica da UFPR, sob a responsabilidade do doutorando João Luiz de Souza Carvalho.

Adaptou-se uma manta de algodão de 3 cm de espessura, sobre a placa porosa de teflon, no fundo do extrator, e adicionou-se em torno de 500 g da droga de acordo com a sua densidade aparente, perfazendo o volume de 1,6 L (25 cm de droga em um aparelho com diâmetro de 9 cm x 40 cm de altura útil). O aparelho extrator Soxhlet (Figura 4) foi utilizado com o seguinte procedimento: adicionou-se 1000 mL de etanol 85% no balão de fundo chato de 3000 mL, contendo algumas pérolas de vidro; conectou-se o extrator ao balão e adicionou-se sobre 1500 mL de etanol 85% para umectação da droga por 30 min e conectou-se este conjunto ao condensador de bolas. Iniciou-se o processo de aquecimento para a extração contínua, onde o solvente condensado percolou pela droga e eluiu no extrator até refluxação. Este procedimento foi mantido por cinco horas em média. Após transcorrido este tempo, concentrou-se o extrato do balão para aproximadamente 1000 mL. O procedimento foi realizado com os talos e folhas de droga vegetal, que foram separados no processo de estabilização. Assim utilizou-se a droga vegetal obtida dos talos mais folhas. Os extratos da droga vegetal dos talos e folhas foram reunidos, obtendo-se assim o extrato padronizado dos

talos mais folhas (EPTF). Os respectivos volumes finais, dos extratos padronizados, ou seja, com 1 g de droga para 1 mL de extrato, foram medidos com uma proveta e transferidos para frascos de vidro âmbar, com teor de 28% de sólido.

FIGURA 4 – APARELHO SOXHLET ANALÍTICO



FONTE: CARVALHO, 2001

3.3.2 Extração por Gradiente de Polaridade em Soxhlet, para fins Fitoquímicos e de Testes Farmacológicos

Realizou-se este processo em duas etapas e em cada uma das etapas foi utilizada a seguinte seqüência de solventes, em gradiente de polaridade: hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e etanol 85%. O processo geral está descrito abaixo.

Adaptou-se uma manta de algodão, de 3 cm de espessura, no fundo do extrator soxhlet (ϕ 9 cm x h 20 cm) e adicionou-se a quantidade de droga, 400 g da droga para a primeira determinação e 500 g na segunda determinação. Cobriu-se a droga com outra manta de algodão de 3 cm de espessura. O aparelho extrator Soxhlet foi utilizado com o seguinte procedimento: adicionou-se 500 mL do solvente no balão de fundo chato, de 1000 mL, com pérolas de vidro e conectou-se ao extrator.

Em seguida adicionou-se ao extrator, sobre a manta de algodão superior, um volume de 1350 mL do mesmo solvente contido no balão com a finalidade de umectar a droga, para tanto se deixou o sistema em repouso por 30 min. Por fim conectou-se este conjunto ao condensador de bolas e iniciou-se o processo de aquecimento para a extração contínua, em que o solvente condensado percolava a droga e eluia pelo extrator até refluxação. Este procedimento foi mantido por cinco horas. Depois de transcorrido este tempo, concentrou-se o extrato do balão para o volume adequado, de acordo com o solvente utilizado. Em seguida foi feita a determinação da massa de sólidos, transferindo-se o extrato para um balão de evaporador rotatório tarado e concentrando-o (45 °C e 600 mmHg) até a secura. O marco residual foi utilizado para a

partição com o solvente subsequente no gradiente crescente de polaridade. Ou seja foram realizados ao todo cinco processos extrativos em ordem crescente de polaridade, hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e etanol 85%. Os sólidos residuais da fração hexânica e diclorometano foram solubilizados em etanol 96%, da fração acetato de etila em etanol 96%, da fração metanol em metanol 95% e os sólidos residuais da fração etanol 85% foram solubilizados em etanol 80%.

A fração hexânica representa 10 mg sólidos/mL; a fração diclorometano, 9 mg de sólido/mL; a fração acetato de etila 6 mg/mL; a fração metanólica 50 mg de sólidos/mL e a fração etanólica equivale a 60 mg/mL.

3.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO*

3.4.1 Inibição por Difusão em Ágar

3.4.1.1 Material

Foram testados as seguintes frações do extrato de agrião (*Nasturtium officinale* R. Br.): solução 1 - extrato bruto, solução 2 - fração hexânica; solução 3 - fração diclorometano; solução 4 - fração acetato de etila; solução 5 - fração metanólica; solução 6 - fração etanólica e como solução padrão: digluconato de clorexidina à 0,2% (solução 7). Estas frações foram testadas sobre cultivo misto de bactérias relacionadas a microbiota bucal que podem estar presentes na placa dentária. Foram realizados testes com culturas puras - ATCC - (American Type Culture Collection): *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12.228), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25.923), *Streptococcus pyogenes* (ATCC 35.037), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 25.853), *Streptococcus mutans* (ATCC 25.175), *Streptococcus mitis* (ATCC 49.456), *Candida albicans* (ATCC 51.501) e placa-dentária.

3.4.1.2 Linhagem de microrganismos

De acordo com BURNETT, SCHERP, SCHUSTER, (1985) o *Streptococcus pyogenes*, isolado ocasionalmente na cavidade bucal, deriva provavelmente da oronasofaringe e não deve ser considerado um componente da flora residente. Os *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus*; estão geralmente presentes na cavidade bucal e orofaringe, porém constituindo uma fração menor da flora microbiana da região e são freqüentemente encontrados, constituindo uma fração significativa da flora microbiana na região da nasofaringe. O *Pseudomonas aeruginosa* é freqüentemente encontrado na cavidade bucal, porém em concentrações baixas, como componentes transitórios.

Os *Streptococcus mitis* está relacionado com os microrganismos que iniciam a formação da placa dentária (biofilme), o *Streptococcus mutans* está relacionado com o desenvolvimento inicial de lesões de cárie e a *Candida albicans* é considerado um fungo com potencial muito patogênico na cavidade bucal.

3.4.2 Método

As culturas puras de bactérias e placa dentária, foram inoculados em meio de cultura líquido de Tryptic Soy Broth (TSB) ou Caldo Tripticaseína de soja, da Biobrás, para enriquecimento e incubadas em estufa a 37° C por um período de 24 a 48 horas.

A suspensão de bactérias foi preparada, comparando-se a turbidez com o tubo nº 5 da Escala de MacFarland, (equivalente a um milhão e quinhentos mil bactérias por mL).

Um “Swab” de algodão não tóxico, esterilizado foi submerso no inóculo. Para eliminar o excesso de líquido o “Swab” foi pressionado e girado contra as paredes do tubo. Em seguida foi realizada a semeadura no meio de cultura BHI (Brain Heart Infusion) em ágar. Este meio de cultura enriquecido não específico, é feito de tecido liofilizado (seco) de cérebro e coração (suíno ou carneiro), rico em glicose, potássio e fosfato. A semeadura foi cuidadosa distribuindo o inóculo de maneira uniforme.

Sob o meio de cultura BHI em ágar, com cerca de 6mm de espessura distribuído em placas de petri de 10 cm de diâmetro, foram feitas escavações de cerca de 7 mm de diâmetro. Nestas escavações foram colocados os extratos na quantidade de 150 microlitros, por meio de uma pipeta automática (Figura 5). A Figura 5 ilustra a disposição das escavações, com as soluções 1, 2, 3, 4, 5 e 6 em torno da solução 7. Para o extrato bruto (solução 1) 150 µL equivalem a 42 mg de sólidos/mL; para a fração hexânica (solução 2) 150 µL equivalem a 1,5 mg/mL; na fração diclorometano (solução 3) 150 µL equivalem a 1,35 mg/mL; na fração acetato de etila (solução 4) 150 µL equivalem a 0,9 mg/mL; para a fração metanólica (solução 5) 150 µL equivalem a concentração de 7,5 mg/mL, para a fração etanólica (solução 6) 150 µL equivalem a concentração 9 mg/mL. A solução 7 digluconato de clorexidina a 0,2% - 150 µL equivalem a 3 mg/mL.

FIGURA 5 – DISPOSIÇÃO DAS SOLUÇÕES DE EXTRATOS DE AGRIÃO EM MEIO DE CULTIVO BHI: SOLUÇÃO 1 – EXTRATO BRUTO, SOLUÇÃO 2 – FRAÇÃO HEXÂNICA, SOLUÇÃO 3 – FRAÇÃO DICLOROMETANO, SOLUÇÃO 4 – FRAÇÃO ACETATO DE ETILA, SOLUÇÃO 5 – FRAÇÃO METANÓLICA E SOLUÇÃO 6 – FRAÇÃO ETANÓLICA; EM TORNO DA SOLUÇÃO 7 – DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA A 0,2%

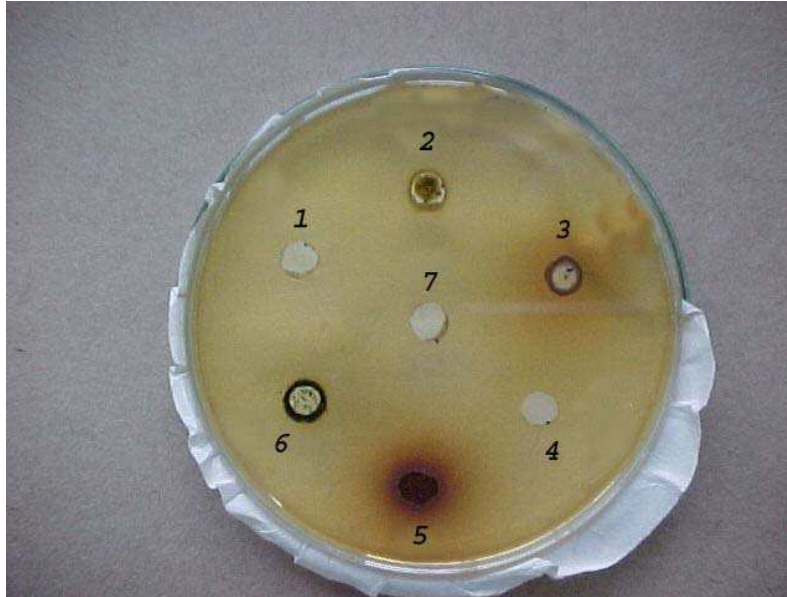


FOTO: BUFFON (2004)

As placas foram incubadas em estufa de 24 a 48 horas, a 37° C.

Para o teste de sensibilidade dos *Streptococcus mutans* e *mitis* as placas do BHI com ágar foram incubadas em jarras para microaerofilia.

Após a incubação de 24 a 48 horas a 37° C, observou-se o crescimento microbiano ao redor das escavações ou a sua ausência, em forma de halos. Os diâmetros dos halos de inibição foram medidos com auxílio de régua e lupa (Figuras 6, 7, e 8).

A Figura 6 ilustra uma placa de petri semeada com placa dentária, evidenciando halos de inibição formados ao redor da solução 3 (fração diclorometano) à esquerda e da solução 7 (digluconato de clorexidina a 0,2%) à direita. Observe que o diâmetro de inibição (em forma de halo) foi superior para a solução 3.

FIGURA 6 – PLACA DE PETRI CONTENDO MEIO BHI SEMEADA COM PLACA DENTÁRIA ILUSTRANDO INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO DE MICRORGANISMOS PRESENTES NA PLACA DENTÁRIA, QUANDO TESTADOS O EXTRATO DE AGRIÃO (*Nasturtium officinale* R. Br.) FRAÇÃO DICLOROMETANO (À ESQUERDA) E A SOLUÇÃO DE CLOREXIDINA A 0,2% (À DIREITA)



FOTO: BUFFON (2004)

As Figuras 7 e 8 ilustram inibição de crescimento dos *Streptococcus mutans*, em forma de halos (em mm). Resultados obtidos com o extrato bruto (solução 1), Figura 7, e com as soluções : 2 – fração hexânica e 6 – fração etanólica, Figura 8.

FIGURA 7 – PLACA DE PETRI CONTENDO MEIO BHI SEMEADA COM *Streptococcus mutans*, APRESENTA INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO (EM FORMA DE HALO), QUANDO TESTADO O EXTRATO BRUTO DE AGRIÃO (*Nasturtium officinale* R. Br.)

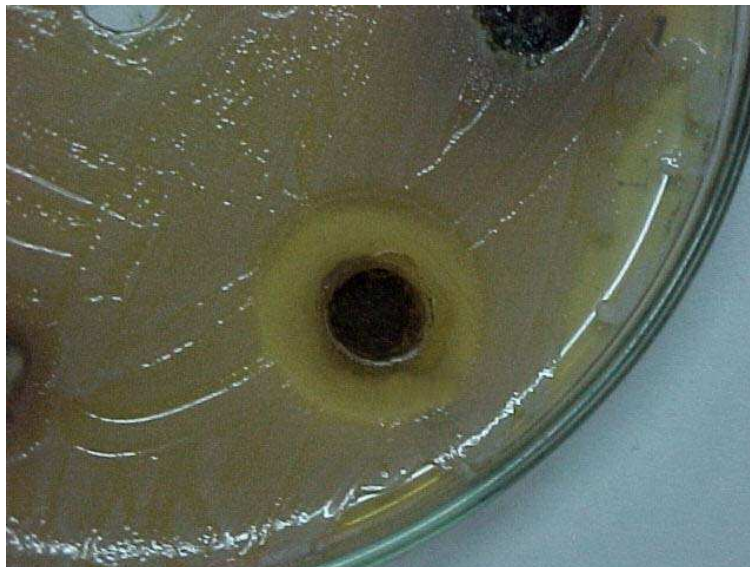


FOTO: BUFFON (2004)

FIGURA 8 – PLACA DE PETRI CONTENDO MEIO BHI SEMEADA COM *Streptococcus mutans*, DEMONSTRA INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO (EM FORMA DE HALOS), QUANDO TESTADOS AS SOLUÇÕES: DE EXTRATO DE AGRIÃO, SOLUÇÃO 2 – FRAÇÃO HEXÂNICA (À DIREITA) E SOLUÇÃO 6 - FRAÇÃO ETANÓLICA (À ESQUERDA)



FOTO: BUFFON (2004)

Em todos os experimentos, como termo de comparação e como teste positivo, foi utilizada a solução de digluconato de clorexidina a 0,2%. Foram realizadas 8 repetições para cada grupo de microrganismos e placa dentária.

Avaliou-se o efeito de sete extratos na inibição de sete microrganismos e placa dentária. O experimento foi conduzido fazendo-se a cultura de cada microrganismo em uma placa de petri diferente. Em cada placa foi aplicado as sete soluções, cada uma em um ponto diferente da placa (Figura 5). As posições de aplicação das soluções foram fixadas para todas as placas. Foram realizadas oito repetições, totalizando 64 placas. A variável resposta foi o halo de inibição em milímetros que a solução causou na cultura.

A análise estatística avaliou o efeito dos diferentes fatores no halo de inibição. O experimento utilizou um delineamento inteiramente casualizado, analisados pelo ANOVA e Teste de Tukey.

3.5 AVALIAÇÃO *IN VIVO* DO EFEITO DE BOCHECHO CONTENDO AGRIÃO (*Nasturtium officinale* R. Br.) NO CONTROLE DA PLACA DENTÁRIA (BIOFILME DENTAL)

3.5.1 Material

Os voluntários (acadêmicos do Curso de Odontologia da UFPR) que participaram da pesquisa inicialmente foram 18, sendo que após a primeira semana, um saiu da pesquisa, ficando doze do sexo feminino e cinco do sexo masculino, com idade média em torno de 20 anos. Estes foram convidados a participar do estudo, por terem conhecimento da importância de seguirem as orientações que foram passadas, como também da necessidade de não faltarem às avaliações semanais.

Os voluntários admitidos no estudo apresentaram todos os dentes permanentes na boca sem lesões cáries aparentes. Pacientes com periodontite, depósitos de cálculos, utilizando antibióticos, antiinflamatórios e outros medicamentos que poderiam influenciar na condução do estudo, foram excluídos.

Foram fornecidos aos voluntários: dentifrícios (cremes dentais) Colgate com 1500 ppm de flúor isento de agentes antiplaca como triclosan, zinco, gantrez; escovas dentais e as seguintes soluções para bochecho (uma solução por fase experimental), (Figura 9):

- Solução A - contendo extrato hidroalcolico a 5% de agrião (*Nasturtium officinale* R. Br.)- equivalente a 18 mg de sólido por mL;

- Solução B - contendo água destilada e deionizada aromatizada;
- Solução C - gluconato de clorexidina a 0,12% aromatizada.

FIGURA 9 – FRASCOS CONTENDO AS SOLUÇÕES PARA BOCHECHO A, B E C



FOTO: BUFFON (2004)

O exame semanal dos voluntários para aplicação do Índice de Higiene Oral Simplificado (GREENE e VERMILLION, 1964) ocorreu na Clínica Odontológica da Universidade Federal do Paraná e para tal foi necessária à utilização dos seguintes equipamentos/materiais odontológicos:

- Equipamentos de Proteção Individual (EPIs): máscaras, toucas, luvas, óculos de proteção, roupas branca e jalecos;
- Cadeira odontológica com refletor, cuspeira, equipo e mocho;
- Campos de brim ou polipropileno para os equipamentos;
- Pia para lavagem de mãos contendo sabonete líquido e papéis-toalha;
- Revelador de placa bacteriana em pastilhas (fucsina básica): para corar regiões de acúmulo de placa dental;
- Espátula de madeira: para exame clínico;

- Ficha clínicas para avaliação, acompanhamento e aplicação do Índice de Higiene Oral Simplificado (IHO-S);
- Micromotor e escova de Robson para profilaxia dentária (remoção da placa dentária).

3.5.2 Métodos / Metodologia

Tratou-se de um estudo *in vivo* do tipo cruzado, no período de 9 semanas (Abril a Junho de 2004), aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas do Setor de Ciências da Saúde – UFPR, de acordo com a Resolução nº 196/96 do Ministério da Saúde em 07/04/2004 – registro CEP / SD: 082. SI 045/04-06 (ANEXO 1, p.93). Este estudo compreendeu 3 tratamentos, sendo realizadas 3 fases (uma fase por tratamento) de 14 dias cada, durante as quais os voluntários realizaram bochechos com as seguintes soluções (tratamentos):

- Solução A - contendo extrato hidroalcolico a 5% de agrião (*Nasturtium officinale* R. Br.): solução-teste.
- Solução B - contendo água destilada e deionizada (controle negativo/placebo).
- Solução C - Gluconato de clorexidina a 0,12% (“padrão-ouro”): reconhecido e eficaz no controle da placa dentária.

Essas soluções foram preparadas pelo Laboratório de Farmacotécnica do Departamento de Farmácia, Setor de Ciências da Saúde da UFPR.

Para este estudo, os voluntários receberam as seguintes orientações por

escrito (ANEXO 2, p. 94):

- Efetuar o bochecho uma vez ao dia, à noite, com 10mL da solução durante 1 minuto após a última escovação (antes de dormir).
- Utilizar somente a escova e dentifrícios fornecidos (a fim de padronizar o tipo de escova utilizado e também as concentrações de flúor na saliva).
- Não fazer a utilização de: aplicação tópica de flúor (em gel); solução contendo flúor para bochecho; chás e outros enxaguatórios bucais diferentes dos utilizados nesta pesquisa.
- Realizar a higienização bucal 3 (três) vezes ao dia. Os voluntários assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO 3, p. 95), como também foi aplicado um questionário pré-tratamento, para melhor conhecimento das condições de saúde bucal (ANEXO 4, p.97).

Em cada fase, participaram os 17 voluntários (em cada tratamento) sendo que, ao final, foram submetidos a todos os tratamentos (estudo do tipo cruzado). Além disso, os voluntários foram distribuídos aleatoriamente em relação aos tratamentos de cada fase.

Inicialmente foi realizado exame clínico, em cada voluntário, para análise de suas condições de saúde bucal, (Figura 10); em seguida o voluntário recebeu uma pastilha do revelador de placa que foi mastigada, com a finalidade de corar as superfícies dos dentes com placa dentária. A Figura 11 ilustra os dentes permanentes, após a mastigação da pastilha evidenciadora de placa. As superfícies com placa dentária ficaram coradas de vermelho. Em seguida o índice de higiene oral (IHO-S) foi registrado (Figura 11) e anotado em ficha clínica (Anexo 5, p. 100), seguido de profilaxia dentária (remoção da placa) realizada pelo examinador. A Figura 12 mostra a

remoção de placa das superfícies dentárias, por meio de uso de tira de lixa de papel com pasta profilática. Procedimento realizado para limpeza das laterais dos dentes (proximais) com placa dentária. A Figura 13 demonstra a profilaxia dentária (limpeza), realizada com um micro motor com taça de borracha e pasta profilática.

FIGURA 10 – EXAME CLÍNICO DAS CONDIÇÕES DE SAÚDE BUCAL



FOTO: BUFFON (2004)

FIGURA 11 — REVELAÇÃO DE PLACA DENTÁRIA COM PASTILHA DE FUCSINA BÁSICA, PARA REGISTRO DO ÍNDICE DE HIGIENE ORAL SIMPLIFICADO (IHO-S). AS SUPERFÍCIES DENTÁRIAS MANCHADAS DE VERMELHO, APRESENTAM PLACA DENTÁRIA



FOTO: BUFFON (2004)

FIGURA 12 — INÍCIO DA REMOÇÃO DE PLACA DENTÁRIA, NAS FACES PROXIMAIS (LATERAIS DOS DENTES) COM TIRA DE LIXA E PASTA PROFILÁTICA



FOTO: BUFFON (2004)

FIGURA 13 — PROFILAXIA – REMOÇÃO DA PLACA DENTÁRIA, COM MICRO MOTOR, TAÇA DE BORRACHA E PASTA PROFILÁTICA



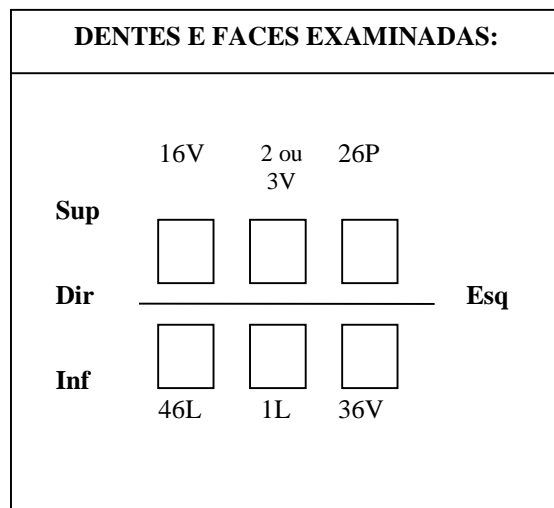
FOTO: BUFFON (2004)

Entre o término de uma fase e início de outra, foi mantida 01 (uma) semana de intervalo, e após o intervalo, realizada nova profilaxia, a fim de eliminar possíveis efeitos residuais dos tratamentos anteriores. Com isso, o tempo total da parte experimental foram de 9 semanas (contando as semanas de intervalo). Neste descanso, os voluntários prosseguiram com o uso das escovas e dos dentífrícios estabelecidos.

A cada semana, os voluntários foram examinados e foi aplicado o Índice de Higiene Oral Simplificado (IHO-S), proposto por GREENE e VERMILLION (1964). Este índice é considerado um índice de larga aplicação em várias regiões do mundo e consiste de examinar seis faces de dentes selecionados, sendo quatro posteriores e dois anteriores, (Quadro 2). Nos dentes posteriores, é examinado o primeiro dente completamente erupcionado distal ao segundo pré-molar, geralmente os primeiros molares: dente 16 = 1° molar superior direito – face vestibular (frente do dente); dente





26 = 1° molar superior esquerdo – face palatina (parte interna do dente); dente 36 = 1° molar inferior direito – face vestibular; dente 46 = 1° molar inferior esquerdo – face lingual ou palatina. O dente ântero-superior a ser examinado é o incisivo lateral = 2 ou canino = 3 na face vestibular (lado direito ou esquerdo, optando-se pelo que ficou mais evidenciado pelo corante revelador de placa). Com relação ao dente ântero-inferior, o escolhido é o incisivo central = 1 (lado direito ou esquerdo, optando-se pelo que ficou mais evidenciado pelo corante do revelador de placa). Os dentes são avaliados de acordo com os critérios representados esquematicamente abaixo e recebem escores, (Quadro 3). A soma dos escores dividida pelo número total de dentes avaliados fornece a interpretação clínica, representada nos Quadros 4 e 5.

QUADRO 2 – ESQUEMA DOS DENTES E FACES A SEREM EXAMINADOS



FONTE: GREENE E VERMILLION (1964)

QUADRO 3 – ESCORES DAS FACES EXAMINADAS

ESCORES DAS FACES EXAMINADAS:		
	= 0	Nenhum resíduo de corante
	= 1	Até 1/3 da superfície corada
	= 2	Até 2/3 da superfície corada
	= 3	Mais de 2/3 da superfície corada

FONTE: GREENE E VERMILLION (1964)

QUADRO 4 – FÓRMULA IHO-S

$$\text{IHO-S} = \frac{\text{soma dos escores}}{\text{n}^\circ \text{ dentes examinados}} = \frac{?}{6}$$

FONTE: GREENE E VERMILLION (1964)

QUADRO 5 – RESULTADOS QUANTO À HIGIENE BUCAL

Resultados:
0,1 a 1 = BOM
1,1 a 2 = REGULAR
2,1 a 3 = PÉSSIMO

FONTE: GREENE E VERMILLION (1964)

Os resultados foram anotados em fichas clínicas (ANEXO 5, p. 100), e ao término da pesquisa foram tabulados. O método estatístico aplicado foi delineamento de blocos ao acaso.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 EXPERIMENTO *IN VITRO*

Os dados obtidos foram analisados considerando o diâmetro do halo de inibição em função dos microrganismos e dos extratos. O delineamento do experimento foi inteiramente casualizado em parcelas subdivididas, sendo cada placa de cultura de microrganismos uma parcela. Cada parcela do experimento foi formada pela combinação dos microrganismos e dos extratos. Após análise estatística, o Gráfico 1 e as Tabelas 4, 5, 6, 7 e 8, representam os resultados obtidos considerando-se a média para as 8 repetições em cada microrganismo e placa dentária.

O Gráfico 1 representa as médias (em mm) dos halos de inibição de crescimento, onde podemos avaliar o comportamento dos microrganismos em relação as diferentes soluções do extrato de agrião (*Nasturtium officinale* R. Br.), ou seja, ação antimicrobiana das diferentes soluções, frente a diferentes microrganismos, onde se destaca a inibição de formação da placa dentária, quando testada a solução 3 (diclorometano) resultado superior a inibição de formação quando testada a solução 7 (digluconato de clorexidina a 0,2%) que foi o controle positivo.

GRÁFICO 1 — COMPARAÇÃO DE HALOS DE INIBIÇÃO EM mm (MÉDIA) DE DIFERENTES FRAÇÕES (SOLUÇÕES) OBTIDAS A PARTIR DO EXTRATO DE AGRIÃO D'ÁGUA (*Nasturtium officinale* R. Br.) E DO DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA A 0,2% FRENTE A MICRORGANISMOS DA CAVIDADE BUCAL E PLACA DENTAL

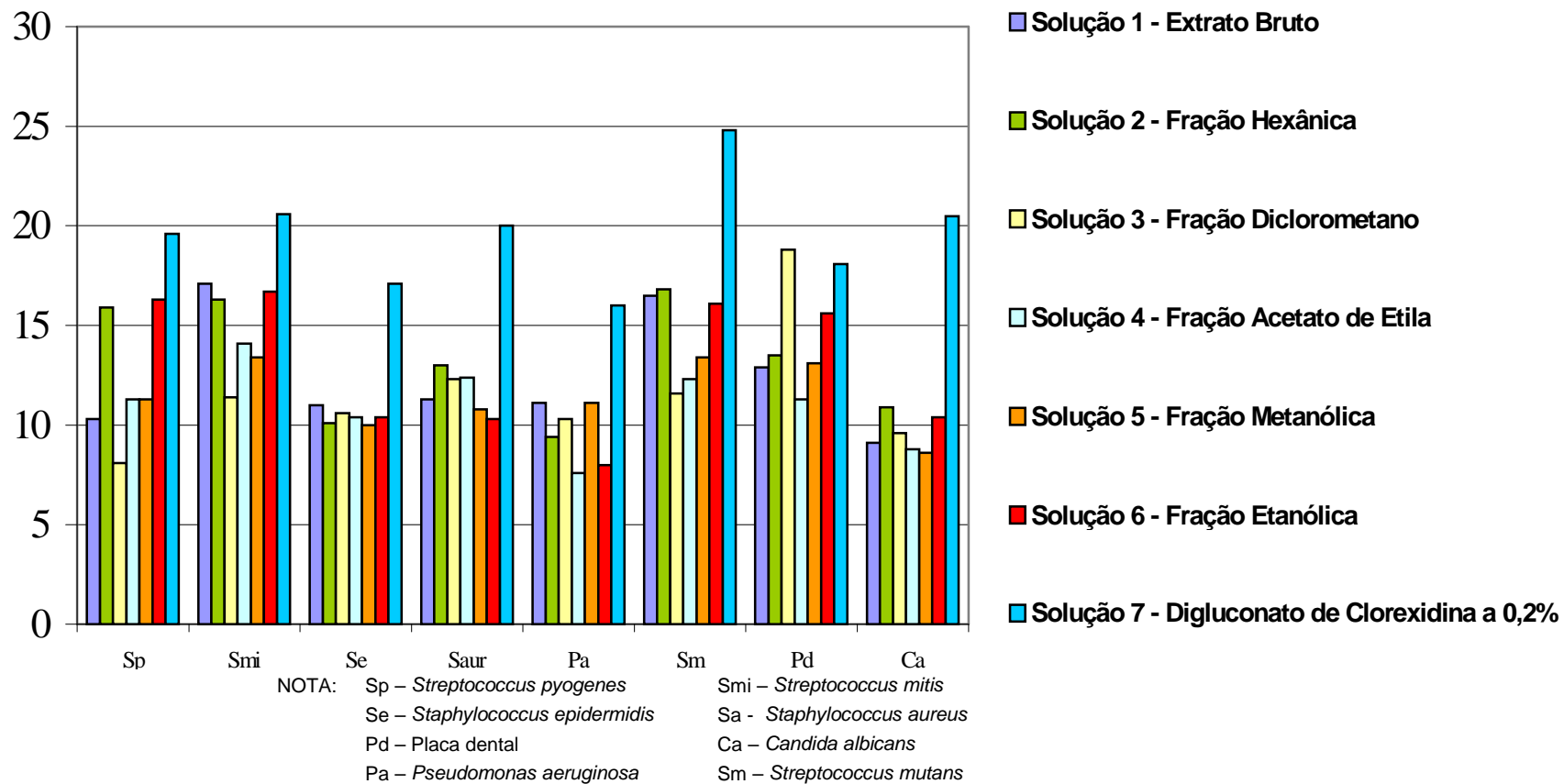


TABELA 4 -- COMPARAÇÃO DE HALOS DE INIBIÇÃO EM mm (MÉDIA) DE DIFERENTES FRAÇÕES (SOLUÇÕES) OBTIDAS A PARTIR DO EXTRATO DE AGRIÃO D'ÁGUA (*Nasturtium officinale* R. Br.) E DO DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA A 0,2% FRENTE A MICRORGANISMOS: *Streptococcus pyogenes* E *Streptococcus mitis*. TESTE TUKEY – NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA IGUAL A 0,05

Solução / Concentração	<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
1 - Extrato Bruto – 42 mg/mL	10,3	17,1
2 - Fração Hexânica - 1,5 mg/mL.	15,9 A	16,3 a
3 - Fração diclorometano - 1,35 mg/mL	8,1 A B	11,4 A B F
4 - Fração Acetato de etila - 0,9 mg/mL	11,3 a B C	14,1 A b c
5 - Fração Metanólica - 7,5 mg/mL	11,3 a B C d	13,4 A b c d F
6 - Fração Etanólica – 9 mg/mL	16,3 A b C D E	16,7 a b C d E
7 - Digluconato de Clorexidina 0,2% (controle positivo – padrão ouro)	19,6 A B C D E F	20,6 A B C D E F

NOTA : s – diferença significativa ns – diferença não significativa
 A – solução 1 – s C – solução 3 – s E – solução 5 – s
 a – solução 1 – ns c – solução 3 – ns e – solução 5 – ns
 B – solução 2 – s D – solução 4 – s F – solução 6 – s
 b – solução 2 – ns d – solução 4 – ns f – solução 6 – ns

Analisando-se os resultados da relação *Streptococcus pyogenes* em relação as diferentes soluções (Tabela 4), observou-se que a solução 1 apresentou diferenças significativas em relação às soluções 2, 3; 6 e 7; a solução 2 apresentou diferença significativa em relação às soluções 3, 4, 5 e 7; a solução 3 apresentou diferenças significativas em relação às soluções 4, 5, 6 e 7; a solução 4 apresentou diferença significativa em relação às soluções 6 e 7; a solução 5 apresentou diferença significativa em relação às soluções 6 e 7; a solução 6 apresentou diferença significativa em relação à solução 7. Nesta perspectiva, podemos considerar que a solução 6 (fração etanólica), seguida da solução 2 (fração hexânica), são as soluções que apresentaram melhores resultados no controle do

crescimento do *Streptococcus pyogenes*.

Com base nos resultados da relação *Streptococcus mitis* em relação as diferentes soluções (Tabela 4) temos que a solução 1 apresentou diferença significativa em relação às soluções 3, 4, 5 e 7; solução 2 apresentou diferença significativa em relação às soluções 3 e 7; a solução 3 apresentou diferenças significativas em relação às soluções 6 e 7; a solução 4 apresentou diferença significativa em relação à solução 7; a solução 5 apresentou diferenças significativas em relação às soluções 6 e 7; a solução 6 apresentou diferença significativa em relação às soluções 3, 5 e 7. Estes dados demonstram que a solução 1 (extrato bruto) e a solução 6 (fração etanólica) foram mais eficientes no controle do crescimento do *Streptococcus mitis*.

TABELA 5 -- COMPARAÇÃO DE HALOS DE INIBIÇÃO EM mm (MÉDIA) DE DIFERENTES FRAÇÕES (SOLUÇÕES) OBTIDAS A PARTIR DO EXTRATO DE AGRIÃO D'ÁGUA (*Nasturtium officinale* R. Br.) E DO DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA A 0,2% FRENTE A MICRORGANISMOS: *Staphylococcus epidermidis* E *Staphylococcus aureus*. TESTE TUKEY – NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA IGUAL A 0,05

Solução / Concentração	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1 - Extrato Bruto – 42 mg/mL	11,0	11,3
2 - Fração Hexânica - 1,5 mg/mL.	10,1 a	13,0 a
3 - Fração diclorometano - 1,35 mg/mL	10,6 a b	12,3 a b
4 - Fração Acetato de etila - 0,9 mg/mL	10,5 a b c	12,4 a b c
5 - Fração Metanólica - 7,5 mg/mL	10,0 a b c	10,8 a b c d
6 - Fração Etanólica – 9 mg/mL	10,4 a b c d e	10,3 a b c d e
7 - Digluconato de Clorexidina 0,2% (controle positivo – padrão ouro)	17,1 A B C D E F	20,0 A B C D E F

NOTA : s – diferença significativa ns – diferença não significativa
A – solução 1 – s C – solução 3 – s E – solução 5 – s
a – solução 1 – ns c – solução 3 – ns e – solução 5 – ns
B – solução 2 – s D – solução 4 – s F – solução 6 – s
b – solução 2 – ns d – solução 4 – ns f – solução 6 – ns

Avaliando-se os resultados da relação *Staphylococcus epidermidis* em relação as diferentes soluções (Tabela 5), verificou-se que as soluções 1, 2, 3, 4, 5 e 6 não apresentaram diferenças significativas entre si. Sendo que a solução 7 apresentou diferença significativa em relação soluções 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

Verificando-se os resultados da relação *Staphylococcus aureus* em relação as diferentes soluções (Tabela 5), observou-se que as soluções 1, 2, 3, 4, 5 e 6 não apresentaram diferenças significativas entre si. Sendo que a solução 7 apresentou diferença significativa em relação soluções 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

TABELA 6 -- COMPARAÇÃO DE HALOS DE INIBIÇÃO EM mm (MÉDIA) DE DIFERENTES FRAÇÕES (SOLUÇÕES) OBTIDAS A PARTIR DO EXTRATO DE AGRIÃO D'ÁGUA (*Nasturtium officinale* R. Br.) E DO DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA A 0,2% FRENTE A MICRORGANISMOS: *Pseudomonas aeruginosa* E *Streptococcus mutans*. TESTE TUKEY – NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA IGUAL A 0,05

Solução / Concentração	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
1 - Extrato Bruto – 42 mg/mL	11,1	16,5
2 - Fração Hexânica - 1,5 mg/mL.	9,4 A	16,8
3 - Fração diclorometano - 1,35 mg/mL	10,3 a b	11,6 A B
4 - Fração Acetato de etila - 0,9 mg/mL	7,6 A B C	12,3 A B c e
5 - Fração Metanólica - 7,5 mg/mL	11,1 a B c D	13,4 A B c d
6 - Fração Etanólica – 9 mg/mL	8,0 A b C d E	16,1 a b C D e
7 - Digluconato de Clorexidina 0,2% (controle positivo – padrão ouro)	16,0 A B C D E F	24,8 A B C D E F

NOTA : s – diferença significativa ns – diferença não significativa
A – solução 1 – s C – solução 3 – s E – solução 5 – s
a – solução 1 – ns c – solução 3 – ns e – solução 5 – ns
B – solução 2 – s D – solução 4 – s F – solução 6 – s
b – solução 2 – ns d – solução 4 – ns f – solução 6 – ns

Com base nos resultados da relação *Pseudomonas aeruginosa* em relação as diferentes soluções (Tabela 6), avaliou-se que a solução 1 apresentou diferença significativa em relação às soluções 2, 4, 6 e 7; a solução 2 apresentou diferenças significativas em relação às soluções 4, 5 e 7; a solução 3 apresentou diferença significativa em relação às soluções 4, 6 e 7; a solução 4 apresenta diferenças significativas frente às soluções 5 e 7; a solução 5 apresentou diferenças significativas em relação as soluções 6 e 7; a solução 6 apresentou diferença significativa em relação à solução 7. A solução 7 apresentou diferença significativa em relação às soluções 1 à 6.

Analisando-se os resultados da relação *Streptococcus mutans* em relação

as diferentes soluções (Tabela 6), verificou-se que a solução 1 apresentou diferença significativa em relação às soluções 3, 4, 5 e 7; a solução 2 apresentou diferença significativa em relação às soluções 3, 4, 5 e 7; a solução 3 apresentou diferenças significativas das soluções 6 e 7; a solução 4 apresentou diferença significativa em relação às soluções 6 e 7; e a solução 7 apresentou diferença significativa em relação às soluções 1, 2, 3, 4, 5 e 6. Estes dados demonstram que as soluções 2, 1 e 6 (fração hexânica, extrato bruto, fração etanólica respectivamente) foram mais eficientes no controle do crescimento dos *Streptococcus mutans*.

TABELA 7 -- COMPARAÇÃO DE HALOS DE INIBIÇÃO EM mm (MÉDIA) DE DIFERENTES FRAÇÕES (SOLUÇÕES) OBTIDAS A PARTIR DO EXTRATO DE AGRIÃO D'ÁGUA (*Nasturtium officinale* R. Br.) E DO DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA A 0,2% FRENTE A PLACA DENTAL E *Candida albicans*. TESTE TUKEY – NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA IGUAL A 0,05

Solução / Concentração	Placa dental	<i>Candida albicans</i>
1 - Extrato Bruto – 42 mg/mL	12,9 C	9,1
2 - Fração Hexânica - 1,5 mg/mL.	13,5 a C	10,9 a
3 - Fração diclorometano - 1,35 mg/mL	18,8 A B	9,6 a b
4 - Fração Acetato de etila - 0,9 mg/mL	11,3 a b C	8,8 a B c
5 - Fração Metanólica - 7,5 mg/mL	13,1 a b C d	8,6 a B c d
6 - Fração Etanólica – 9 mg/mL	15,6 a b C d e	10,4 a b c d e
7 - Digluconato de Clorexidina 0,2% (controle positivo – padrão ouro)	18,1 A B c D E f	20,5 A B C D E F

NOTA : s – diferença significativa ns – diferença não significativa
A – solução 1 – s C – solução 3 – s E – solução 5 – s
a – solução 1 – ns c – solução 3 – ns e – solução 5 – ns
B – solução 2 – s D – solução 4 – s F – solução 6 – s
b – solução 2 – ns d – solução 4 – ns f – solução 6 – ns

Os resultados da relação placa bacteriana (placa dental) em relação as diferentes soluções (Tabela 7) mostraram que a solução 1 apresentou diferenças significativas em relação às soluções 3 e 7; as soluções 2, 4, 5 e 6 não apresentaram diferenças significativas das demais; a solução 3 apresentou diferença significativa em relação às soluções 1, 2, 4, 5 e 6; a solução 7 apresentou diferença significativa em relação às soluções 1, 2, 4 e 5. Para o controle da formação da placa dentária, a solução 3 (fração diclorometano) apresentou os melhores resultados, sendo inclusive superior ao resultado do controle (solução 7).

E os resultados da relação *Candida albicans* em relação as diferentes soluções (Tabela 7) evidenciaram que as soluções 1, 3, 4, 5 e 6 não apresentaram diferenças significativas das demais; a solução 2 apresentou diferença significativa em relação às soluções 4, 5 e 7; e a solução 7 apresentou diferença significativa em relação às soluções 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

TABELA 8 — COMPARAÇÃO DE HALOS DE INIBIÇÃO EM mm (MÉDIA) DE DIFERENTES FRAÇÕES (SOLUÇÕES) OBTIDAS A PARTIR DO EXTRATO DE AGRIÃO D'ÁGUA (*Nasturtium officinale* R. Br.) E DO DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA A 0,2% FRENTE A MICRORGANISMOS DA CAVIDADE BUCAL E PLACA DENTAL

Solução / Concentração	<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Streptococcus mitis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus mutans</i>	Placa dental	<i>Candida albicans</i>
1 - Extrato Bruto – 42 mg/mL	10,3	17,1	11,0	11,3	11,1	16,5	12,9	9,1
2 - Fração Hexânica - 1,5 mg/mL.	15,9	16,3	10,1	13,0	9,4	16,8	13,5	10,9
3 - Fração diclorometano - 1,35 mg/mL	8,1	11,4	10,6	12,3	10,3	11,6	18,8	9,6
4 - Fração Acetato de etila - 0,9 mg/mL	11,3	14,1	10,5	12,4	7,6	12,3	11,3	8,8
5 - Fração Metanólica - 7,5 mg/mL	11,3	13,4	10,0	10,8	11,1	13,4	13,1	8,6
6 - Fração Etanólica – 9 mg/mL	16,3	16,7	10,4	10,3	8,0	16,1	15,6	10,4
7 - Digluconato de Clorexidina 0,2% (controle positivo – padrão ouro)	19,6	20,6	17,1	20,0	16,0	24,8	18,1	20,5
Controle dos microrganismos	+	+	+	+	+	+	+	+
Controle com etanol	0	0	0	0	0	0	0	0

Na análise da Tabela 8, com base no Teste de Tukey (anexos 14 ao 20, p. 109 a 115), avaliamos que a solução 1 apresentou resultados mais expressivo na inibição de crescimento dos *Streptococcus mutans* e *Streptococcus mitis*; que são precursores da cárie dentária, sendo responsáveis pelo início da lesão. A solução 2 (fração hexânica) foi mais eficiente no controle de crescimento dos *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* e *Streptococcus pyogenes*. A solução 3 apresentou resultados melhores no controle do crescimento das bactérias presentes na placa bacteriana. A solução 4 mostrou-se efetiva na inibição de crescimento dos *Streptococcus mitis*. A solução 5 apresentou resultados mais expressivos na inibição do crescimento dos *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans* e placa bacteriana. A solução 6 ou seja a fração etanólica, apresentou resultados mais expressivos para *Streptococcus mitis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mutans* e placa bacteriana (placa dentária). A solução 7 (controle positivo) foi mais expressiva para *Streptococcus mutans*, seguidos de *Streptococcus mitis*, *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus*.

As frações (soluções) obtidas do agrião (*Nasturtium officinale* R. Br.), mostraram-se eficazes no controle do crescimento de microrganismos, presentes na cavidade bucal e placa dental, com resultados de algumas frações muito próximos aos resultados obtidos pelo controle positivo (solução 7). DIXON et al. (1983) e SATO et al. (1996), atribuíram aos flavanóides (são compostos fenólicos sintetizados pelas plantas), uma potente atividade contra, *Streptococcus* envolvidos na formação de placas dentárias; e como também para os *Staphylococcus aureus*. COWAM, (1999); SIMÕES et al (1999) e CLARKE et al. (2001), atribuem propriedades antimicrobianas aos compostos flavonóides e glicosídeos, provenientes das vias metabólicas secundárias das plantas. O agrião d'água (*Nasturtium officinale* R. Br.) é rico em flavonóides e glicosídeos justificando assim os resultados obtidos. O efeito antiplaca da clorexidina é conhecido há mais de 20 anos e, hoje, pode ser utilizada profilaticamente e como agente terapêutico em pessoas com cáries ativas. O

espectro antimicrobiano da clorexidina inclui a maioria das bactérias e fungos e, geralmente, as bactérias Gram-positivas são mais sensíveis que as Gram-negativas, porém com variação na sensibilidade. Entre as bactérias orais Gram-positivas, por exemplo, os *Streptococcus mutans* são mais sensíveis do que o *Streptococcus mitis*. Por outro lado, algumas bactérias Gram-negativas incluindo espécies de *Pseudomonas* são resistentes a clorexidina em concentrações usadas *in vivo*, embora se possa presumir que as bactérias orais Gram-positivas em geral, sejam sensíveis (THYLSTRUP e FEJERKOV, 1995).

Nesta perspectiva é compreensível observarmos que a média dos halos de inibição não se comportaram de forma semelhante para todas as soluções (frações) e microrganismos. O estudo mostrou-nos que a fração diclorometano (solução 3) promoveu maior inibição no controle do crescimento de bactérias da placa dentária em torno de 18,8 mm, enquanto que a solução 7 (digluconato de clorexidina a 0,2%) foi de 18,1 mm, estatisticamente sem diferenças significativas. Os efeitos das soluções mudaram entre os microrganismos, ou seja, o efeito da solução interagiu com o microrganismo.

A cárie dentária e a doença periodontal apresentam como fator etiológico primário, a placa bacteriana, que consiste em uma estrutura complexa, aderida às superfícies dos dentes, com variações de composição entre indivíduos, de acordo com GIBBONS, (1973). Assim, para a prevenção destas doenças é fundamental o controle da placa dentária por meio da inserção de medidas preventivas que podem ser na forma de controle mecânico e/ou químico, procurando evitar sua formação, eliminando-a regularmente e/ou suprimindo seu fator de patogenicidade (GJERMO, 1980). Portanto o estudo da ação antimicrobiana dos extratos do agrião (*Nasturtium officinale* R. Br.), traz, mais uma possibilidade de ação na prevenção e controle destas doenças que são consideradas problemas em saúde pública. Diante destas questões, a busca deste agente (solução) capaz de atuar sinergicamente com a higiene bucal, facilitando-a, tem sido uma necessidade constante.

4.2 EXPERIMENTO *IN VIVO*

Este estudo iniciou-se com 18 voluntários, porém após a 1ª semana, um voluntário (paciente) necessitou ser excluído da pesquisa, pois precisou fazer uso de antibióticos para tratar uma faringite.

No início da pesquisa, antes de realizarmos uma profilaxia inicial (remoção da placa), os voluntários apresentaram um IHO-S = 1,20, que de acordo com a tabela de resultados de escores para o IHO-S foi considerado regular (Tabela 9).

TABELA 9 — RESULTADOS DE ESCORES PARA O ÍNDICE DE HIGIENE ORAL – SIMPLIFICADO (IHO-S), SEGUNDO GREENE E VERMILLION

ESCORE / IHO	RESULTADO
0,1 a 1	Bom
1,1 a 2	Regular
2,1 a 3	Péssimo

FONTE: GREENE E VERMILLION (1964)

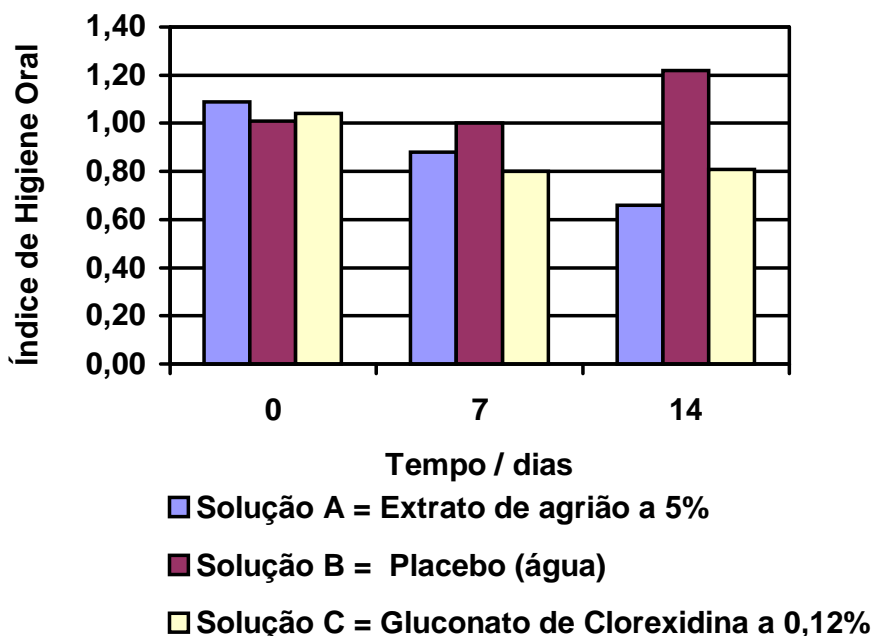
Os dezessete voluntários concluíram o estudo ao tempo de nove semanas. As avaliações, no tempo zero, sete e quatorze dias de estudo, dos efeitos das soluções A (extrato de agrião, *Nasturtium officinale* R. Br. a 5%), solução B (solução placebo) e solução C (solução de Gluconato de Clorexidina a 0,12%) no controle da placa dentária por meio da aplicação do índice higiene oral simplificado (IHO-S), foram descritos e calculados para os pacientes e distribuídos conforme a Tabela 10

e o Gráfico 2.

TABELA 10 — MÉDIAS DOS ÍNDICES DE HIGIENE ORAL SIMPLIFICADO (IHO-S), DE 17 VOLUNTÁRIOS, PARA CADA TRATAMENTO COM AS SOLUÇÕES PARA BOCHECHO: SOLUÇÃO A (EXTRATO DE AGRIÃO, *Nasturtium officinale* R. Br. A 5%), SOLUÇÃO B (SOLUÇÃO PLACEBO) E SOLUÇÃO C (SOLUÇÃO DE GLUCONATO DE CLOREXIDINA A 0,12%)

Dias	Tratamentos / IHO-S		
	Solução A (extrato de agrião)	Solução B (placebo)	Solução C (gluconato de clorexidina a 0,12%)
0	1,09	1,01	1,04
7	0,88	1,00	0,80
14	0,66	1,22	0,81
Média Final	0,87	1,07	0,88

GRÁFICO 2 — MÉDIAS DOS ÍNDICES DE HIGIENE ORAL SIMPLIFICADO (IHO-S), DE 17 VOLUNTÁRIOS, PARA CADA TRATAMENTO COM AS SOLUÇÕES PARA BOCHECHO: SOLUÇÃO A (EXTRATO DE AGRIÃO, *Nasturtium officinale* R. Br. A 5%), SOLUÇÃO B (SOLUÇÃO PLACEBO) E SOLUÇÃO C (SOLUÇÃO DE GLUCONATO DE CLOREXIDINA A 0,12%)

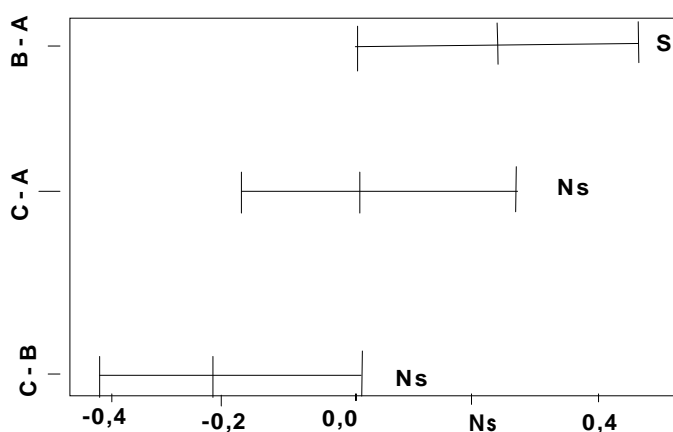


A Tabela 10 e o Gráfico 2 apresentam as médias dos escores dos Índices Higiene Oral (IHO-S) onde observamos que o tratamento com a solução A (solução teste) apresentou um IHO-S inicial de 1,09 e IHO-S final 0,87, ou seja passando da classificação de regular para bom. A solução C (gluconato de clorexidina a 0,12%) já é indicada para o controle da formação de placa dentária (biofilme) e os resultados evidenciam que a solução A (agrião, *Nasturtium officinale* R. Br. 5%) foi tão eficiente quanto a solução C e com redução estatisticamente melhor.

Para comparação entre as médias dos três tratamentos, foi utilizado o Teste de Tukey, para teste das diferenças entre os tratamentos ao nível de significância igual a 0,05. A utilização deste teste se justifica pela natureza da realização do experimento.

Na comparação entre os tratamentos na primeira avaliação (7 dias), observou-se que existem diferenças significativas para os tratamentos B e A, mas não entre os tratamentos B e C ou entre os tratamentos A e C (Figura 14).

FIGURA 14 -- RESULTADOS DAS DIFERENÇAS ENTRE MÉDIAS DAS SOLUÇÕES A, B E C PARA A PRIMEIRA AVALIAÇÃO (7 DIAS) – TESTE DE TUKEY: NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA IGUAL A 0,05

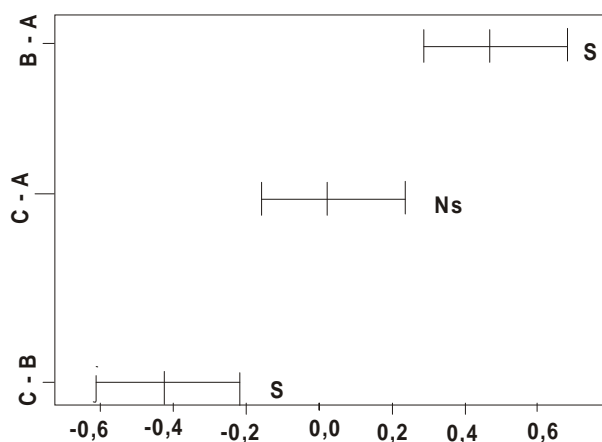


NOTA: S – diferença significativa

Ns – diferença não significativa

De acordo com a Figura 15, comparando-se os efeitos dos tratamentos na segunda avaliação (14 dias), detectou-se que existem diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos A e B e entre os tratamentos B e C, mas não entre os tratamentos A e C.

FIGURA 15 -- RESULTADOS DAS DIFERENÇAS ENTRE MÉDIAS DAS SOLUÇÕES A, B E C PARA A SEGUNDA AVALIAÇÃO (14 DIAS) – TESTE DE TUKEY: NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA IGUAL A 0,05



NOTA: S – diferença significativa

Ns – diferença não significativa

Os resultados do presente estudo clínico, sinalizando uma redução na formação da placa dentária (biofilme), leva-nos a considerar também que, neste contexto, o sucesso da implementação de medidas de promoção em saúde bucal, devem incluir também aquelas que fazem parte do autocuidado.

Para BUISCHI (2000), controle de placa é o conjunto de medidas que tem por objetivo a remoção da placa dental e a prevenção de sua ocorrência; podendo ser realizada através de meios mecânicos ou químicos. Os programas de controle de placa baseadas nas diferentes combinações desses métodos e meios, determinados de acordo com a necessidade individual de cada paciente, são até o momento, os mais bem sucedidos na prevenção e controle de gengivites, periodontite marginal e cárie dentária.

Os resultados deste estudo sugerem que os extratos do agrião (*Nasturtium*

officinale R. Br.) demonstraram expressiva atividade antimicrobiana, que justifica o seu emprego como importante e alternativo coadjuvante ao controle mecânico da placa bacteriana. Segundo LOGGIA (1993) e BLUMENTHAL, GOLDBERG, BRINCKMAANN (2000) a atividade antimicrobiana do agrião (*Nasturtium officinale* R. Br.) é atribuída aos glucosinolatos e também aos flavonóides (DIXON et al. 1983, SATO et al. 1996).

Segundo MORGAN (1997) e SILVA (2001), o agrião (*Nasturtium officinale* R. Br.), pode prevenir cárie dentária, quando suas folhas consumidas cruas em saladas. Reafirmando então, que, podemos associar as diferentes formas de uso do agrião (consumido cru ou em forma de solução para bochecho), à prevenção e controle da formação da placa dentária; com isso devemos estimular e orientar os agricultores a produção desta espécie em sua propriedade, e isso será possível se trabalharmos de forma multiprofissional e interdisciplinar com as diferentes áreas do conhecimento, entre eles: o técnico agrícola, o engenheiro agrônomo e o cirurgião-dentista.

4.2.1 Reflexões de Análise Qualitativa sobre o Instrumento de Avaliação

O instrumento de avaliação denominado de questionário durante o tratamento, fez-se necessário para uma avaliação do voluntário durante a utilização das soluções para bochecho. Foi solicitado que o mesmo fosse respondido da maneira mais real e correta com o seu cotidiano (Anexo 4, p.97).

Os 17 voluntários responderam que utilizaram as soluções para bochecho corretamente, todos os dias e no horário solicitado.

Quando foi perguntado sobre a sensação de ardência, queimação em tecidos moles (bochecha, lábios, gengivas) na cavidade bucal, todos responderam

que não perceberam (sentiram) nenhuma sensação desagradável, enquanto utilizavam as soluções para bochecho. Segundo os voluntários, também não foi percebido (sentido) nenhuma sensibilidade dentária (nos dentes).

Quanto ao sabor das soluções, para a solução A (extrato de agrião, *Nasturtium officinale* R. Br. a 5%) 11 voluntários disseram sentir sabor agradável, 6 marcaram sabor regular, para as soluções B (água aromatizada) e solução C (Gluconato de Clorexidina a 0,12%), os 17 voluntários afirmaram que as soluções apresentaram sabor agradável.

Nenhum voluntário relatou ter percebido alteração no paladar durante o uso das soluções

Por último quando foi perguntado sobre opinião sobre o produto, percepção de alguma diferença e colocações que se fazem necessárias, quatro voluntários (pacientes) afirmaram ter observado a rápida cicatrização de aftas traumáticas na cavidade bucal, com processo cicatricial completo de 2 a 3 dias. É uma afirmação muito relevante, cicatrização tecidual acelerada, pois os medicamentos disponíveis no mercado, levam de 4 a 6 dias para completa cicatrização, merecendo mais estudos aprofundados nesta área. BONI e PATRI (1994), atribuíram a ação de estimulação e regeneração tecidual na gengiva, aos isotiocianatos presentes no agrião.

Considerando-se os efeitos colaterais da clorexidina, particularmente manchamento de dentes – restaurações e alterações do paladar, (JENKINS et al 1993), estes não foram constatados neste estudo. Porém esses efeitos devem ser considerados quando houver necessidade de prescrição do mesmo.

5 CONCLUSÃO

A ação antimicrobiana, das diferentes frações obtidas do extrato de agrião (*Nasturtium officinale* R. Br.) frente aos microrganismos da cavidade bucal e placa dental foram:

- A solução 1 (extrato bruto) - mostrou-se eficaz no controle do crescimento dos *S. mitis* e *S. mutans*.
- A solução 2 (fração hexânica) - apresentou eficácia no controle do crescimento dos *S. mitis*, *S. mutans* e *S. pyogenes*.
- A solução 3 (fração diclorometano) - foi mais eficaz na inibição da formação da placa dentária, superando a solução 7 (solução padrão).
- A solução 4 (fração acetato de etila) - inibiu o crescimento dos *S. mitis*.
- A solução 5 (fração metanólica) - inibiu o crescimento dos *S. mitis* e *S. mutans* e da formação da placa dentária.
- A solução 6 (fração etanólica) - mostrou-se eficaz para *S. mitis*, *S. pyogenes*, *S. mutans* e placa dentária.

Efeito do extrato de agrião (*Nasturtium officinale* R. Br.) na forma de solução para bochecho:

- A solução de agrião (*Nasturtium officinale* R. Br.) a 5% foi tão eficiente quanto a de gluconato de clorexidina a 0,12%.
- Não foram observados / detectados efeitos colaterais durante o período de realização da pesquisa.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente as plantas medicinais, deixam de ser uma questão puramente científica para assumir também uma dimensão política e econômica, deixando evidente a necessidade de um maior envolvimento dos profissionais de saúde e áreas afins; tais como: médicos, enfermeiros, cirurgiões-dentistas, farmacêuticos-bioquímicos, biólogos, engenheiros agrônomos, etc.. A utilização de medicamentos obtidos de extratos vegetais é uma prática que não pode ser ignorada e que deve ser utilizada em benefício da população, e incorporado, a programas de promoção, prevenção e assistência primária à saúde.

Hoje é um desafio formar profissionais preocupados com as questões ambientais, sobretudo as resultantes das atividades humanas sobre o meio ambiente e que interferem na saúde e na qualidade de vida. Nessa perspectiva, é fundamental estimular a utilização de recursos naturais disponíveis por meio de tecnologia e ações ecologicamente adaptadas, economicamente viáveis e socialmente justas.

Estudos epidemiológicos demonstram que a cárie dentária e a doença periodontal são as principais doenças da cavidade bucal que afetam a população brasileira (zona urbana e rural). Pesquisas já demonstraram ser a placa bacteriana um dos fatores etiológicos das duas doenças. Portanto todos os procedimentos, que façam parte de um programa educativo e preventivo para o controle da placa, devem ser incentivados.

Neste contexto sugere-se como uma medida para o controle de placa dentária o extrato de agrião d'água, pois ao ser utilizado como culotório ou enxaguatório bucal, possui propriedades terapêuticas no controle do crescimento de

bactérias da placa dentária. Podendo ser um recurso disponível inclusive nas propriedades rurais. Portanto as plantas medicinais como recurso na terapêutica são economicamente viáveis, eficientes, ecologicamente benéficas e disponíveis na propriedade e que pode ser incorporado no cotidiano do homem do campo.

Nesta perspectiva o agrião (*Nasturtium officinale* R. Br.), enquanto planta medicinal preenche todos estes requisitos, merecendo então continuidade nestes estudos e divulgação de suas propriedades terapêuticas (medicinais) no controle da placa dentária, com importância científica e acadêmica.

Por fim, sabendo que o acesso aos serviços básicos de saúde são precários à comunidade rural, cabe juntar esforços de profissionais, como o engenheiro agrônomo, o técnico agrícola, cirurgião-dentista, para que possam atuar na prevenção de doenças, na promoção e na manutenção da saúde desta população.

Em decorrência deste estudo, pretende-se realizar um vídeo e/ou um manual educativo, voltado à comunidade rural, com informações sobre a necessidade de cuidados com a saúde bucal e como promovê-la, por meio da utilização e/ou consumo diário do agrião (*Nasturtium officinale* R. Br.).

No anexo 21 p. 116, encontram-se instruções para o preparo de uma tintura de agrião, que possa ser usada pela população na forma de bochecho, e preparada no próprio domicílio ou propriedade. Existe também um vídeo educativo sobre Plantas Medicinais – forma de preparo das ervas medicinais, que poderá auxiliar quanto ao preparo de infusos, decoto, tintura, etc. Podendo ser locado na Empresa Paranaense de Assistência Técnica e Extensão Rural – EMATER – PR, situada Rua da Bandeira, 171 – Cabral – Curitiba – PR – CX Postal – 1662 – CEP: 80035-270.

7 REFERÊNCIAS

ADAMS, D.; ADDY, M. Miythrinses. **Adv Dent Res**, v.8, n. 2, p. 291-301, 1994.

ALBANDAR, J. M. Lack of effect of oral hygiene training on periodontal disease progression over 3 years in adolescents. **J. Periodontal** v.66, p. 225-260, 1995.

ALBANDAR, J. M.; BUISCHI, Y. A. P.; MAYER, M. P. A.; AXELSSON, P. Long term effect of two preventive programs on the incidence of plaque and gingivitis in adolescents. **J. Periodontal** v.65, p. 605-610, 1994.

ALCANTARA, C. M. Recursos humanos e produtos em saúde bucal: perspectivas e influências do Mercosul. **Rev. Ass. Bras. Odontol.** v. 7, n. 3, p. 156 -158, 1999.

ALSINA, L. Horticultura especial (I). Ed. Sintes. 2ªed. **Les Fonts de Tarrasa**, Barcelona, 1972.

BAELUM, V.; FERJERSKOV, O.; KARRING. T. Oral hygiene, gingivitis and periodontal breakdown in adult Tanzanians. **J. Periodontal Res.** v. 21, p. 221-232, 1986.

BENNETT, R.N.; KIDDLE, G.; HICK, A. J.; DAWSON, G. W.; WALLSGROVE, R. Distribution and activity of microsomal NADPH-dependent monooxygenases and amino acid decarboxylases in cruciferous and non-cruciferous plants, and their relationship to foliar glucosinolate content. **Plant, Cell Environ.**, V. 19, n. 7, p. 801-812, 1996.

BLUMENTHAL, M.; GOLDBERG, A.; BRINCKMAANN, J; **Herbal medicine**, 1. ed., Integrative Medicine Communications, p. 404-407, 2000.

BODWEN, G. H. W.; ELLWOO, D. C.; HAMILTON, I. R. Microbial ecology of the oral cavity. **Adv. Microb. Ecol.** v. 3, p. 135-217, 1990.

BONI, U.; PATRI, G. Le Erbe: Guida Completa per scoprire riconoscere usare. **Libri e Grandi Opere S. p. A.**, Milano, 1994.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. – **Projeto Saúde Bucal Brasil 2003**. Condições de Saúde Bucal da população brasileira: 2002-2003, P. 67. Brasília, 2004.

BRATTHALL, D. A. *Streptococcus mutans* Safari. **J. Dent. Res.** v. 76, p. 1332-1336, 1997.

BREX, M.; BROWNSTONE, E.; MACDONALD, L.; GELSKEY, S. e CHEANG, M. Efficacy of Listerine, Meridol, and chlorhexidine as supplements to regular tooth-cleaning measures. **J. Clin. Periodontal.** v. 19, p. 202-207, 1992.

BUFFON, M. C. M. **A saúde bucal e a fitotecnia: Ações interdisciplinares do odontólogo e do engenheiro agrônomo**. Curitiba, 96f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, 2002.

BUISCHI, Y. P. **Promoção de Saúde Bucal na Clínica Odontológica**. São Paulo. Artes Médicas. 359 p. 2000.

BURNETT, G. W.; SCHERP, H. W.; SCHUSTER, G. S. **Microbiologia Oral e Doenças Infecciosas**. 4. ed. Guanabara, p. 205-215, 1985.

BURT, B. A.; LOESCHE, W.; EKLUND, S. A. Stability of selected plaque and their relationship to caries in a child population over 2 years. **Caries Res.** v. 19, p. 193-200, 1985.

CARVALHO, J. L. S. **Contribuição ao estudo fitoquímico e analítico no *Nasturtium officinale* R. Br., Brassicaceae**. Curitiba, 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2001.

CAUFIELD, P. W. Dental caries: a transmissible and infectious disease revisited: a position paper. **Pediatr. Dent.** v. 19, p. 491-498, 1997.

CLARKE, J. M.; GILLINGS, M. R.; ALTAVILLA, N.; BEALE, A. J. **J. Microbiol. Meth.** V. 46, n.3, p.261, 2001.

COWAN, M. M. **Clinic Microbiol. Rev.** v. 12, n.4; p. 564; 1999.

CRONQUIST, A. The evolution and classification of flowering plants. New York: The **New York Botanical Garden**, p. 555, 1988.

CUMMINS, D.; CREETH, J. E. Delivery of antiplaque agents from dentifrices, gels, and mouthwashes. **J. Dent. Res.** v. 71, p. 1.439-1.449, 1992.

CURY, J. A. Controle químico da placa dental. In : KRIGER, L. (Coord.). **ABOPREV: Promoção de saúde bucal**. São Paulo; Artes Médicas, Cap. 7, p. 129-140, 1997.

DAVIS, E. B. Cleaning and polishing of teeth by brushing. **Community Dent Oral Epidemiol** v. 8, p. 237-243, 1980.

DE MICHELI, G.; SARIAN, R. Placa bacteriana - Controle Químico. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, v. 44, n. 6, p. 330 – 333, novembro / dezembro, 1990.

DIAS, B. F. S. **A implementação da convenção sobre diversidade biológica no Brasil: desafios e oportunidades**. Campinas: André Tosello, p. 10, 1996.

DIAS, L. C. P.; SHARAPIN, N. **Comércio exterior de matérias-primas farmacêuticas de origem vegetal** – Panorama da situação brasileira, p. 20, 1996.

DIXON, R. A.; DEY, P. M.; LAMB, C. J. **Adv. Enzimol**, 55, p.1, 1983.

EMILSON, C.G. Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. **Scan J Dent Res.**, v.85, p. 255-265, 1997.

- ENGLER, A. **Syllabus der Pflanzfamilien**. 12 auf. Berlim Borntraeger, v. 2, 1964.
- FEJERSKOV, O.; MANJI, F. Risk assessment in dental cáries. In: BADER, J. D. **Risk assessment in dentistry**. Chape Hill: University of North Carolina Dental Ecology. p. 215-217, 1990.
- FILGUEIRA, F.; REIS, A. Manual de Olericultura: Cultura e Comercialização de Hortaliças. 2ªed. São Paulo. **Ed. Agronomica Ceres**. 338p. . Vol. II, 1982.
- FORWARD, G. C. Role of toothpastes in the cleaning of teeth. **Int Dent. J.** v. 41, p. 164-170, 1991.
- FURUICHI, Y.; LINDHE, J.; RAMBERG, P.; VOLPE, A. R. Patterns of the new plaque formation in the human dentition. **J. Clin. Periodontology**. v. 19, p. 423-433, 1992.
- GEBARA, E. C. E.; ZARDETTO, C. G. C., MAYER, M. P. A. Estudo *in vitro* da ação antimicrobiana de substâncias naturais sobre *S. mutans* e *S. sobrinus*. **Rev. Odontol. Univ.** São Paulo, v. 10, n. 4, p. 251-256, 1996.
- GETAHUN S. M.; CHUNG F. L. Conversion of glucosinolates to isothiocyanates in humans after ingestion of cooked watercress. **Cancer-Epidemiology-Biomarkers-and-Prevention**, v. 8, n. 5, p. 447-451, May, 1999.
- GIBBONS, R. J.; VANHOUTE, J. On the formation of dental plaque. **J. Periodontal**. V. 44, n. 6, p. 374-380, June, 1973.
- GIL, V.; MACLEOD, A. J. Degradation of Glucosinolates of *Nasturtium officinale* R. Br. seeds. **Phytochemistry** (Oxford) v. 19, n. 8, p. 1657-1660, 1980.
- GJERMO, P. Agentes mecanicos e químicos en el control de la placa. **Rev. Assoc. Odont. Argent**, v. 68, n. 5, p. 311-315, Set. 1980.
- GJERMO, P.; BAASTAD, K. L. ; RÖLLA, G. The plaque inhibiting capacity of 11 antivacterial compounds. **J. Periodont Res.**, v. 5, p. 102-109, 1970.
- GODA, Y.; HOCINO, K.; et al. Constituents in watercress: Inhibitors of histamine release from RBL-2H3 cells induced by antigen stimulation. Source: **Biological-and-Pharmaceutical-Bulletin.**; v. 22, n. 12, p. 1319-1326, Dec., 1999.
- GONÇALVES, R. B.; FLÓRIO, F. M. Ecologia microbiana da cavidade bucal. In: PEREIRA, A. C. et al. **Odontologia em Saúde Coletiva**. ARTEMED. Porto Alegre. 207 – 216, 2004.
- GREENE, J. C.; VERMILLION, J. R. The simplified oral hygiene index. **J Am Dent Ass**, v. 68, p. 7-13, 1964.
- GUYOT, M. A. M. Perspectivas da fitoterapia. **Acta. Farm. Bonaerense**, v. 9, n.º 2, p. 131 - 138, 1990.
- HART, D. J.; SCOTT, K. J. Development and evaluation of an CLAE method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. **Food Chem.**, v. 54, n.1, (Inst. Food Research, Norwich Lab. Colney, Norfolk NR4 7UA, UK) p. 101-111, 1995.

HORBOWICZ, M. Vegetables as a source of vitamin E. **Biuletyn-warzywniczy**., Suppl. II, 205-209, 1989.

HUBER, B.; RUEGER, K.; HEFIT, A. **The effect of the duration of toothbrushing on plaque reduction**. Schweiz Montarssschr Zahnmed. v. 95, p. 985-992, 1985.

JENKINS, S.; ADDY, M.; NEW COMBE, R. Evaluation of a mouthrinse containing Chlorhexidine and fluoride as an adjunct to oral hygiene. **J. Clin. Periodontal**, v. 20, p. :20-25, 1993.

JIAO, D.; YU, M. C.; HABNKIN, J. H.; LOW, S.; CHUNG, F. Total isothiocyanate contents in cooked vegetables frequently consumed in Singapore. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.46, n. 3, p. 1055-1058, 1998.

JOHNSTON, K. M.; STERN, D. J.; WAISS, S. C. JR. **Separatin of flavonoid compounds on Sephadex LH-20**. J. Chromatog. p. 539-541, 1968.

JORGE, A. C. **Microbiologia Bucal** – São Paulo: Ed. Santos, 2 ed., 115 p. 1998.

KALSBEECK, H. Triends in periodontal status and oral hygiene habitats in Dutch adults between 1983 and 1995. **Community Dent Oral Epidemiol**. v. 28, p. 112-118, 2000.

KIKUCHI, Y.; SHIMAMURA, Y.; HIROKATO, Y.; YASUDA, K.; NISHIJIMA, M. Quantitative analysis of daidzin (7 glucoside, 4 hydroxyisoflavone, MI 2749), daidzin (4, 7 – dihydroxyisoflavone) genistin (7 D – Glucoside, 4, 5 – dihydroxysoflavone) and genistein (4, 5, 7trihydroxysoflavone) in various foods by CLAE. **Shokuhin Eiseigaku Zasshi**. Dec.; v. 40, n. 6, p. 444-454, 1999.

LA LUZ, A. **Proporciones salud cultive plantas medicinales**. Havana. Editoria Científico Técnica Ciudad de La Havana, 227p, 1993.

LANG, N. P.; CUMMING, B. R.; LÖE. Toothbrushing frequency as it relates to plaque development and gengival heath. **J. Periodontal**. v.44, p. 396-405, 1973.

LEWKE, A.; HANKE, A.; SCHNITZLER, W. H. HPCL analysis for intact glucosinolates of vegetable *Brassicaceae* and their anzymic detection by myrosinase degration. **Gartenbauwissenschaft**, (Germany) v. 61, n. 4, p. 179, 183, 1996.

LINDHE, J. **Tratado de periodontia clinica e implantologia oral**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 720p, 1997.

LINDQUIST, B.; EMILSON, C. G. Dental location of *Streptococcus mutans* and *Strepatococcus sobrinus* in humans harboring both species. **Caries Res**. v. 25, p. 146-152, 1991.

LÖE, H. Mechanical and chemical control of dental plaque. **J. Clin. Periodontal**. v. 6, p. 32-36, 1979.

LOESCHE, W. J. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. **Microbiol. Rev**. v, 50, p. 353-380, 1986.

LOFFELHARDT, W.; KINDL, H. **The conversion of L-phenylalanine into benzoic acid on the thylokoid membrane of higher plants**. Hoppe-Seylers – Z – Physiol.-Chem. v. 356, n. 5, p. 487-493, May, 1975.

- LOGGIA, R.D. **Piante officinali per infuse e tisane**. Organizzazione Editoriale Medico Farmacêutica, 3 ed. p. 354, 1993.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Instituto Plantarum. São Paulo, p. 191; 2002.
- MANDEL, I. D. Antimicrobial mouthrinses: overview and update. **J. Am. Dent. Assoc.** v. 125, p. 2-10, 1994.
- MARCOTTE, H.; LAVOIE, M. C. Oral Microbial Ecology and the Role of Salivary Immunoglobulin A. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.** v. 62, p. 69-71, 1998.
- MARSH, P. D.; BRADSHAW, D. J.; **Microbial community aspects of dental plaque**. In: NEWMAN, H. N; WILSON, M. Dental plaque revisited. Oral biofilms in health and disease. Cardiff: BioLine, 237–253, 1999.
- MARSH, P. D.; MARTIN, M. In: **Oral microbiology**. 3. ed. London: Chapman & Hall, Ltd., 395 p., 1992.
- MEDEIROS, U. V. Aspectos gerais no controle da placa bacteriana. Controle de placa bacteriana em saúde pública. **Revista da Associação Paulista de Cirurgias Dentistas**, v. 45, n.º 3, p. 479 – 483, 1991.
- MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. **Desenvolvimento de Fitoterápicos**. São Paulo: Editorial Robe, p. 115, 1999.
- MORGAN, R. **Enciclopédia das Ervas e Plantas Medicinais**. 8ªed. Ed. Hermus, São Paulo, 555p. 1997.
- O. M. S. – Organizacion Mundial de La Salud. **Pautas para la evolución de Medicamentos Herbarios**. Ginebra, 1991.
- OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. **Fundamentos de farmacobotânica**. Rio de Janeiro: Atheneu, p. 26-27, 1991.
- OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. **Farmagnosia**, Atheneu, p. 3, 239, 373, 374 e 375, 1996.
- OSAWA, K. Studies of antibacterial activity of plant extracts and their constituents against periodontopathic bacteria. **Bull Tokyo Dent Coll**, v. 31, n. 1, p. 17 – 21, 1990 a.
- OSAWA, K. Inhibitory effects of aqueous extract of cacao bean husk on collagenase of *Bacteroides gingivalis*. **Bull Tokyo Dent Coll**. v. 31, n. 2, p. 125-128, 1990 b.
- PAGE, R. C.; KORNMAN, K. S. **The pathogenesis of human periodontitis: an introduction**. *Periodontal 2000*. v. 14, p. 09-11, 1997.
- PANIZZA, S. **Plantas que Curam (cheiro de mato)** – 3ªedição. IBRASA, São Paulo, 280p., 1998.
- PANORAMA BRASIL, 2003. <http://inventabrasilnet.t5.com.br/melagriao.htm> - acessado em 11 abr 2005.

PARANÁ, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Paraná – **Departamento de Economia Rural**, 2004.

PINTO, V. G. - **Saúde Bucal Coletiva**. São Paulo: Ed. Santos, 4 ed., 542p, 2000.

PINTO, V. G. Epidemiologia das Doenças Bucais no Brasil. In KRIGER, L. (card). **Promoção de Saúde Bucal**. 3ªEd. São Paulo. Editora Artes Médicas p. 25 – 41, 2003.

QUINDERÉ, L. B. Efeitos da clorexidina na mucosa oral de ratos wistar. In: **REUNIÃO CIENTÍFICA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS**. 16, 1999, Águas de São Pedro. Anais.... São Paulo : SBPqO, P. 37. (Resumo A127), 1999.

REIS, M. S. Manejo sustentado de plantas medicinais em ecossistemas tropicais. In: DI STASI, L. C. (Org.) **Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESP, p. 215-217, 1996.

RIBEIRO, R. A.; GOMES, C.; TROLIN, G.; DE MELO, M. M. F. Antihypertensive and diuretic effects of some foods of vegetable origin. **Acta Amazonica Suplemento**. v. 18, p. 1-2, 203-209, 1988.

RONIS, D. L. Tooth brushing, flossing, and preventive dental visits by Detroit-area residents in relation to demographic and socioeconomic factors. **J. Public Health Dent**. v. 53, p. 138-145, 1993.

SANTOS, E. M. Análise “*in vitro*” da citotoxicidade da clorexidina em cultura celular. In: **REUNIÃO CIENTÍFICA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS**. 16, Águas de São Pedro. Anais.... São Paulo : SBPqO, 1999. P. 26. (Resumo A082), 1999.

SATO, M.; FUJIWARA, S.; TSUCHIYA, H.; FUGII, T.; LIMUNA, M.; TOSA, H.; OHKAWA, Y. J. **Ethnopharmacol**, 54, p. 171, 1996.

SILVA, R. C. **Plantas medicinais em Saúde Bucal**. Vitória. 136p., 2001.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. In: **Farmacognosia; da Planta ao Medicamento**. Florianópolis: UFSC/UFRGS, 236 p., 1999.

SOCRANSKY, S. S.; MANGANIELLO, S. D. The oral microbiota of man from to senility. **J. Periodontol**. v. 42, p. 485-494, 1971.

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. **Dental biofilms: difficult therapeutic targets**. *Periodontal* 2000, v. 28, p. 12-55, 2002.

SOCRANSKY, S. S.; Microbial complexes in subgingival plaque. **J. Clin. Periodontal**. v. 25, p. 134-144, 1998.

SVANEM, P. J; BONES, A. M.; ROSSITER, J. T. Metabolism of [alpha-14C] desulphophenethylglucosinolate in *Nasturtium officinale* R. Br..**Phytochemistry**. v. 44, n. 7, p. 1251-1255, 1997.

TANZER, J. M. Dental cáries is a transmissible infectious disease: the Keyes and Fitzgerald revolution. **J. Dent. Res**. v. 74, p. 1.536-1.542, 1995.

THELAIDE, E. Factors controlling the microflora of the healthy mouth In Hill, M. J.; Marsh, P. D., **Human microbial ecology**. CRC Press. Inc. Boca Taton, Fla. P. 2-56, 1990.

THYLSTRUP, A., FEJERSKOV, O. **Cariologia Clínica**. 2. ed., São Paulo: Ed. Santos, 421p, 1995.

VAN DER VELDEN, U.; ABBAS, F.; VAN STEENBERGEN, T. J.; DE ZOETE, O. J.; HESSE, M. The habitat of periodontopathic micro-organisms. **J. Clin. Periodontol.** v. 13, p. 243-248, 1986.

VAN DER WEIJDEN, G. A. The long-term effect of an oscillating/rotating electric toothbrush on gingivitis. An 8-month clinical study. **J. Clin. Periodontol.** v. 25, p. 413-416, 1998.

VAN PALENSTEIN HELDERMAN, W. H. Cariogenicity depends more on diet than the prevailing *mutans streptococcal* species. **J. Dent. Res.** v. 75, p. 535-545, 1996.

WEYNE, S. C. Saúde Bucal do Brasil – Muita doença e pouco acesso ao tratamento. **Revista Medicina Social**. N.189. Abr/Maio/Jun. Sao Paulo. Ed. ABRAMGE, p. 15, 2005.

WU, C. D.; SAVITT, E. D. Evaluation of safety and efficacy of over the counter oral hygiene products for the reduction and control of plaque and gingivitis. **Periodontology 2000**, v. 28, p. 91-98, 2002.

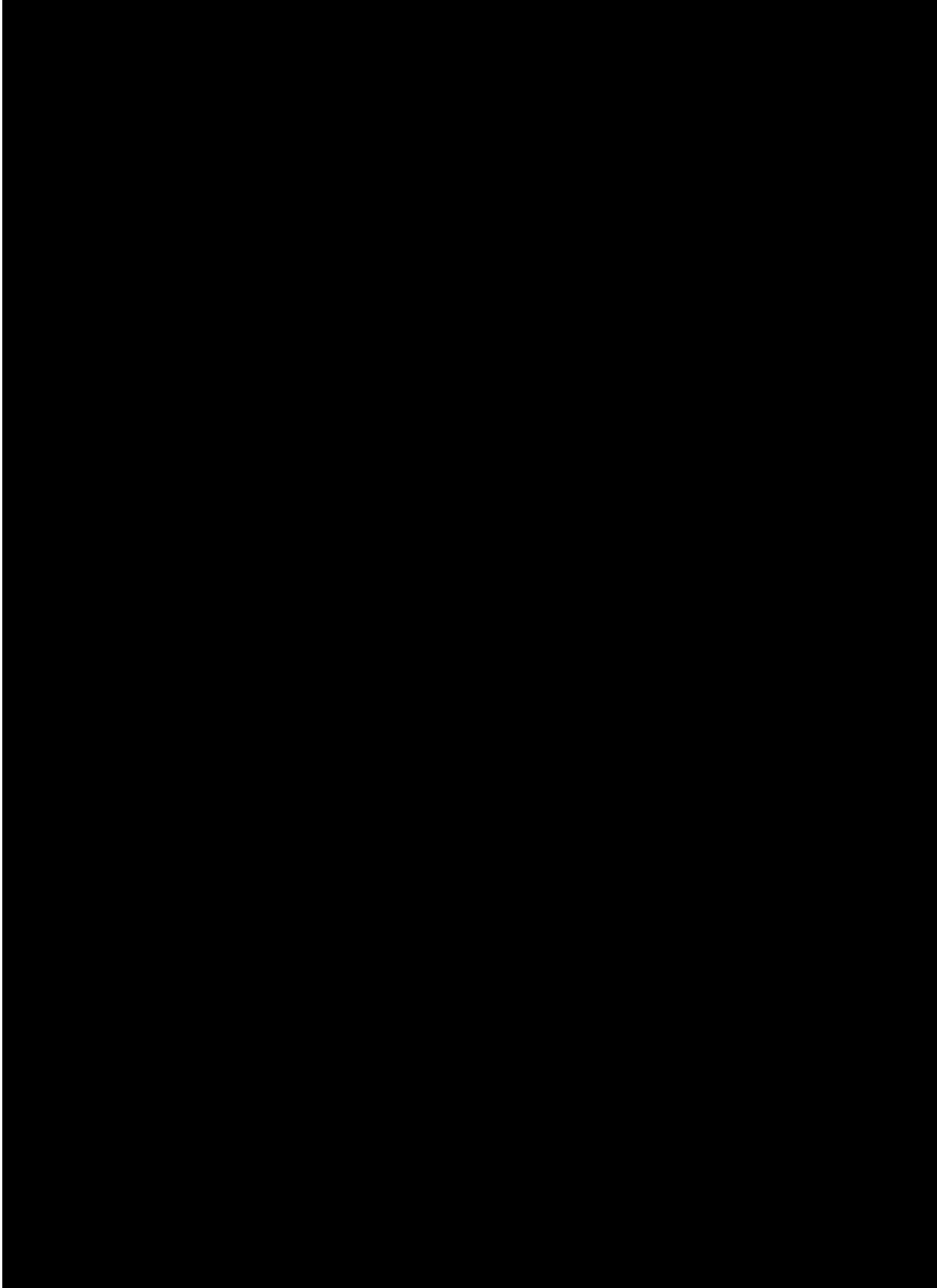
WWW.PR.GOV.BR/SEAB/DERAL/HRTPR.XSL. Acessado em 25 abr 2005.

ZICKERT, I.; EMILSON, C.G.; KRASSE, B. Correlation of level and duration of *Streptococcus mutans* infection with incidence of dental caries. **Infect. Immun.** v. 39, p. 982-985, 1983.

8 ANEXOS

<u>ANEXO 1 – DOCUMENTO DO COMITÊ DE ÉTICA</u>	93
<u>ANEXO 2 – ORIENTAÇÃO AO PACIENTE</u>	94
<u>ANEXO 3 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO</u>	95
<u>ANEXO 4 – QUESTIONÁRIOS PRÉ E DURANTE O TRATAMENTO</u>	97
<u>ANEXO 5 – FICHA DE AVALIAÇÃO DO ÍNDICE IHO-S</u>	100
<u>ANEXO 6 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – <i>S. pyogenes</i></u>	101
<u>ANEXO 7 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – <i>S. mitis</i></u>	102
<u>ANEXO 8 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – <i>S. epidermidis</i></u>	103
<u>ANEXO 9 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – <i>S. aureus</i></u>	104
<u>ANEXO 10 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – <i>P. aeruginosa</i></u>	105
<u>ANEXO 11 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – <i>S. mutans</i></u>	106
<u>ANEXO 12 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – PLACA DENTÁRIA</u>	107
<u>ANEXO 13 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – <i>Candida albicans</i></u>	108
<u>ANEXO 14 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – SOLUÇÃO 1</u>	109
<u>ANEXO 15 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – SOLUÇÃO 2</u>	110
<u>ANEXO 16 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – SOLUÇÃO 3</u>	111
<u>ANEXO 17 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – SOLUÇÃO 4</u>	112
<u>ANEXO 18 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – SOLUÇÃO 5</u>	113
<u>ANEXO 19 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – SOLUÇÃO 6</u>	114
<u>ANEXO 20 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – SOLUÇÃO 7</u>	115
<u>ANEXO 21 – INSTRUÇÕES PARA PREPARO DE UMA TINTURA DE AGRIÃO</u> 116	

ANEXO 1 – DOCUMENTO DO COMITÊ DE ÉTICA



ANEXO 2 – ORIENTAÇÃO AO PACIENTE



Ministério da Educação
 Universidade Federal do Paraná
 Setor de Ciências da Saúde
 Departamento de Saúde Comunitária

Orientações ao Paciente

- Utilizar somente a escova e pasta oferecida, durante a realização da pesquisa.
- Não interromper o uso da solução. Caso se faça necessário a sua interrupção, comunicar antes aos pesquisadores.
- Efetuar o bochecho após a última escovação, antes de dormir.
- **Não** fazer a utilização de: aplicação tópica de flúor (em gel); solução contendo flúor para bochecho, chás e outros enxaguatórios bucais diferentes dos utilizados nesta pesquisa.
- Caso ocorram qualquer reação diferente ou apareça alguma dúvida em relação ao que está sendo feito, por favor, avisar aos pesquisadores.
- Pode ser feita a utilização de fio dental normalmente, desde que este não apresente flúor ou qualquer substância antimicrobiana.
- Você deverá realizar a higienização bucal 3 (três) vezes ao dia (escovação do dente, da língua, etc).

Telefones caso apareça alguma dúvida a respeito do procedimento.

Professor Coordenador; Marilene: 9621-4070

Orientadores: Giovana: 9915-4478

Orientador

Paciente

Professor Coordenador

ANEXO 3 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

- a) Título da pesquisa: "Avaliação *in vivo* do efeito de bochecho contendo *Nasturtium officinale* R. Br. (agrião) no controle do biofilme dentário".
- b) O objetivo desta pesquisa é avaliar a eficácia de um bochecho contendo extrato de *Nasturtium officinale* R. Br (agrião) no controle de placa bacteriana (biofilme).
- c) Caso você aceite participar da pesquisa, será necessário fazer previamente exames de condições de saúde bucal
- d) Nesta pesquisa, você deverá fazer uso uma vez ao dia de colutórios codificados que poderão ser:
- Água destilada e deionizada;
 - Solução de clorexidina a 0,12%;
 - Solução de extrato de *Nasturtium officinale* R. Br (agrião).
- d) Desconfortos e riscos:
- A probabilidade de ocorrer algum tipo de desconforto ou risco é extremamente remota, mas poderá aparecer leve manchamento a nível de película adquirida ou leve ardência. No caso de manchamento, você será prontamente atendido em consultório odontológico e uma simples profilaxia dentária o removerá. E quanto à ardência, o uso do colutório poderá ser interrompido.
- e) Você deverá comparecer à Clínica Odontológica da Universidade Federal do Paraná para a realização de consultas odontológicas de acompanhamento e aplicação do índice de Higiene Oral Modificado. Estes procedimentos serão efetuados uma vez por semana durante nove semanas
- f) Os benefícios que vocês terão será um auxílio indireto, contribuindo para a realização desta pesquisa e através do conhecimento que vocês adquirirão sobre a eficácia do extrato de *Nasturtium officinale* R. Br. (agrião) relacionada ao potencial de redução do biofilme dentário. Este conhecimento poderá ser utilizado em prol da população para manutenção da saúde bucal.
- g) Os pesquisadores responsáveis por esta pesquisa são: Marilene da Cruz Magalhães Buffon, Professora Assistente do Departamento de Saúde Comunitária da Universidade Federal do Paraná, telefones: (041) 360-7237 ou (041) 9621-4070; Marilis Dallarmi Miguel, Professora Adjunta do Departamento de Farmácia, (041) 360-4070; Obdulio G. Miguel, Professor Adjunto do Departamento de Farmácia (041) 360-4070; João Luiz Carvalho, Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, (041) 360-4070. A primeira pesquisadora (Marilene) poderá ser contatada a qualquer hora.
- h) Os pesquisadores são responsáveis pelo seu tratamento e farão o acompanhamento de cada voluntário conforme consta no padrão Ético e Vigente no Brasil.
- i) Estão garantidas todas as informações que você queira, antes durante e depois do estudo.
- j) A sua participação neste estudo é voluntária. Você tem a liberdade de recusar participar do estudo, ou se aceitar a participar, retirar seu consentimento a qualquer momento. Este fato não implicará na interrupção de seu atendimento, que está assegurado.
- l) As informações relacionadas ao estudo poderão ser inspecionadas pelos pesquisadores e pelas autoridades legais, no entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a confidencialidade seja mantida.
- m) Todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa (exames, medicamentos , etc...) não são da responsabilidade do paciente.

n) Pela sua participação no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro. Você terá a garantia de que qualquer problema decorrente do estudo será tratado na Clínica Odontológica da UFPR.

o) Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.

p) Durante o estudo, você **não deverá**: fazer uso de enxaguatórios bucais diferentes dos usados nessa pesquisa, fazer uso de flúor na forma gel ou de solução para bochecho, tomar antibióticos ou medicamentos que diminuam o fluxo salivar.

Eu, _____ li o texto acima e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual fui convidado a participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios do estudo e os tratamentos alternativos. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação no estudo a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem que esta decisão afete meu tratamento. Eu entendi o que não posso fazer durante o tratamento e sei que qualquer problema relacionado ao tratamento será tratado sem custos para mim.

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

_____	Data	_____	Data
Assinatura do paciente	__/__/__	Nome do pesquisador	__/__/__

ANEXO 4 – QUESTIONÁRIOS PRÉ E DURANTE O TRATAMENTO



Ministério da Educação
 Universidade Federal do Paraná
 Setor de Ciências da Saúde
 Departamento de Saúde Comunitária

Nome:

Data de nascimento:

sexo:

estado civil:

Filiação: Pai:

Mãe:

Endereço:

Telefone:

Orientador:

Data :

Questionário - Pré-tratamento

Este questionário se faz necessário para uma avaliação correta do paciente durante a utilização dos bochechos. Por favor, responda as questões da maneira mais real e correta com o seu cotidiano.

- 1 - Quantas vezes escovam os dentes por dia?

- 2 - Utiliza fio dental? Em todas as escovações efetuadas durante o dia?

- 3 - Qual pasta dental utiliza? Ela possui alguma substância química diferente do flúor?
 (ex: triclosan, zinco, gantrez)

- 4 - Além da escovação diária faz uso de outro recurso para limpar dentes e língua?
 Como: raspador de língua, bochechos com antimicrobianos (ex: Listerine, Periogard, Colgate), uso de flúor (solução de fluoreto de sódio, aplicação tópica de flúor gel, etc).

- 5 - Apresenta hábitos nocivos? (como roer unha, fumar, consumo de álcool, etc). Se sim, há quanto tempo? Qual o tempo de duração de uma carteira de cigarros, etc.

- 6 - Apresenta algum tipo de doença sistêmica? (ex: diabetes, hemofilia problemas cardiovasculares, etc). Está fazendo algum tratamento médico ?

- 7 - Está tomando algum medicamento no momento? Qual?

8 - Sofre de alergia?

9 - Apresenta uma história odontológica com alto índice de cáries? E atualmente apresenta lesões cariosas ativas ou presença de dor? Suas gengivas sangram com facilidade?

10 - Está fazendo algum tratamento odontológico no momento ou fará em breve? (ex: clareamento, remoção cirúrgica de terceiros molares, restaurações, etc).

11 - Quando foi sua última visita ao dentista? Qual o motivo? Foi efetuada a limpeza dentária?

12 - Você é respirador bucal?

8 - Sente alguma dificuldade em efetuar a higienização oral corretamente? (por alguma má posição dentária, etc).

9 - Descrever a sua dieta em relação à frequência de consumo de bebidas que possam causar pigmentação (chá, café, suco de uva, coca-cola, refrigerantes no geral, etc) e de doces e alimentos com alto teor de açúcar.

10 - Outras colocações que se façam necessárias:

Orientador

Paciente

Professor Coordenador

Professor Coordenador

ANEXO 5 -- FICHA DE AVALIAÇÃO DO ÍNDICE IHO-S

NOME:

IDADE:

Data:	Fase:	Solução:	IHO-S=
	6V	2 ou 3V	6P
Sup	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dir	<hr/>		Esq
Inf	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	6L	1L	6V

Data:	Fase:	Solução:	IHO-S=
	6V	2 ou 3V	6P
Sup	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dir	<hr/>		Esq
Inf	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	6L	1L	6V

Data:	Fase:	Solução:	IHO-S=
	6V	2 ou 3V	6P
Sup	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dir	<hr/>		Esq
Inf	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	6L	1L	6V

Data:	Fase:	Solução:	IHO-S=
	6V	2 ou 3V	6P
Sup	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dir	<hr/>		Esq
Inf	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	6L	1L	6V

Data:	Fase:	Solução:	IHO-S=
	6V	2 ou 3V	6P
Sup	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dir	<hr/>		Esq
Inf	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	6L	1L	6V

Data:	Fase:	Solução:	IHO-S=
	6V	2 ou 3V	6P
Sup	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dir	<hr/>		Esq
Inf	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	6L	1L	6V

Data:	Fase:	Solução:	IHO-S=
	6V	2 ou 3V	6P
Sup	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dir	<hr/>		Esq
Inf	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	6L	1L	6V

Data:	Fase:	Solução:	IHO-S=
	6V	2 ou 3V	6P
Sup	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dir	<hr/>		Esq
Inf	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	6L	1L	6V

ANEXO 6 -- ANÁLISE DE VARIÂNCIA -- *S. PYOGENES*

Análise de variância - N grupos pareados.

Arquivo: C:\PACOTICO\AGRIÃO.DBF

Restrição: Inclue MICRORG igual a *S. pyogenes*

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Graus de liberdade	Quadrado médio	"F"	Probab.
Grupos	798.357142	6	133.059523	140.9711	0.00000
Replicas	7.98214286	7	1.14030612		
Interação	39.6428571	42	0.94387755		
Total	845.982142	55			

Teste de Tukey - Nível de significância = 0.05

Comparação	Diferença	Valor crítico	Interpretação
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO2	-5.6250000	1.50401080	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO3	2.12500000	1.50401080	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO4	-1.00000000	1.50401080	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO5	-1.00000000	1.50401080	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO6	-6.00000000	1.50401080	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO7	-9.37500000	1.50401080	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO2 X SOLUÇÃO3	7.75000000	1.50401080	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO2 X SOLUÇÃO4	4.62500000	1.50401080	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO2 X SOLUÇÃO5	4.62500000	1.50401080	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO2 X SOLUÇÃO6	-0.37500000	1.50401080	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO2 X SOLUÇÃO7	-3.75000000	1.50401080	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO3 X SOLUÇÃO4	-3.12500000	1.50401080	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO3 X SOLUÇÃO5	-3.12500000	1.50401080	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO3 X SOLUÇÃO6	-8.12500000	1.50401080	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO3 X SOLUÇÃO7	-11.50000000	1.50401080	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO4 X SOLUÇÃO5	0.00000000	1.50401080	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO4 X SOLUÇÃO6	-5.00000000	1.50401080	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO4 X SOLUÇÃO7	-8.37500000	1.50401080	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO5 X SOLUÇÃO6	-5.00000000	1.50401080	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO5 X SOLUÇÃO7	-8.37500000	1.50401080	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO6 X SOLUÇÃO7	-3.37500000	1.50401080	SIGNIFICANTE

GRUPO	Média	D.Padrão	Número
SOLUÇÃO01	10.25000	1.16496474	8
SOLUÇÃO02	15.87500	1.12599162	8
SOLUÇÃO03	8.125000	0.83452296	8
SOLUÇÃO04	11.25000	0.70710678	8
SOLUÇÃO05	11.25000	0.88640526	8
SOLUÇÃO06	16.25000	0.88640526	8
SOLUÇÃO07	19.62500	1.18773493	8

ANEXO 7 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – S. MITIS

Análise de variância - N grupos pareados.

Arquivo: C:\PACOTICO\AGRIÃO.DBF

Restrição: Inclue MICRORG igual a S. mitis

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Graus de liberdade	Quadrado médio	"F"	Probab.
Grupos	432.107142	6	72.0178571	19.22656	0.00000
Replicas	41.4285714	7	5.91836735		
Interação	157.321428	42	3.74574829		
Total	630.857412	55			

Teste de Tukey - Nível de significância = 0.05

Comparação	Diferença	Valor crítico	Interpretação
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO2	0.87200000	2.99614221	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO3	5.75000000	2.99614221	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO4	3.00000000	2.99614221	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO5	3.75000000	2.99614221	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO6	0.50000000	2.99614221	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO7	-3.50000000	2.99614221	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO2 X SOLUÇÃO3	4.87500000	2.99614221	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO2 X SOLUÇÃO4	2.12500000	2.99614221	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO2 X SOLUÇÃO5	2.87500000	2.99614221	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO2 X SOLUÇÃO6	-0.37500000	2.99614221	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO2 X SOLUÇÃO7	-4.37500000	2.99614221	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO3 X SOLUÇÃO4	-2.75000000	2.99614221	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO3 X SOLUÇÃO5	-2.00000000	2.99614221	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO3 X SOLUÇÃO6	-5.25000000	2.99614221	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO3 X SOLUÇÃO7	-9.25000000	2.99614221	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO4 X SOLUÇÃO5	0.75000000	2.99614221	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO4 X SOLUÇÃO6	-2.50000000	2.99614221	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO4 X SOLUÇÃO7	-6.50000000	2.99614221	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO5 X SOLUÇÃO6	-3.25000000	2.99614221	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO5 X SOLUÇÃO7	-7.25000000	2.99614221	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO6 X SOLUÇÃO7	-4.00000000	2.99614221	SIGNIFICANTE

GRUPO	Média	D.Padrão	Número
SOLUÇÃO1	17.12500	3.87067731	8
SOLUÇÃO2	16.25000	0.70710678	8
SOLUÇÃO3	11.37500	1.18773493	8
SOLUÇÃO4	14.12500	2.16712449	8
SOLUÇÃO5	13.37500	1.06066017	8
SOLUÇÃO6	16.62500	0.74402380	8
SOLUÇÃO7	20.62500	2.26384628	8

ANEXO 8 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – *S. EPIDERMIDIS*

Análise de variância - N grupos pareados.

Arquivo: C:\PACOTICO\AGRIÃO.DBF

Restrição: Inclue MICRORG igual a *S. epidermidis*

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Graus de liberdade	Quadrado médio	"F"	Probab.
Grupos	311.857142	6	51.9761904	44.29275	0.00000
Replicas	10.2142857	7	1.45918367		
Interação	49.2857142	42	1.17346938		
Total	371.357142	55			

Teste de Tukey - Nível de significância = 0.05

Comparação	Diferença	Valor crítico	Interpretação
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO02	0.87500000	1.67698435	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO03	0.37500000	1.67698435	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO04	0.50000000	1.67698435	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO05	1.00000000	1.67698435	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO06	0.62500000	1.67698435	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO07	-6.12500000	1.67698435	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO02 X SOLUÇÃO03	-0.50000000	1.67698435	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO02 X SOLUÇÃO04	-0.37500000	1.67698435	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO02 X SOLUÇÃO05	0.12500000	1.67698435	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO02 X SOLUÇÃO06	-0.25000000	1.67698435	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO02 X SOLUÇÃO07	-7.00000000	1.67698435	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO03 X SOLUÇÃO04	0.12500000	1.67698435	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO03 X SOLUÇÃO05	0.62500000	1.67698435	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO03 X SOLUÇÃO06	0.25000000	1.67698435	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO03 X SOLUÇÃO07	-6.50000000	1.67698435	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO04 X SOLUÇÃO05	0.50000000	1.67698435	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO04 X SOLUÇÃO06	0.12500000	1.67698435	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO04 X SOLUÇÃO07	-6.62500000	1.67698435	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO05 X SOLUÇÃO06	-0.37500000	1.67698435	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO05 X SOLUÇÃO07	-7.12500000	1.67698435	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO06 X SOLUÇÃO07	-6.75000000	1.67698435	SIGNIFICANTE

GRUPO	Média	D.Padrão	Número
SOLUÇÃO01	11.00000	1.06904496	8
SOLUÇÃO02	10.12500	0.83452296	8
SOLUÇÃO03	10.62500	1.18773493	8
SOLUÇÃO04	10.50000	1.06904496	8
SOLUÇÃO05	10.00000	0.92582009	8
SOLUÇÃO06	10.37500	0.74402380	8
SOLUÇÃO07	17.12500	1.64208056	8

ANEXO 9 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – S. AUREUS

Análise de variância - N grupos pareados.

Arquivo: C:\PACOTICO\AGRIÃO.DBF

Restrição: Inclue MICRORG igual a S. aureus

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Graus de liberdade	Quadrado médio	"F"	Probab.
Grupos	523.678571	6	87.2797619	24.20207	0.00000
Replicas	78.4107142	7	11.2015306		
Interação	151.464285	42	3.60629251		
Total	753.553571	55			

Teste de Tukey - Nível de significância = 0.05

Comparação	Diferença	Valor crítico	Interpretação
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO2	-1.7500000	2.93983938	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO3	-1.0000000	2.93983938	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO4	-1.1250000	2.93983938	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO5	0.5000000	2.93983938	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO6	1.0000000	2.93983938	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO7	-8.7500000	2.93983938	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO2 X SOLUÇÃO3	0.7500000	2.93983938	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO2 X SOLUÇÃO4	0.6250000	2.93983938	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO2 X SOLUÇÃO5	2.2500000	2.93983938	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO2 X SOLUÇÃO6	2.7500000	2.93983938	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO2 X SOLUÇÃO7	-7.0000000	2.93983938	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO3 X SOLUÇÃO4	-0.1250000	2.93983938	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO3 X SOLUÇÃO5	1.5000000	2.93983938	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO3 X SOLUÇÃO6	2.0000000	2.93983938	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO3 X SOLUÇÃO7	-7.7500000	2.93983938	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO4 X SOLUÇÃO5	1.6250000	2.93983938	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO4 X SOLUÇÃO6	2.1250000	2.93983938	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO4 X SOLUÇÃO7	-7.6250000	2.93983938	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO5 X SOLUÇÃO6	0.5000000	2.93983938	NÃO SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO5 X SOLUÇÃO7	-9.2500000	2.93983938	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO6 X SOLUÇÃO7	-9.7500000	2.93983938	SIGNIFICANTE

GRUPO	Média	D.Padrão	Número
SOLUÇÃO01	11.25000	1.66904592	8
SOLUÇÃO02	13.00000	3.20713490	8
SOLUÇÃO03	12.25000	2.91547594	8
SOLUÇÃO04	12.37500	1.76776695	8
SOLUÇÃO05	10.75000	0.70710678	8
SOLUÇÃO06	10.25000	0.70710678	8
SOLUÇÃO07	20.00000	2.67261241	8

ANEXO 10 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – *P. AERUGINOSA*

Análise de variância - N grupos pareados.

Arquivo: C:\PACOTICO\AGRILÃO.DBF

Restrição: Inclue MICRORG igual a *P. aeruginosa*

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Graus de liberdade	Quadrado médio	"F"	Probab.
Grupos	375.000000	6	62.5000000	57.96529	0.00000
Replicas	7.71428571	7	1.10204082		
Interação	45.2857142	42	1.07823129		
Total	428.000000	55			

Teste de Tukey - Nível de significância = 0.05

Comparação	Diferença	Valor crítico	Interpretação
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO02	1.75000000	1.60749301	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO03	0.87500000	1.60749301	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO04	3.50000000	1.60749301	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO05	0.00000000	1.60749301	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO06	3.12500000	1.60749301	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO07	-4.87500000	1.60749301	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO02 X SOLUÇÃO03	-0.87500000	1.60749301	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO02 X SOLUÇÃO04	1.75000000	1.60749301	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO02 X SOLUÇÃO05	-1.75000000	1.60749301	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO02 X SOLUÇÃO06	1.37500000	1.60749301	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO02 X SOLUÇÃO07	-6.62500000	1.60749301	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO03 X SOLUÇÃO04	2.62500000	1.60749301	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO03 X SOLUÇÃO05	-0.87500000	1.60749301	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO03 X SOLUÇÃO06	2.25000000	1.60749301	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO03 X SOLUÇÃO07	-5.75000000	1.60749301	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO04 X SOLUÇÃO05	-3.50000000	1.60749301	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO04 X SOLUÇÃO06	-0.37500000	1.60749301	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO04 X SOLUÇÃO07	-8.37500000	1.60749301	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO05 X SOLUÇÃO06	3.12500000	1.60749301	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO05 X SOLUÇÃO07	-4.87500000	1.60749301	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO06 X SOLUÇÃO07	-8.00000000	1.60749301	SIGNIFICANTE

GRUPO	Média	D.Padrão	Número
SOLUÇÃO01	11.12500	1.24642345	8
SOLUÇÃO02	9.375000	0.51754916	8
SOLUÇÃO03	10.25000	1.48804761	8
SOLUÇÃO04	7.625000	0.51754916	8
SOLUÇÃO05	11.12500	1.24642345	8
SOLUÇÃO06	8.000000	0.75592894	8
SOLUÇÃO07	16.00000	1.06904496	8

ANEXO 11 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – S. MUTANS

Análise de variância - N grupos pareados.

Arquivo: C:\PACOTICO\AGRIÃO.DBF

Restrição: Inclue MICRORG igual a S. mutans

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Graus de liberdade	Quadrado médio	"F"	Probab.
Grupos	939.428571	6	156.571428	38.94416	0.00000
Replicas	16.2678571	7	2.32397959		
Interação	168.857142	42	4.02040816		
Total	1124.55357	55			

Teste de Tukey - Nível de significância = 0.05

Comparação	Diferença	Valor crítico	Interpretação
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO02	-0.2500000	3.10404638	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO03	4.87500000	3.10404638	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO04	4.25000000	3.10404638	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO05	3.12500000	3.10404638	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO06	0.37500000	3.10404638	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO07	-8.2500000	3.10404638	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO02 X SOLUÇÃO03	5.12500000	3.10404638	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO02 X SOLUÇÃO04	4.50000000	3.10404638	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO02 X SOLUÇÃO05	3.37500000	3.10404638	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO02 X SOLUÇÃO06	0.62500000	3.10404638	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO02 X SOLUÇÃO07	-8.0000000	3.10404638	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO03 X SOLUÇÃO04	-0.6250000	3.10404638	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO03 X SOLUÇÃO05	-1.7500000	3.10404638	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO03 X SOLUÇÃO06	-4.5000000	3.10404638	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO03 X SOLUÇÃO07	-13.125000	3.10404638	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO04 X SOLUÇÃO05	-1.1250000	3.10404638	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO04 X SOLUÇÃO06	-3.8750000	3.10404638	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO04 X SOLUÇÃO07	-12.500000	3.10404638	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO05 X SOLUÇÃO06	-2.7500000	3.10404638	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO05 X SOLUÇÃO07	-11.375000	3.10404638	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO06 X SOLUÇÃO07	-8.6250000	3.10404638	SIGNIFICANTE

GRUPO	Média	D.Padrão	Número
SOLUÇÃO01	16.50000	1.69030850	8
SOLUÇÃO02	16.75000	2.60494036	8
SOLUÇÃO03	11.62500	1.06066017	8
SOLUÇÃO04	12.25000	1.16496474	8
SOLUÇÃO05	13.37500	0.74402380	8
SOLUÇÃO06	16.12500	0.99103120	8
SOLUÇÃO07	24.75000	3.57571171	8

ANEXO 12 -- ANÁLISE DE VARIÂNCIA -- PLACA DENTÁRIA

Análise de variância - N grupos pareados.

Arquivo: C:\PACOTICO\AGRIÃO.DBF

Restrição: Inclue MICRORG igual a placa dentária

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Graus de liberdade	Quadrado médio	"F"	Probab.
Grupos	385.000000	6	64.1666666	7.665583	0.00001
Replicas	31.9285714	7	4.56122449		
Interação	351.571428	42	8.37074829		
Total	768.500000	55			

Teste de Tukey - Nível de significância = 0.05

Comparação	Diferença	Valor crítico	Interpretação
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO02	-0.6250000	4.47894026	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO03	-5.8750000	4.47894026	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO04	1.62500000	4.47894026	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO05	-0.2500000	4.47894026	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO06	-2.7500000	4.47894026	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO01 X SOLUÇÃO07	-5.2500000	4.47894026	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO02 X SOLUÇÃO03	-5.2500000	4.47894026	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO02 X SOLUÇÃO04	2.25000000	4.47894026	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO02 X SOLUÇÃO05	0.37500000	4.47894026	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO02 X SOLUÇÃO06	-2.1250000	4.47894026	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO02 X SOLUÇÃO07	-4.6250000	4.47894026	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO03 X SOLUÇÃO04	7.50000000	4.47894026	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO03 X SOLUÇÃO05	5.62500000	4.47894026	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO03 X SOLUÇÃO06	3.12500000	4.47894026	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO03 X SOLUÇÃO07	0.62500000	4.47894026	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO04 X SOLUÇÃO05	-1.8750000	4.47894026	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO04 X SOLUÇÃO06	-4.3750000	4.47894026	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO04 X SOLUÇÃO07	-6.8750000	4.47894026	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO05 X SOLUÇÃO06	-2.5000000	4.47894026	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO05 X SOLUÇÃO07	-5.0000000	4.47894026	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO06 X SOLUÇÃO07	-2.5000000	4.47894026	NÃO SIGNIFIC.

GRUPO	Média	D.Padrão	Número
SOLUÇÃO01	12.87500	2.79987244	8
SOLUÇÃO02	13.50000	3.50509832	8
SOLUÇÃO03	18.75000	4.26781978	8
SOLUÇÃO04	11.25000	0.70710678	8
SOLUÇÃO05	13.12500	1.55264750	8
SOLUÇÃO06	15.62500	3.58319490	8
SOLUÇÃO07	18.12500	0.83452296	8

ANEXO 13 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – CANDIDA ALBICANS

Análise de variância - N grupos pareados.

Arquivo: C:\PACOTICO\AGRIÃO.DBF

Restrição: Inclue MICRORG igual a *Candida albicans*

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Graus de liberdade	Quadrado médio	"F"	Probab.
Grupos	853.250000	6	142.208333	106.8607	0.00000
Replicas	22.9821428	7	3.28316327		
Interação	55.8928571	42	1.33078231		
Total	932.125000	55			

Teste de Tukey - Nível de significância = 0.05

Comparação	Diferença	Valor crítico	Interpretação
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO2	-1.7500000	1.78585682	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO3	-0.5000000	1.78585682	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO4	0.3750000	1.78585682	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO5	0.5000000	1.78585682	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO6	-1.2500000	1.78585682	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO1 X SOLUÇÃO7	-11.375000	1.78585682	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO2 X SOLUÇÃO3	1.2500000	1.78585682	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO2 X SOLUÇÃO4	2.1250000	1.78585682	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO2 X SOLUÇÃO5	2.2500000	1.78585682	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO2 X SOLUÇÃO6	0.5000000	1.78585682	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO2 X SOLUÇÃO7	-9.6250000	1.78585682	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO3 X SOLUÇÃO4	0.8750000	1.78585682	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO3 X SOLUÇÃO5	1.0000000	1.78585682	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO3 X SOLUÇÃO6	-0.7500000	1.78585682	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO3 X SOLUÇÃO7	-10.875000	1.78585682	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO4 X SOLUÇÃO5	0.1250000	1.78585682	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO4 X SOLUÇÃO6	-1.6250000	1.78585682	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO4 X SOLUÇÃO7	-11.750000	1.78585682	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO5 X SOLUÇÃO6	-1.7500000	1.78585682	NÃO SIGNIFIC.
SOLUÇÃO5 X SOLUÇÃO7	-11.875000	1.78585682	SIGNIFICANTE
SOLUÇÃO6 X SOLUÇÃO7	-10.125000	1.78585682	SIGNIFICANTE

GRUPO	Média	D.Padrão	Número
SOLUÇÃO1	9.125000	1.35620268	8
SOLUÇÃO2	10.87500	1.45773797	8
SOLUÇÃO3	9.625000	0.91612538	8
SOLUÇÃO4	8.750000	0.46291004	8
SOLUÇÃO5	8.625000	0.74402380	8
SOLUÇÃO6	10.37500	0.51754916	8
SOLUÇÃO7	20.50000	2.32992949	8

ANEXO 14 -- ANÁLISE DE VARIÂNCIA -- SOLUÇÃO 1

Análise de variância - N grupos pareados.

Arquivo: C:\PACOTICO\AGRIÃO.DBF

Restrição: Inclue SOLUÇÃO igual a 1

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Graus de liberdade	Quadrado médio	"F"	Probab.
Grupos	476.937500	7	68.1339285	15.85544	0.00000
Replicas	29.9375000	7	4.27678571		
Interação	210.562500	49	4.29719387		
Total	210.562500	63			

Teste de Tukey - Nível de significância = 0.05

Comparação	Diferença	Valor crítico	Interpretação
PIOGENES X MITIS	-6.8750000	3.28153618	SIGNIFICANTE
PIOGENES X EPIDERMIDI	-0.7500000	3.28153618	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X AUREUS	-1.0000000	3.28153618	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X AEROGINOSA	-0.8750000	3.28153618	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X MUTANS	-6.2500000	3.28153618	SIGNIFICANTE
PIOGENES X PLACA	-2.6250000	3.28153618	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X CANDIDA	1.12500000	3.28153618	NÃO SIGNIFIC.
MITIS X EPIDERMIDI	6.12500000	3.28153618	SIGNIFICANTE
MITIS X AUREUS	5.87500000	3.28153618	SIGNIFICANTE
MITIS X AEROGINOSA	6.00000000	3.28153618	SIGNIFICANTE
MITIS X MUTANS	0.62500000	3.28153618	NÃO SIGNIFIC.
MITIS X PLACA	4.25000000	3.28153618	SIGNIFICANTE
MITIS X CANDIDA	8.00000000	3.28153618	SIGNIFICANTE
EPIDERMIDI X AUREUS	-0.2500000	3.28153618	NÃO SIGNIFIC.
EPIDERMIDI X AEROGINOSA	-0.1250000	3.28153618	NÃO SIGNIFIC.
EPIDERMIDI X MUTANS	-5.5000000	3.28153618	SIGNIFICANTE
EPIDERMIDI X PLACA	-1.8750000	3.28153618	NÃO SIGNIFIC.
EPIDERMIDI X CANDIDA	1.87500000	3.28153618	NÃO SIGNIFIC.
AUREUS X AEROGINOSA	0.12500000	3.28153618	NÃO SIGNIFIC.
AUREUS X MUTANS	-5.2500000	3.28153618	SIGNIFICANTE
AUREUS X PLACA	-1.6250000	3.28153618	NÃO SIGNIFIC.
AUREUS X CANDIDA	2.12500000	3.28153618	NÃO SIGNIFIC.
AEROGINOSA X MUTANS	-5.3750000	3.28153618	SIGNIFICANTE
AEROGINOSA X PLACA	-1.7500000	3.28153618	NÃO SIGNIFIC.
AEROGINOSA X CANDIDA	2.00000000	3.28153618	NÃO SIGNIFIC.
MUTANS X PLACA	3.62500000	3.28153618	SIGNIFICANTE
MUTANS X CANDIDA	7.37500000	3.28153618	SIGNIFICANTE
PLACA X CANDIDA	3.75000000	3.28153618	SIGNIFICANTE

GRUPO	Média	D.Padrão	Número
PIOGENES	10.25000	1.16496474	8
MITIS	17.12500	3.87067731	8
EPIDERMIDI	11.00000	1.06904496	8
AUREUS	11.25000	1.66904592	8
AEROGINOSA	11.12500	1.24642345	8
MUTANS	16.50000	1.69030850	8
PLACA	12.87500	2.79987244	8
CANDIDA	9.125000	1.35620268	8

ANEXO 15 -- ANÁLISE DE VARIÂNCIA -- SOLUÇÃO 2

Análise de variância - N grupos pareados.

Arquivo: C:\PACOTICO\AGRIÃO.DBF

Restrição: Inclue SOLUÇÃO igual a 2

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Graus de liberdade	Quadrado médio	"F"	Probab.
Grupos	469.437500	7	67.0625000	14.61690	0.00000
Replicas	14.6875000	7	2.09821429		
Interação	224.812500	49	4.58801020		
Total	708.937500	63			

Teste de Tukey - Nível de significância = 0.05

Comparação	Diferença	Valor crítico	Interpretação
PIOGENES X MITIS	-0.3750000	3.39075890	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X EPIDERMIDI	5.75000000	3.39075890	SIGNIFICANTE
PIOGENES X AUREUS	2.87500000	3.39075890	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X AEROGINOSA	6.50000000	3.39075890	SIGNIFICANTE
PIOGENES X MUTANS	-0.87500000	3.39075890	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X PLACA	2.37500000	3.39075890	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X CANDIDA	5.00000000	3.39075890	SIGNIFICANTE
MITIS X EPIDERMIDI	6.12500000	3.39075890	SIGNIFICANTE
MITIS X AUREUS	3.25000000	3.39075890	NÃO SIGNIFIC.
MITIS X AEROGINOSA	6.87500000	3.39075890	SIGNIFICANTE
MITIS X MUTANS	-0.50000000	3.39075890	NÃO SIGNIFIC.
MITIS X PLACA	2.75000000	3.39075890	NÃO SIGNIFIC.
MITIS X CANDIDA	5.37500000	3.39075890	SIGNIFICANTE
EPIDERMIDI X AUREUS	-2.87500000	3.39075890	NÃO SIGNIFIC.
EPIDERMIDI X AEROGINOSA	0.75000000	3.39075890	NÃO SIGNIFIC.
EPIDERMIDI X MUTANS	-6.62500000	3.39075890	SIGNIFICANTE
EPIDERMIDI X PLACA	-3.37500000	3.39075890	NÃO SIGNIFIC.
EPIDERMIDI X CANDIDA	-0.75000000	3.39075890	NÃO SIGNIFIC.
AUREUS X AEROGINOSA	3.62500000	3.39075890	SIGNIFICANTE
AUREUS X MUTANS	-3.75000000	3.39075890	SIGNIFICANTE
AUREUS X PLACA	-0.50000000	3.39075890	NÃO SIGNIFIC.
AUREUS X CANDIDA	2.12500000	3.39075890	NÃO SIGNIFIC.
AEROGINOSA X MUTANS	-7.37500000	3.39075890	SIGNIFICANTE
AEROGINOSA X PLACA	-4.12500000	3.39075890	SIGNIFICANTE
AEROGINOSA X CANDIDA	-1.50000000	3.39075890	NÃO SIGNIFIC.
MUTANS X PLACA	3.25000000	3.39075890	NÃO SIGNIFIC.
MUTANS X CANDIDA	5.87500000	3.39075890	SIGNIFICANTE
PLACA X CANDIDA	2.62500000	3.39075890	NÃO SIGNIFIC.

GRUPO	Média	D.Padrão	Número
PIOGENES	15.87500	1.12599162	8
MITIS	16.25000	0.70710678	8
EPIDERMIDI	10.12500	0.83452296	8
AUREUS	13.00000	3.20713490	8
AEROGINOSA	9.375000	0.51754916	8
MUTANS	16.75000	2.60494036	8
PLACA	13.50000	3.50509832	8
CANDIDA	10.87500	1.45773797	8

ANEXO 16 -- ANÁLISE DE VARIÂNCIA -- SOLUÇÃO 3

Análise de variância - N grupos pareados

Arquivo: C:\PACOTICO\AGRIÃO.DBF

Restrição: Inclue SOLUÇÃO igual a 3

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Graus de liberdade	Quadrado médio	"F"	Probab.
Grupos	562.734375	7	80.3906250	18.70076	0.00000
Replicas	30.2343750	7	4.31919643		
Interação	210.640625	49	4.29878826		
Total	803.609375	63			

Teste de Tukey - Nível de significância = 0.05

Comparação	Diferença	Valor crítico	Interpretação
PIOGENES X MITIS	-3.2500000	3.28214490	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X EPIDERMIDI	-2.5000000	3.28214490	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X AUREUS	-4.1250000	3.28214490	SIGNIFICANTE
PIOGENES X AEROGINOSA	-2.1250000	3.28214490	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X MUTANS	-3.5000000	3.28214490	SIGNIFICANTE
PIOGENES X PLACA	-10.6250000	3.28214490	SIGNIFICANTE
PIOGENES X CANDIDA	-1.5000000	3.28214490	NÃO SIGNIFIC.
MITIS X EPIDERMIDI	0.7500000	3.28214490	NÃO SIGNIFIC.
MITIS X AUREUS	-0.8750000	3.28214490	NÃO SIGNIFIC.
MITIS X AEROGINOSA	1.1250000	3.28214490	NÃO SIGNIFIC.
MITIS X MUTANS	-0.2500000	3.28214490	NÃO SIGNIFIC.
MITIS X PLACA	-7.3750000	3.28214490	SIGNIFICANTE
MITIS X CANDIDA	1.7500000	3.28214490	NÃO SIGNIFIC.
EPIDERMIDI X AUREUS	-1.6250000	3.28214490	NÃO SIGNIFIC.
EPIDERMIDI X AEROGINOSA	0.3750000	3.28214490	NÃO SIGNIFIC.
EPIDERMIDI X MUTANS	-1.0000000	3.28214490	NÃO SIGNIFIC.
EPIDERMIDI X PLACA	-8.1250000	3.28214490	SIGNIFICANTE
EPIDERMIDI X CANDIDA	1.0000000	3.28214490	NÃO SIGNIFIC.
AUREUS X AEROGINOSA	2.0000000	3.28214490	NÃO SIGNIFIC.
AUREUS X MUTANS	0.6250000	3.28214490	NÃO SIGNIFIC.
AUREUS X PLACA	-6.5000000	3.28214490	SIGNIFICANTE
AUREUS X CANDIDA	2.6250000	3.28214490	NÃO SIGNIFIC.
AEROGINOSA X MUTANS	-1.3750000	3.28214490	NÃO SIGNIFIC.
AEROGINOSA X PLACA	-8.5000000	3.28214490	SIGNIFICANTE
AEROGINOSA X CANDIDA	0.6250000	3.28214490	NÃO SIGNIFIC.
MUTANS X PLACA	-7.1250000	3.28214490	SIGNIFICANTE
MUTANS X CANDIDA	2.0000000	3.28214490	NÃO SIGNIFIC.
PLACA X CANDIDA	9.1250000	3.28214490	SIGNIFICANTE

GRUPO	Média	D.Padrão	Número
PIOGENES	8.125000	0.83452296	8
MITIS	11.37500	1.18773493	8
EPIDERMIDI	10.62500	1.18773493	8
AUREUS	12.25000	2.91547594	8
AEROGINOSA	10.25000	1.48804761	8
MUTANS	11.62500	1.06066017	8
PLACA	18.75000	4.26781978	8
CANDIDA	9.625000	0.91612538	8

ANEXO 17 -- ANÁLISE DE VARIÂNCIA -- SOLUÇÃO 4

Análise de variância - N grupos pareados

Arquivo: C:\PACOTICO\AGRIÃO.DBF

Restrição: Inclue SOLUÇÃO igual a 4

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Graus de liberdade	Quadrado médio	"F"	Probab.
Grupos	562.734375	7	80.3906250	18.70076	0.00000
Replicas	30.2343750	7	4.31919643		
Interação	210.640625	49	4.29878826		
Total	803.609375	63			

Teste de Tukey - Nível de significância = 0.05

Comparação	Diferença	Valor crítico	Interpretação
PIOGENES X MITIS	-2.8750000	1.84783480	SIGNIFICANTE
PIOGENES X EPIDERMIDI	0.7500000	1.84783480	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X AUREUS	-1.1250000	1.84783480	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X AEROGINOSA	3.6250000	1.84783480	SIGNIFICANTE
PIOGENES X MUTANS	-1.0000000	1.84783480	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X PLACA	0.0000000	1.84783480	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X CANDIDA	2.5000000	1.84783480	SIGNIFICANTE
MITIS X EPIDERMIDI	3.6250000	1.84783480	SIGNIFICANTE
MITIS X AUREUS	1.7500000	1.84783480	NÃO SIGNIFIC.
MITIS X AEROGINOSA	6.5000000	1.84783480	SIGNIFICANTE
MITIS X MUTANS	1.8750000	1.84783480	SIGNIFICANTE
MITIS X PLACA	2.8750000	1.84783480	SIGNIFICANTE
MITIS X CANDIDA	5.3750000	1.84783480	SIGNIFICANTE
EPIDERMIDI X AUREUS	-1.8750000	1.84783480	SIGNIFICANTE
EPIDERMIDI X AEROGINOSA	2.8750000	1.84783480	SIGNIFICANTE
EPIDERMIDI X MUTANS	-1.7500000	1.84783480	NÃO SIGNIFIC.
EPIDERMIDI X PLACA	-0.7500000	1.84783480	NÃO SIGNIFIC.
EPIDERMIDI X CANDIDA	1.7500000	1.84783480	NÃO SIGNIFIC.
AUREUS X AEROGINOSA	4.7500000	1.84783480	SIGNIFICANTE
AUREUS X MUTANS	0.1250000	1.84783480	NÃO SIGNIFIC.
AUREUS X PLACA	1.1250000	1.84783480	NÃO SIGNIFIC.
AUREUS X CANDIDA	3.6250000	1.84783480	SIGNIFICANTE
AEROGINOSA X MUTANS	-4.6250000	1.84783480	SIGNIFICANTE
AEROGINOSA X PLACA	-3.6250000	1.84783480	SIGNIFICANTE
AEROGINOSA X CANDIDA	-1.1250000	1.84783480	NÃO SIGNIFIC.
MUTANS X PLACA	1.0000000	1.84783480	NÃO SIGNIFIC.
MUTANS X CANDIDA	3.5000000	1.84783480	SIGNIFICANTE
PLACA X CANDIDA	2.5000000	1.84783480	SIGNIFICANTE

GRUPO	Média	D.Padrão	Número
PIOGENES	11.25000	0.70710678	8
MITIS	14.12500	2.16712449	8
EPIDERMIDI	10.50000	1.06904496	8
AUREUS	12.37500	1.76776695	8
AEROGINOSA	7.625000	0.51754916	8
MUTANS	12.25000	1.16496474	8
PLACA	11.25000	0.70710678	8
CANDIDA	8.750000	0.46291004	8

ANEXO 18 -- ANÁLISE DE VARIÂNCIA -- SOLUÇÃO 5

Análise de variância - N grupos pareados

Arquivo: C:\PACOTICO\AGRIÃO.DBF

Restrição: Inclue SOLUÇÃO igual a 5

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Graus de liberdade	Quadrado médio	"F"	Probab.
Grupos	167.484375	7	23.9263392	26.86466	0.00000
Replicas	14.7343750	7	2.10491071		
Interação	43.6406250	49	0.89062500		
Total	225.859375	63			

Teste de Tukey - Nível de significância = 0.05

Comparação	Diferença	Valor crítico	Interpretação
<i>PIOGENES X MITIS</i>	-2.1250000	1.49393659	SIGNIFICANTE
<i>PIOGENES X EPIDERMIDIS</i>	1.25000000	1.49393659	NÃO SIGNIFIC.
<i>PIOGENES X AUREUS</i>	0.50000000	1.49393659	NÃO SIGNIFIC.
<i>PIOGENES X AERUGINOSA</i>	0.12500000	1.49393659	NÃO SIGNIFIC.
<i>PIOGENES X MUTANS</i>	-2.1250000	1.49393659	SIGNIFICANTE
<i>PIOGENES X PLACA</i>	-1.8750000	1.49393659	SIGNIFICANTE
<i>PIOGENES X CANDIDA</i>	2.62500000	1.49393659	SIGNIFICANTE
<i>MITIS X EPIDERMIDIS</i>	3.37500000	1.49393659	SIGNIFICANTE
<i>MITIS X AUREUS</i>	2.62500000	1.49393659	SIGNIFICANTE
<i>MITIS X AERUGINOSA</i>	2.25000000	1.49393659	SIGNIFICANTE
<i>MITIS X MUTANS</i>	0.00000000	1.49393659	NÃO SIGNIFIC.
<i>MITIS X PLACA</i>	0.25000000	1.49393659	NÃO SIGNIFIC.
<i>MITIS X CANDIDA</i>	4.75000000	1.49393659	SIGNIFICANTE
<i>EPIDERMIDIS X AUREUS</i>	-0.7500000	1.49393659	NÃO SIGNIFIC.
<i>EPIDERMIDIS X AERUGINOSA</i>	-1.1250000	1.49393659	NÃO SIGNIFIC.
<i>EPIDERMIDIS X MUTANS</i>	-3.3750000	1.49393659	SIGNIFICANTE
<i>EPIDERMIDIS X PLACA</i>	-3.1250000	1.49393659	SIGNIFICANTE
<i>EPIDERMIDIS X CANDIDA</i>	1.37500000	1.49393659	NÃO SIGNIFIC.
<i>AUREUS X AERUGINOSA</i>	-0.3750000	1.49393659	NÃO SIGNIFIC.
<i>AUREUS X MUTANS</i>	-2.6250000	1.49393659	SIGNIFICANTE
<i>AUREUS X PLACA</i>	-2.3750000	1.49393659	SIGNIFICANTE
<i>AUREUS X CANDIDA</i>	2.12500000	1.49393659	SIGNIFICANTE
<i>AERUGINOSA X MUTANS</i>	-2.2500000	1.49393659	SIGNIFICANTE
<i>AERUGINOSA X PLACA</i>	-2.0000000	1.49393659	SIGNIFICANTE
<i>AERUGINOSA X CANDIDA</i>	2.50000000	1.49393659	SIGNIFICANTE
<i>MUTANS X PLACA</i>	0.25000000	1.49393659	NÃO SIGNIFIC.
<i>MUTANS X CANDIDA</i>	4.75000000	1.49393659	SIGNIFICANTE
<i>PLACA X CANDIDA</i>	4.50000000	1.49393659	SIGNIFICANTE

GRUPO	Média	D.Padrão	Número
<i>PIOGENES</i>	11.25000	0.88640526	8
<i>MITIS</i>	13.37500	1.06066017	8
<i>EPIDERMIDIS</i>	10.00000	0.92582009	8
<i>AUREUS</i>	10.75000	0.70710678	8
<i>AERUGINOSA</i>	11.12500	1.24642345	8
<i>MUTANS</i>	13.37500	0.74402380	8
<i>PLACA</i>	13.12500	1.55264750	8
<i>CANDIDA</i>	8.625000	0.74402380	8

ANEXO 19 -- ANÁLISE DE VARIÂNCIA -- SOLUÇÃO 6

Análise de variância - N grupos pareados

Arquivo: C:\PACOTICO\AGRIÃO.DBF

Restrição: Inclue SOLUÇÃO igual a 6

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Graus de liberdade	Quadrado médio	"F"	Probab.
Grupos	693.484375	7	99.0691964	48.71899	0.00000
Replicas	19.7343750	7	2.81919643		
Interação	99.6406250	49	2.03348214		
Total	812.859375	63			

Teste de Tukey - Nível de significância = 0.05

Comparação	Diferença	Valor crítico	Interpretação
PIOGENES X MITIS	-0.3750000	2.25738120	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X EPIDERMIDI	5.87500000	2.25738120	SIGNIFICANTE
PIOGENES X AUREUS	6.00000000	2.25738120	SIGNIFICANTE
PIOGENES X AEROGINOSA	8.25000000	2.25738120	SIGNIFICANTE
PIOGENES X MUTANS	0.12500000	2.25738120	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X PLACA	0.62500000	2.25738120	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X CANDIDA	5.87500000	2.25738120	SIGNIFICANTE
MITIS X EPIDERMIDI	6.25000000	2.25738120	SIGNIFICANTE
MITIS X AUREUS	6.37500000	2.25738120	SIGNIFICANTE
MITIS X AEROGINOSA	8.62500000	2.25738120	SIGNIFICANTE
MITIS X MUTANS	0.50000000	2.25738120	NÃO SIGNIFIC.
MITIS X PLACA	1.00000000	2.25738120	NÃO SIGNIFIC.
MITIS X CANDIDA	6.25000000	2.25738120	SIGNIFICANTE
EPIDERMIDI X AUREUS	0.12500000	2.25738120	NÃO SIGNIFIC.
EPIDERMIDI X AEROGINOSA	2.37500000	2.25738120	SIGNIFICANTE
EPIDERMIDI X MUTANS	-5.75000000	2.25738120	SIGNIFICANTE
EPIDERMIDI X PLACA	-5.25000000	2.25738120	SIGNIFICANTE
EPIDERMIDI X CANDIDA	0.00000000	2.25738120	NÃO SIGNIFIC.
AUREUS X AEROGINOSA	2.25000000	2.25738120	NÃO SIGNIFIC.
AUREUS X MUTANS	-5.87500000	2.25738120	SIGNIFICANTE
AUREUS X PLACA	-5.37500000	2.25738120	SIGNIFICANTE
AUREUS X CANDIDA	-0.12500000	2.25738120	NÃO SIGNIFIC.
AEROGINOSA X MUTANS	-8.12500000	2.25738120	SIGNIFICANTE
AEROGINOSA X PLACA	-7.62500000	2.25738120	SIGNIFICANTE
AEROGINOSA X CANDIDA	-2.37500000	2.25738120	SIGNIFICANTE
MUTANS X PLACA	0.50000000	2.25738120	NÃO SIGNIFIC.
MUTANS X CANDIDA	5.75000000	2.25738120	SIGNIFICANTE
PLACA X CANDIDA	5.25000000	2.25738120	SIGNIFICANTE

GRUPO	Média	D.Padrão	Número
PIOGENES	16.25000	0.88640526	8
MITIS	16.62500	0.74402380	8
EPIDERMIDI	10.37500	0.74402380	8
AUREUS	10.25000	0.70710678	8
AEROGINOSA	8.000000	0.75592894	8
MUTANS	16.12500	0.99103120	8
PLACA	15.62500	3.58319490	8
CANDIDA	10.37500	0.51754916	8

ANEXO 20 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA – SOLUÇÃO 7

Análise de variância - N grupos pareados

Arquivo: C:\PACOTICO\AGRIÃO.DBF

Restrição: Inclue SOLUÇÃO igual a 7

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Graus de liberdade	Quadrado médio	"F"	Probab.
Grupos	398.437500	7	56.9196428	12.54568	0.00000
Replicas	32.6875000	7	4.66964286		
Interação	222.312500	49	4.53698979		
Total	653.437500	63			

Teste de Tukey - Nível de significância = 0.05

Comparação	Diferença	Valor crítico	Interpretação
PIOGENES X MITIS	-1.0000000	3.37185293	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X EPIDERMIDI	2.5000000	3.37185293	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X AUREUS	-0.3750000	3.37185293	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X AEROGINOSA	3.6250000	3.37185293	SIGNIFICANTE
PIOGENES X MUTANS	-5.1250000	3.37185293	SIGNIFICANTE.
PIOGENES X PLACA	1.5000000	3.37185293	NÃO SIGNIFIC.
PIOGENES X CANDIDA	-0.8750000	3.37185293	NÃO SIGNIFIC.
MITIS X EPIDERMIDI	3.5000000	3.37185293	SIGNIFICANTE
MITIS X AUREUS	0.6250000	3.37185293	NÃO SIGNIFIC.
MITIS X AEROGINOSA	4.6250000	3.37185293	SIGNIFICANTE
MITIS X MUTANS	-4.1250000	3.37185293	SIGNIFICANTE.
MITIS X PLACA	2.5000000	3.37185293	NÃO SIGNIFIC.
MITIS X CANDIDA	0.1250000	3.37185293	NÃO SIGNIFIC.
EPIDERMIDI X AUREUS	-2.8750000	3.37185293	NÃO SIGNIFIC.
EPIDERMIDI X AEROGINOSA	1.1250000	3.37185293	NÃO SIGNIFIC.
EPIDERMIDI X MUTANS	-7.6250000	3.37185293	SIGNIFICANTE
EPIDERMIDI X PLACA	-1.0000000	3.37185293	NÃO SIGNIFIC.
EPIDERMIDI X CANDIDA	-3.3750000	3.37185293	SIGNIFICANTE
AUREUS X AEROGINOSA	4.0000000	3.37185293	SIGNIFICANTE
AUREUS X MUTANS	-4.7500000	3.37185293	SIGNIFICANTE
AUREUS X PLACA	1.8750000	3.37185293	NÃO SIGNIFIC.
AUREUS X CANDIDA	-0.5000000	3.37185293	NÃO SIGNIFIC.
AEROGINOSA X MUTANS	-8.7500000	3.37185293	SIGNIFICANTE
AEROGINOSA X PLACA	-2.1250000	3.37185293	NÃO SIGNIFIC.
AEROGINOSA X CANDIDA	-4.5000000	3.37185293	SIGNIFICANTE
MUTANS X PLACA	6.6250000	3.37185293	SIGNIFICANTE
MUTANS X CANDIDA	4.2500000	3.37185293	SIGNIFICANTE
PLACA X CANDIDA	-2.3750000	3.37185293	NÃO SIGNIFIC.

GRUPO	Média	D.Padrão	Número
PIOGENES	19.62500	1.18773493	8
MITIS	20.62500	2.26384628	8
EPIDERMIDI	17.12500	1.64208056	8
AUREUS	20.00000	2.67261241	8
AEROGINOSA	16.00000	1.06904496	8
MUTANS	24.75000	3.57571171	8
PLACA	18.12500	0.83452296	8
CANDIDA	20.50000	2.32992949	8

ANEXO 21 – INSTRUÇÕES PARA PREPARO DE UMA TINTURA DE AGRIÃO

MÉTODO PARA ELABORAÇÃO DE TINTURA DE AGRIÃO, POR MACERAÇÃO

MATERIAL NECESSÁRIO:

100 g de folhas de agrião, seca e fragmentada (aproximadamente 20 colheres de sopa)

500 mL de líquido extrator (álcool de cereais ou álcool etílico absoluto - 99,9% de álcool)

MODO DE FAZER:

Colocar 100 g de folhas de agrião em um recipiente seco e limpo, colocar sobre as folhas, uma quantidade de líquido extrator em quantidade suficiente para umedecer (molhar) as folhas. Fechar (tampar) o recipiente e guardar ao abrigo da luz, por um período de seis (6) horas. Após passado esse tempo completar com o líquido extrator com cerca de 500 mL e deixar descansar por 7 dias. Completado este período filtrar o líquido com filtro de papel (coador de café) ou filtrar por algodão e colocar em uma garrafa ou frasco de vidro para guardar. Esta preparação pode ficar armazenada por aproximadamente 6 meses.

MODO DE USAR:

Diluir 1 colher de sopa da tintura do agrião em meio copo de água e bochechar durante um minuto antes de dormir, após a última escovação.

INDICAÇÃO:

Para redução da placa dentária, auxiliando na higienização bucal, prevenindo cárie dentária e doenças da gengiva.

RECOMENDAÇÕES:

Segundo LORENZI e MATOS (2002), as folhas do agrião, na forma de salada são indicadas contra o bócio, anemia, tuberculose, diabetes e como antídoto contra os efeitos tóxicos da nicotina. Em uso externo, na forma de cataplasma, é empregado na cicatrização de feridas. Recomenda-se também em uso externo contra problemas de pele (sardas, afecções, manchas, eczemas, acnes) e para problemas da mucosa bucal (aftas e gengivites), o seu extrato alcoólico preparado com duas colheres (sopa) de folhas e talos amassados, uma xícara (café) de álcool de cereais e uma xícara (café) de glicerina (PANIZZA, 1998).

Para as afecções pulmonares, tosse e bronquite, é recomendado o seu xarope preparado com uma colher (sopa) de folhas e ramos picados em uma xícara (chá) de água em fervura, adicionando ao seu coado uma xícara (chá) de açúcar cristal e fervendo-se novamente até derretê-lo; em seguida acrescentar uma colher (sopa) de mel de abelha. Tomar uma colher (sopa) da mistura entre duas a três vezes ao dia (PANIZZA, 1998).

OBSERVAÇÕES:

É fundamental no cultivo do agrião que se use água limpa, não poluída por esgotos sanitários ou resíduos industriais. Note-se que as folhas de agrião, consumidas sempre cruas, podem tornar-se eficientes fontes de propagação de parasitas intestinais, entre os consumidores. Esta é uma boa razão para a interiorização das culturas, que devem ser instaladas longe das cidades, em localidades com ótima disponibilidade de água não poluída (FILGUEIRA e REIS, 1982).

REFERÊNCIAS :

FILGUEIRA, F.; REIS, A. Manual de Olericultura: Cultura e Comercialização de Hortaliças. 2ªed. São Paulo .**Ed. Agronomica Ceres**. 338p. . Vol. II, 1982.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Mediciniais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Instituto Plantarum. São Paulo, p. 191; 2002.

PANIZZA, S. **Plantas que Curam (cheiro de mato)** – 3ªedição. IBRASA, São Paulo, 280p., 1998.

SILVA, R. A. D. **Farmacopéia Brasileira**, 1ª EDIÇÃO, 1929.